Dit fagblad fra TechMedia

Kemisk Forening - Kemiingeniørgruppen

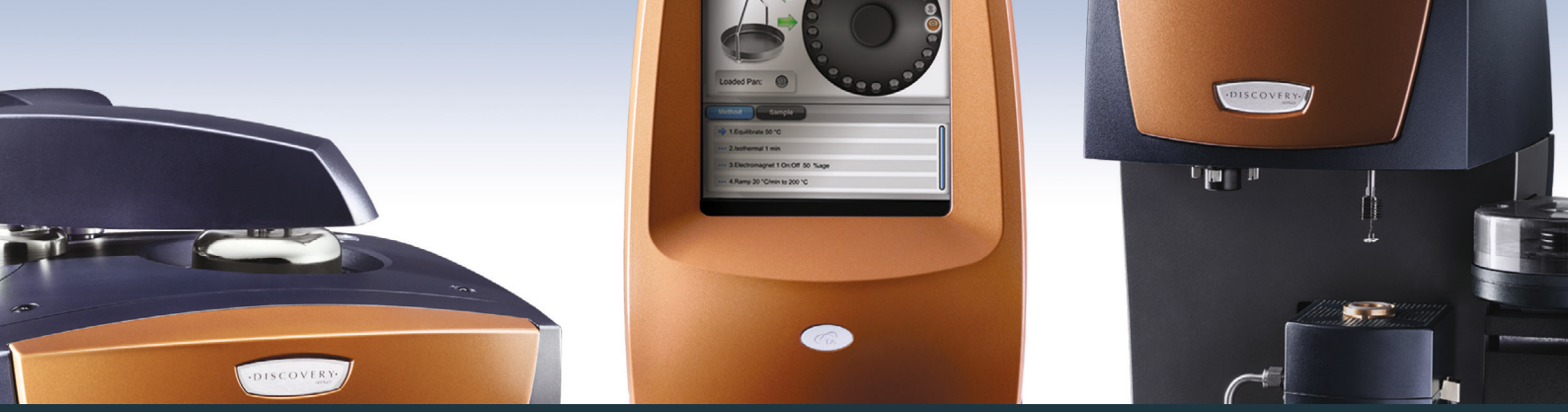
dansk kemi

Nummer 3 - Marts 2015 / 96. årgang

Sundere modermælkserstatninger?

Ny indsigt i blodkoagulationen

Patentering af stamceller og gener



TA Instruments

TAKING MATERIAL CHARACTERIZATION TO A NEW LEVEL

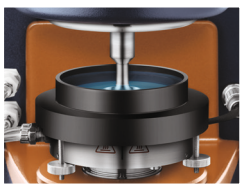
Training courses, technology tours* and seminars in thermal, rheology and microcalorimetry:

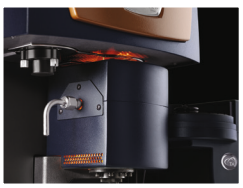
- Sign up and increase your application knowledge.
- Balanced content between theory and practical hints.
- You are welcome to bring samples for analysis (pre or post) or any experimental data for consultation.
- Participation is free.

Be up-to-date with the latest news and join these fine seminars, annual meetings, technology tours*/user meetings:

When	Description	Where
March 17	Differential Scanning Calorimetry (DSC) – Theory and Applications	Oslo/Kjeller
March 18	Modulated Differential Scanning Calorimetry (MDSC) – Theory and Applications	Oslo/Kjeller
April 13	Microcalorimetry Technology Tour*	CPH/Malmö
April 23 – 24	Rheology Training Course	CPH/Malmö
April 23 – 24	Elmia Polymer – Nordic Rubber Conference	Jönköping
June 1 – 3	52nd Nordic Polymer Days	Copenhagen
June 9	Thermal Technology Tour*	Helsinki
June 23 – 25	Rheology Technology Tour*	Stockholm
Aug 19 – 20	24th Nordic Rheology Conference	Karlstad, S
Sep 8 – 10	Rheology Technology Tour*	Helsinki
Sep 14	Microcalorimetry Technology Tour*	Örebro&Karlskoga
Sep 28 – 29	Microcalorimetry – TAM Air (28/9) and TAM III (29/9) (courses are separate)	Sollentuna
Sep 30 & Oct 1	Microcalorimetry – NanoITC (30/9) and NanoDSC (1/10) (courses are separate)	Sollentuna
Oct 7	Differential Scanning Calorimetry (DSC) – Theory and Applications	CPH/Malmö
Oct 8	Modulated Differential Scanning Calorimetry (MDSC) – Theory and Applications	CPH/Malmö
Oct 12	Microcalorimetry Technology Tour*	CPH/Malmö
Oct 21 – 22	Rheology Training Course	Gothenburg
Oct 27 – 28	Dynamic Mechanical Analysis (DMA) – Theory	Helsinki
Nov 18 – 19	Thermal Technology Tour*	Stockholm

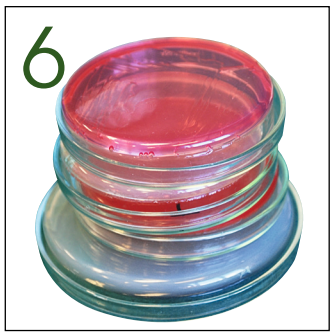
**Technology Tours: TA Application Specialists visiting users to discuss applications, technical matters, instruments and software*

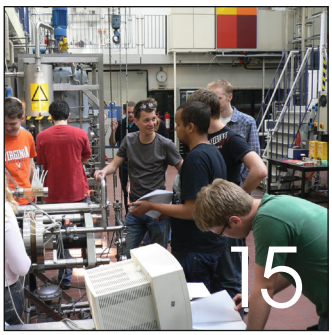




For additional information please email:
sweden@tainstruments.com, denmark@tainstruments.com,
norway@tainstruments.com or finland@tainstruments.com.
By telephone: +46 (0)8 555 521 or +45 46 57 41 00.

www.tainstruments.com





1 Forside:
I dette nummer kan man både læse om arbejdet med at forbedre modermælkserstatninger og de nyeste regler for patentering af stamceller og gener.

6 Teixobactin fra udyrkbare bakterier
Nye antibiotika fra bakterier, der ikke kan dyrkes i laboratoriet, er på vej og kan måske løse den nuværende kritiske situation med stigende resistensproblemer og uhelbredelige infektioner.

8 Produktion af humane mælkeoligosakkarider
Humane mælkeoligosakkarider mangler i modermælkserstatninger. Enzymer kan producere humane mælkeoligosakkarider, men der kræves optimering af både enzym og reaktionsbetingelser.

12 Ny detaljeret indsigt i blodkoagulationen
I artiklen præsenteres forskningsresultater fra et studie, der har fokuseret på de sidste reaktioner af koagulationen. Studiet viser, at koagulationsfaktor XIII spiller en langt mere kompliceret rolle end hidtil troet.

14 GMP-undervisning for ingeniørstuderende
DTU Kemiteknik har i en årrække tilbudt et kursus med titlen "GMP og kvalitet i farmaceutisk, biotek og ødevareindustri". Kurset er udviklet i samarbejde med medicinalindustrien.

16 Elektrostatiske vekselvirkninger i proteiner
Her gives en kort opsummering af vores viden om protein elektrostatik. Eksperimenter har for nylig bekræftet, at den dielektriske konstant af proteiner er lav.

20 Patentering af stamceller og gener
Stamceller nævnes ofte som en fremtidig mirakelkur, men kan forskningen patentbeskyttes?

22 Grønland – et land i rivende udvikling
Indbyggere, politikere og samarbejdspartnere er ikke i tvivl. Grønland står over for en interessant fremtid inden for råstofområdet, og du kan som patenttager blive en del af den.

24 Kulstof-14-bestemmelse af fossilt CO_2 i røggas
FORCE Technology har udviklet en metode til at måle biogent og fossilt CO_2 i røggas fra affaldsforbrændingsanlæg. Metoden gør det muligt at opsamle CO_2 over lange perioder.

28 Guldeventyret på Blegdamsvej – Sanocrysin
Bortset fra anvendelsen af en række platin aminplatin-komplekser mod cancer har kun få ædelmetalforbindelser fundet vej til medicinen, når man ser bort fra sanocrysin.

30 Hjemmelavede spegepølser
En spegepølse er en ikke-varmebehandlet pølse af råt kød og evt. spæk, samt krydderier, som alt sammen modner gennem en kontrolleret fermenteringsproces.

37 Foreningssider
Læs mere om de nyeste arrangementer fra Kemisk Forening og IDA Kemi.

TechMedia

Naverland 35
2600 Glostrup
Telefon 43 24 26 28
Fax 43 24 26 26

Ledelse:
Adm. direktør Peter Christensen
Direktør Rikke Marott Schelde
Direktør Susanne Eine

Redaktion:
Katrine Meyn (ansvarshavende)
km@techmedia.dk
Professor Carsten Christophersen (redaktør)
carsten@techmedia.dk
Lektor Søren Kiil
sk@kt.dtu.dk
Ph.d. Kristian B. Krogh
kbk@novozymes.com
Professor Henrik Skov
hsk@dmu.dk

Redaktionskomité:
Professor Anne S. Meyer (formand)
Professor, dr. scient. Mikael Bols
Professor Morten J. Bjerrum (Kemisk Forening)
Professor Elo Harald Hansen
Fagkonsulent i kemi Keld Nielsen
Lektor, dr. phil. Carl Th. Pedersen
Professor Kjeld Schaumburg
Underdirektør
Lars-Erik Kruse Pedersen
Lektor, ph.d. Peter Szabo (Kemiingeniørgruppen)
Professor, forskningschef Lars Wiebe
Adjunkt, civilingeniør, ph.d. Merete Norsker Bergsøe
Vibeke Richter Foërsom (Næstformand, Kemilærerforeningen)
Konsulent Nikolai Stubkjær Nilsen Procesindustrien
Seniorforsker, PhD. Peter Have Rasmussen

Redaktionssekretær:
Heidi Thode
ht@techmedia.dk

Annoncer:
Annie Overgaard, tlf. 43 24 26 93
ao@techmedia.dk

Annonceproduktion:
Anni Jensen, tlf. 43 24 26 96
aj@techmedia.dk

Hjemmeside:
www.danskkemi.dk

Abonnement:
Kasper Mundt-Nielsen, tlf. 43 24 26 91
e-mail: kn@techmedia.dk
Ring vedr. abonnement eller bestil direkte på shop.techmedia.dk under Fagblade

Scan og hent Dansk Kemi's medieinformation 2015 hér!
Brug for scanner? Send en sms til 1919 med ordet "scan" og få scanlife som app.

Layout:
Michael Boesen
Morten Malmgren

Tryk:
PE offset A/S

Trykt på miljøvenligt papir med vegetabilske miljøfarver.

Grønt kontor 2009-2012 og modtager af Albertslund Kommunes Grønne Initiativpris 2009.

Oplag: 5.245
Ekspl. heraf 4.803
i betalt abonnement.
Online læsere: 3.792

Citater fra artikler i Dansk Kemi skal ske med tydelig kildeangivelse. Enhver form for gengivelse af artikler, herunder illustrationer, forudsætter udgiverens skriftlige tilladelse.
Redaktionen kan ikke påtage sig ansvaret for materiale, der indsendes uopfordret.

ISSN 0011- 6335

UK: Huson European Media -
Tel.: (+44) 1932-564999
USA, New York: Huson International Media
Tel.: +1 212 268 3344
USA, California: Huson International Media
Tel.: +1 408 879 6666
Germany: Huson International Media
Tel.: (+49) 89-9500-2778

LEDER

Biomasse er fuld af kemi

> Set fra et kemisk perspektiv er skabelsen af bioøkonomien interessant

I slutningen af 2013 nedsatte regeringen Det Nationale Bioøkonomipanel. Panelets kommissorium er at anvise muligheder for konkrete tiltag, der kan fremme bioøkonomien i Danmark. Bioøkonomi er defineret som en samfundsøkonomi, der baserer sig på, at produktion af energi, kemikalier og materialer sker ud fra fornybare ressourcer, primært planter og animalske restprodukter.

Panelet har nu udgivet sine første anbefalinger, som i praksis består af et dokument med en række ideer samt en opregning af forskellige principper og tiltag, der kan iværksættes for at imødegå de barrierer, som lige nu begrænser udviklingen af bioøkonomien i Danmark. I tilknytning til anbefalingerne har Panelet udgivet et katalog over en række værdikæder, som anses for relevante og lovende i den konkrete etablering af bioøkonomien i Danmark. Værdikæderne er i praksis en liste over, hvilke produkter der kan tænkes fremstillet fra forskellige typer biomasse samt det økonomiske potentiale, bæredygtighedsaspekter, samt tidshorisont.

Biomasserne er i korthed organiseret som: Blå for marin, grøn for græs og grønne proteinafgrøder, gul for halm, brun for træ, samt desuden husholdningsaffald og reststrømme fra slagteri, mejeri mv. Det er en entydig konklusion, at Danmark har gode forudsætninger for at skabe vækst med bioøkonomiens udvikling som mål. Citat: ”Bioøkonomien i Danmark vurderes at kunne medvirke til at skabe løsninger på globale udfordringer og samtidig gavne væksten og beskæftigelsen i Danmark”.

Det er også en klar konklusion, at der, udover understøttende rammevilkår, bl.a. en større politisk opbakning, er brug for risikovillighed, samarbejde, uddannelse, samt forskning og udvikling for at udvikle værdikæderne og bioøkonomien.

Set fra et kemisk perspektiv er skabelsen af bioøkonomien interessant. På en populistisk måde kan man sige, at biomasse er fuld af kemi. Nogle af komponenterne i forskellige typer biomasse har potentialet til at blive udnyttet direkte. Det gælder f.eks. visse foder- og fødevareingredienser, men det forudsætter, at det er muligt, på en økonomisk konkurrencedygtig og samtidig bæredygtig måde, at høste dem fra biomassen. Derudover kan komponenterne i biomasser som bekendt omdannes til en lang række forskellige basiskemikalier, produkter og materialer foruden energi-bærere på mange forskellige måder.

Næste tema for Bioøkonomipanelet er at se nærmere på bl.a. bæredygtighedskriterier. Et biobaseret samfund menes klart at kunne levere et mere bæredygtigt samfund, og den bæredygtige bioøkonomi indbefatter herunder, at ressourcerne og produkterne udnyttes til gavn for miljøet, klimaet, vækst og beskæftigelse.

Læs mere på http://naturerhverv.dk/tvaergaaende/biooekonomi/.

Anne S. Meyer, am@kt.dtu.dk

LabDays 2015

Ny fagmesse for laboratorie-teknik i Århus

Som noget helt nyt etableres der nu en fagmesse med fokus på laboratorie-teknik placeret i Scandinavian Congress Center i Århus i dagene 23.–24. september 2015.

- Vi er blevet enige med brancheforeningen DiaLab om at lave en fagmesse, der skal tilgodese det vestdanske marked, siger Bo Rasmussen, der er en af personerne bag LabDays, og han fortsætter:

- Nu er der ingen traditioner for en decideret laboratoriemesse i Vestdanmark, så vi var meget spændte på, hvordan lanceringen ville forløbe. Men vi er blevet modtaget særdeles positivt og har fået rigtig fin opbakning fra de førende virksomheder i branchen. I den korte tid der er gået siden lanceringen i slutningen af januar, er vi tæt på at have lejet halvdelen af arealet ud, så vi er sikre på, at vi kan nå en tilstrækkelig mængde af markedets leverandører, og dermed sikre en flot messe til glæde for de besøgende.

LabDays 2015 arrangeres af J.B. Exhibitions, som også stod bag sidste års store messesucces CPH LabMed, som blev afviklet i et fyldt Lokomotivværkstedet centralt i København.

Yderligere information fås hos:
Bo Ramussen, J.B. Exhibitions, tlf. 20 33 33 16

Reach your target – and beyond!

COBIS A/S
Ole Maaløes Vej 3
DK - 2200 Copenhagen N
+45 70 70 29 80
info@cobis.dk | www.cobis.dk

COBIS
Copenhagen Bio Science Park

More than 45 companies have already joined the fastest growing biopark in Scandinavia

And we are honored to have them here in Copenhagen Bio Science Park, offering them our 12.000 m² of exceptional office and lab space, network & services etc.

So why not join the most vibrant life science community in Denmark and start your adventure. Give us a call today and learn more or check out www.cobis.dk for more information.

Teixobactin fra udyrkbare bakterier

Nye antibiotika fra bakterier, der ikke kan dyrkes i laboratoriet, er på vej og kan måske løse den nuværende kritiske situation med stigende resistensproblemer og udbredte uhelbredelige infektioner.

Af Carsten Christophersen,
carsten@techmedia.dk

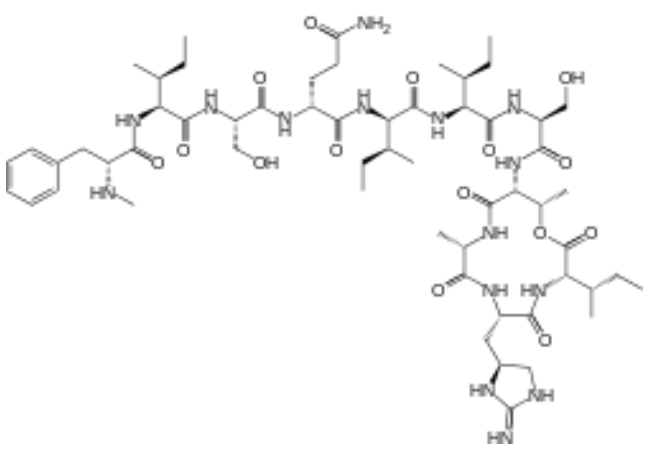
Antibiotika-resistente bakterier breder sig hurtigere end fremkomsten af nye antibiotika. Det forårsager en helbredskrise. Multiresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) er ansvarlige for utallige dødsfald hvert år. Alene i Amerika inficeres omkring en million mennesker årligt med MRSA. Siden 1940'erne har dyrkede mikroorganismer leveret en lang række livreddende antibiotika, men i 1960'erne var den kilde næsten udtømt. Forsøg på at lade syntetiske antibiotika erstatte de naturlige var ikke vellykkede, og der mangler nu en lovende kilde.

Måske er løsningen at fokusere på de bakterier, der ikke kan dyrkes i laboratoriet. En af disse producerer teixobactin, der stammer fra en bakterie fra en græsmark i Maine.

Hints fra udyrkbare bakterier

De fleste moderne antibiotika stammer fra eller er udviklede fra naturstoffer, der er isoleret fra mikroorganismer.

Men hvad, hvis mikroorganismerne ikke kan dyrkes?



TEIXOBACTIN

Det er muligt at dyrke bakterier i deres "naturlige" miljø, men det kan ikke bruges til produktion. Imidlertid er det muligt at isolere aktive forbindelser fra "naturlige" kulturer ved de klassiske metoder. Den nærmere undersøgelse af sådanne leadstrukturer må baseres på sådanne kulturer eller syntetiske forbindelser. En anden mulighed er at bestemme den genetiske kode, der ligger til grund for produktion af forbindelserne. Hvis den del af genomet, der koder for produktionen af stoffet, der søges, kan isoleres, er der mulighed for at overføre (gensplejse) det til en producerorganisme – ofte en bakterie, som så kan dyrkes med produktion for øje.

Teixobactin ($C_{58}H_{95}N_{15}O_{15}$)

Stammer fra 10.000 isolater testes mod *S. aureus* og en stamme med god aktivitet udvælges. Den aktive fraktion af ekstraktet undersøges vha. massespektrometri og ^{13}C og ^{1}H NMR. Det aktive stof, teixobactin, viser sig at bestå af 11 aminosyrer, hvor seks ikke findes i proteiner. Fire er D-aminosyrer og to er enduracididin og *N*-methylphenylalanin. Genetisk analyse afslører to genklustere, der genererer to non ribosomale peptidsyntetaser, som samler og frigør teixobactin. Virkningen er stort set begrænset til gram positive bakterier.

Antibiotika skaber resistens

Der findes bakteriestammer, der er resistente mod alle kendte antibiotika. En overdreven brug af antibiotika forværrer lø-

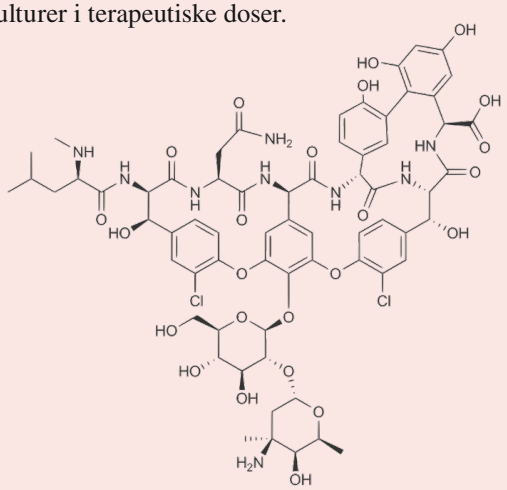
Bakterier, der ikke kan dyrkes

Omkring 99% af alle bakterier, der findes i miljøet, kan ikke dyrkes i laboratoriet. I denne sammenhæng betyder udyrkbare bakterier, at de ikke gror på de syntetiske medier, der bruges i laboratoriet.

Teixobactin isoleres ved, at den oprindelige prøve dyrkes en måned på små plader, der afgrænses af semipermeable membraner, der er i direkte kontakt med udtræk af den jord, kulturen er isoleret fra. Flere af de resulterende kolonier kan nu gro *in vitro* på kulturmedier.

Vancomycin ($C_{66}H_{75}C_{l2}N_9O_{24}$)

Infektioner med MRSA behandles intravenøst med vancomycin og de kliniske tilfælde, der ikke responderer begrundes med vancomycins dårlige bakteriocide aktivitet. Først 30 år efter starten på brugen af vancomycin viser de første resistensproblemer sig. Det er sandsynligt, at teixobactin, der har en minimum inhiberende koncentration på 0,25 µg/mL overfor MRSA, repræsenterer en længerevarende løsning. Vancomycin har alvorlige bivirkninger, men teixobactin viser ikke toksiske reaktioner mod humane cellekulturer i terapeutiske doser.



VANCOMYCIN

bende problemet. I Danmark er både læger og især landbruget ansvarlige for et meget stort antibiotikaforbrug. Billedet tegner sig endnu værre i mange lande, som vi importerer produkter fra.

Den farmaceutiske industri er varsom med at investere i forskning i nye antibiotika, da et forløb, der tillader markedsføring af et nyt antibiotikum, kræver investeringer på over 100 mio. $. Nye antibiotika har pga. resistensudvikling en relativ kort levetid. Da manglen på aktive antibiotika er så påtrængende, er det sandsynligt, at virkeligt effektive nye forbindelser bliver reserveret til de tilfælde, hvor ingen tilgængelige antibiotika virker. Så begrænses salget. Af bl.a. disse grunde er de økonomiske fremtidsudsigter for nye antibiotika ikke de bedste for industrien. Hvis resistensudvikling kan elimineres, vil den forretningsmæssige fremtid fremstå langt lysere.

Teixobactin modstår resistens

På trods af mange forsøg med bakterier og mutanter er det ikke lykkedes at iagttage resistensudvikling overfor teixobactin. Stammer, der er resistente overfor andre antibiotika, f.eks. vancomycin resistente MRSA, responderer godt overfor teixobactin.

Virkningsmekanismen er en kraftig binding til lipid II, som er et forstof til cellevægskomponenten peptidoglycan og lipid III, som er precursor til cellevæggens teikoidsyre. Fedtstoffer har langt mindre mutationsfrekvens end proteiner, hvilket muligvis forklarer den manglende resistensudvikling.

Kilde
A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. L. L. Ling *et al.*, *Nature* (2015). doi:10.1038/nature14098.

Produktion af humane mælkeoligosakkarider

Humane mælkeoligosakkarider er særlige kulhydrater i mælk, som har stor betydning for den nyfødtes helbred og udvikling. Disse molekyler mangler i modermælkserstatninger. Enzymer kan producere humane mælkeoligosakkarider, men der kræves optimering af både enzym og reaktionsbetingelser for at opnå et tilfredsstillende udbytte.

Af Birgitte Zeuner, Carsten Jers, Jørn Dalgaard Mikkelsen og Anne S. Meyer, Center for BioProcess Engineering, DTU Kemiteknik

Modermælk er rig på bestemte komplekse kulhydrater – humane mælkeoligosakkarider (HMO) – som er vigtige for den nyfødtes helbred og udvikling [1]. Da komælk, der bruges som basis for modermælkserstatning, ikke indeholder samme mængde og diversitet af denne type oligosakkarider, arbejdes der på at syntetisere HMO både enzymatisk og kemisk.

Sialidaser og transsialidaser

Omkring 28% af HMO er sialylerede [2], dvs. molekylerne er substituerede med sialinsyre. Sialinsyre kan tilføjes til en lang række sakkarider vha. enzymer med transsialidaseaktivitet. Den mest kendte, naturligt forekommende transsialidase stammer fra *Trypanosoma cruzi*. Denne organisme er en patogen parasit, som forårsager sygdommen amerikansk trypanosomiasis (Chagas' sygdom, som 7-8 mio. mennesker lider af i Sydamerika), og et enzym fra denne organisme er derfor problematisk at få godkendt til fødevarebrug. Der findes imidlertid en sialidase (dvs. et enzym, der katalyserer hydrolyse af sialinsyre fra kulhydrater) fra *Trypanosoma rangeli*, der ikke er patogen, som på aminosyreniveau er 70% identisk med transsialidasen fra *T. cruzi*. Sialidasen fra *T. rangeli* har fra naturens hånd en meget lav transsialidaseaktivitet. En række studier – også hos os – har arbejdet med at forøge transsialidaseaktiviteten ved at bruge aminosyresekvensen fra transsialidasen som skabelon for aminosyreændringer (figur 1) [3,4]. Selvom man med relativt få mutationer (6-13 aminosyrer) har tilført sialidasen fra *T. rangeli* markant højere transsialidaseaktivitet, besidder de muterede enzymer dog stadig sialidaseaktivitet, som hydrolyserer både substrat og produkt og dermed har negativ indflydelse på udbyttet. Derfor har vi ydermere arbejdet med at optimere reaktionsbetingelserne for på den måde at øge udbyttet af sialyleret produkt [5,6].

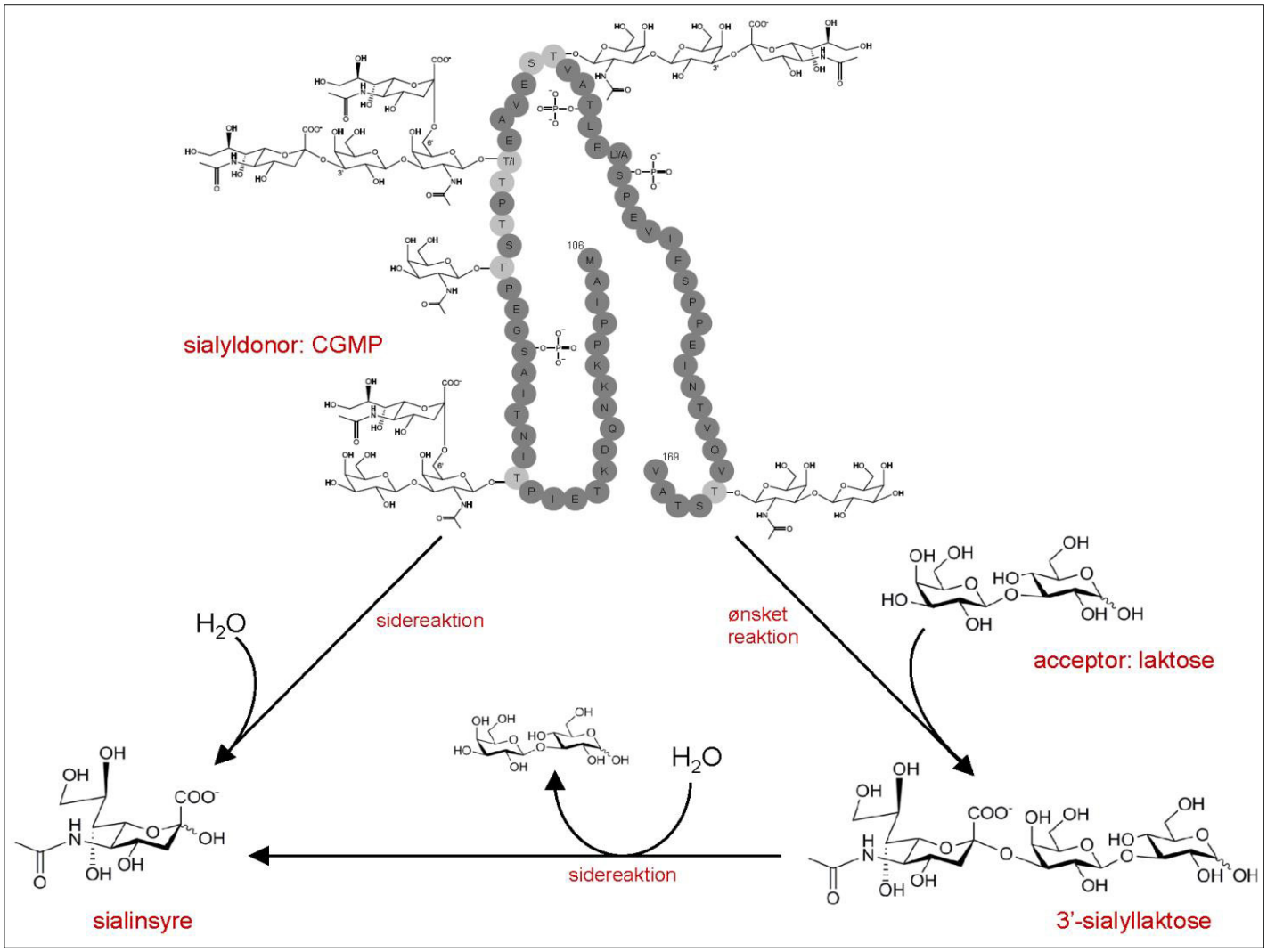
Figur 1. Tr6 (GenBank U83180.1) – en sialidase fra *Trypanosoma rangeli* optimeret vha. mutagenese til at katalysere transsialylering. De seks muterede aminosyrer omkring det aktive site er angivet (blå). Det ønskede produkt, 3'-sialyllaktose, er angivet i det aktive site (gul). Desuden er Trp313, som er vigtig for binding og korrekt orientering af acceptormolekylet laktose, samt den katalytiske nukleofil Tyr343 angivet (grå). Vist uden His-tag.

Optimeret produktion af 3'-sialyllaktose

Som modelreaktion brugte vi produktionen af 3'-sialyllaktose ud fra to billige produkter fra mejeriindustrien: Laktose og kaseinglykomakropeptid (CGMP) (figur 2). CGMP er det opløselige glykoprotein, der bliver tilovers i osteproduktionen, når osteløben katalyserer spaltningen af κ-casein. Det er p.t. en af de billigste kilder til sialinsyre; indholdet af sialinsyre i CGMP er 5-11%.

Det gælder generelt for transglykosyleringer med uønsket substrat- og produkthydrolyse som sidereaktion, at et højt forhold mellem acceptorkoncentrationen (koncentrationen af laktose) og donorkoncentrationen (koncentrationen af sialinsyre i CMGP) giver optimale betingelser for transglykosyleringen. Det viste sig, at en forøgelse af acceptor/donor-forholdet fra 14 til 25 gav mere end 15 gange forbedring af transsialyleringsudbyttet ved brug af den optimerede sialidase Tr6; hvor Tr6 betegner et enzym med øget transsialidaseaktivitet, som er designet ved at ændre seks bestemte aminosyrer i *T. rangeli*-sialidasen. En yderligere forøgelse af forholdet til 50 gav ikke en yderligere effekt [5].

For at begrænse omfanget af produkthydrolyse mest muligt er det vigtigt at bestemme den optimale reaktionstid. Her kan enzymet inaktiveres eller – endnu bedre – fjernes fra reaktoren og siden genbruges. Alternativt kan produktet kontinuert fjernes fra reaktoren, f.eks. ved brug af en membranreaktor. For at optimere udbyttet af 3'-sialyllaktose pr. mængde anvendt enzym – den såkaldte biokatalytiske produktivitet – undersøgte vi potentialet i både immobilisering og brug af membranreaktor i forhold til batchreaktionen.



Figur 2. Enzymatisk produktion af 3'-sialyllaktose fra kaseinglykomakropeptid (CGMP) og laktose – begge sidestrømsprodukter fra mejeriindustrien. Der anvendes sialidaser optimeret til transsialylering, men disse katalyserer fortsat hydrolyse af såvel substrat som produkt til fri sialinsyre – to sidereaktioner, der skal holdes på så lavt et niveau som muligt vha. reaktionsoptimering.

Immobilisering eller membranreaktor?

Vi undersøgte tre forskellige metoder til immobilisering af den optimerede sialidase Tr6. Ved krydsbinding med glutaraldehyd og indkapsling i kalciumalginat mistede Tr6 al sin aktivitet, mens *fouling*-induceret membranimmobilisering blev fravalgt pga. for lav immobiliseringseffektivitet [6]. Derimod opnåede vi en høj immobiliseringseffektivitet (94%) ved immobilisering på magnetiske nanopartikler via enzymets His-tag (en "hale" af seks histidinenheder, som bruges i enzymoprensningen), og det viste sig desuden, at immobiliseringen havde en positiv effekt på forholdet mellem transsialylering og den uønskede hydrolyse af substrat og produkt (figur 3, side 10). Desværre viste det sig, at bindingen mellem enzymet og den magnetiske nanopartikel ikke var så stærk som ønsket: I løbet af syv på hinanden følgende reaktioner af en times varighed tabte nanopartiklerne så meget enzym, at der kun var 7% af den oprindelige aktivitet tilbage [6]. Det kan konkluderes, at immobilisering i sig selv kan have en positiv effekt på forholdet mellem transsialylering og hydrolyse, men at der kræves en stærkere immobiliseringsmetode førend enzymet, der i sig selv er stabilt i over 24 timer ved reaktionstemperaturen, kan genanvendes mange gange.

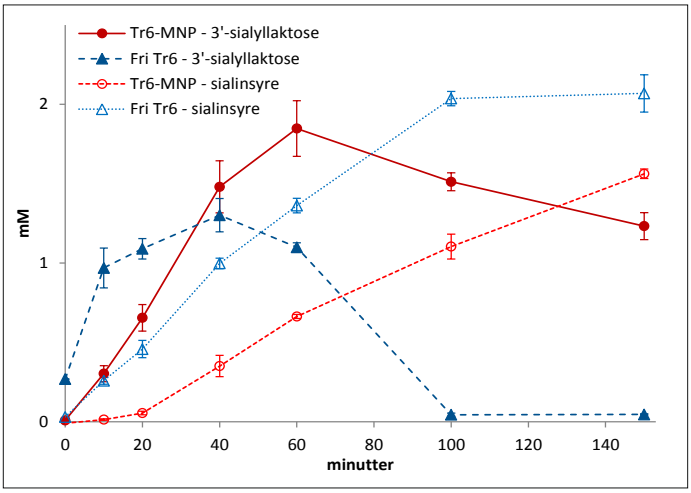
Det bedste resultat blev opnået ved at bruge fri Tr6 i en såkaldt *"dead-end"*-membranreaktor med en 10 kDa cellulosemembran, som tilbageholdt CGMP og enzym, men lod produktet 3'-sialyllaktose, acceptorsubstratet laktose og en del af

Sialidaser og transsialidaser

Sialidase: Et enzym, der katalyserer hydrolyse af glykosidbindingen mellem sialinsyre og især kulhydrater, glykoproteiner eller glykolipider.
Transsialidase: Et enzym, der katalyserer hydrolyse af glykosidbindingen mellem sialinsyre og f.eks. kulhydrater og umiddelbart derefter katalyserer dannelsen af en ny glykosidbinding til et andet acceptormolekyle (populært sagt "flyttes" en sialinsyreenhed fra ét molekyle til et andet).

Membranteknologi

Fouling: Ophobning af komponenter fra den filtrede blanding på membranens overflade.
Dead-end membranreaktor: Flowet i reaktoren går på tværs af membranen; en typisk dead-end membranreaktor er en cylinder med en flad membran monteret i bunden, hvor det transmembrane tryk skabes vha. trykluft.
Cross-flow membranreaktor: Flowet i reaktoren går langs membranen; dette giver mindre fouling end i en dead-end membranreaktor.



Figur 3. Produktion af 3′-sialyllaktose og det uønskede hydrolyseprodukt sialinsyre ved brug af den optimerede sialidase Tr6 på hhv. fri form og immobiliseret på magnetiske nanopartikler (MNP). Reaktionen blev fulgt i op til 2,5 time for at fastslå den optimale reaktionstid. Niveauet af 3′-sialyllaktose når et maksimum (ved den optimale reaktionstid) inden den Tr6-katalyserede, uønskede produkthydrolyse tager over, jf. figur 2. Modificeret fra [6].

biproduktet sialinsyre passere. Udbyttet af 3'-sialyllaktose var stabilt over syv timers reaktion, hvor der blev fyldt nyt substrat på hver time, og på et niveau, som var sammenligneligt med det, der blev opnået ved immobilisering (figur 4). Den biokatalytiske produktivitet kunne øges mere end ni gange i forhold til batchreaktionen, som var udgangspunktet (tabel 1). Til sammenligning gav immobiliseringen kun en 2,5 ganges forøgelse pga. tabet af enzym fra immobiliseringssupporten (tabel 1) [6]. Med baggrund i Tr6s høje stabilitet ved reaktionstemperaturen er det sandsynligt, at reaktionen kan gentages endnu flere gange med samme høje udbytte, hvorved en endnu højere biokatalytisk produktivitet opnås.

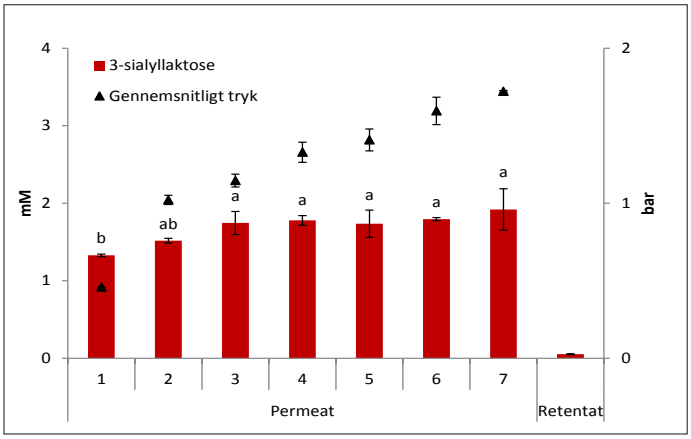
	Biokatalytisk produktivitet	Molært udbytte
Fri Tr6 i batchreaktor	33,5[a]	28 %[e]
MNP-Tr6 (1 gang)	47,6[b]	40 %[f]
MNP-Tr6 (7 gange)	84,1[c]	10 %[g]
Fri Tr6 i membranreaktor (1 gang)	34,3[a]	29 %[e]
Fri Tr6 i membranreaktor (7 gange)	305,6[d]	37 %[f]

Tabel 1. Biokatalytisk produktivitet (mg 3′-sialyllaktose/mg enzym) og molært udbytte baseret på bundet sialinsyre i CGMP (donor) opnået med 1) fri Tr6 i batchreaktor, 2) Tr6 immobiliseret på magnetiske nanopartikler (MNP), og 3) fri Tr6 i membranreaktor. For de sidste to er antal på hinanden følgende reaktioner med samme enzym angivet. Bogstaverne a-g angiver statistisk signifikans mellem niveauerne.

Fordi CGMP blev tilbageholdt i membranreaktoren, steg niveauet af fri sialinsyre lineært over reaktionens forløb, og ophobning af glykoproteinet på membranen gjorde det nødvendigt at bruge et gradvist højere tryk for at opretholde et jævnt flux (figur 4) [6]. Med et andet set-up – f.eks. en *cross-flow*-membran – og optimering af membranprocessen kan *fouling* forårsaget af CGMP i højere grad undgås [9]. Desuden kan acceptorsubstratet laktose genanvendes vha. nanofiltrering [10]. Således ser det lovende ud i forhold til en opskalering af en kontinuert membranproces til enzymatisk produktion af 3'-sialyllaktose fra laktose og CGMP.

Udbytte og perspektiv

Det molære udbytte baseret på sialyldonoren CGMP var 37% ved syv timers reaktion i membranreaktoren (tabel 1) [6], men dette svarer reelt til et molært udbytte på 74%, idet kun halvdelen af den bundne sialinsyre i CGMP er tilgængelig for enzymet (transsialidasen fra *T. cruzi* kan kun bruge α-2,3-bundet sialinsyre [7,8]).



Figur 4. Koncentrationer af produktet 3′-sialyllaktose i permeatet fra syv på hinanden følgende reaktioner på en time i en membranreaktor. Enzymet og sialyldonoren CGMP blev tilbageholdt af membranen, og der blev tilsat frisk substrat hver time. Det gennemsnitlige transmembrane tryk er angivet for hver af de syv reaktioner (højre akse). Bogstaverne a og b angiver statistisk signifikans mellem 3′-sialyllaktoseniveauerne i hver reaktion. Koncentrationen af 3′-sialyllaktose i retentatet efter de syv timers reaktion er også angivet. Modificeret fra [6].

Udover laktose kan de designede sialidasemutanter også katalysere transsialylering af en række oligosakkarider, som også er relevante som HMO og HMO-lignende molekyler [4,5]. Dermed er vi godt på vej mod en forbedring af den nuværende modermælkserstatning. Samtidigt fungerer studierne som et eksempel på, hvor lidt der skal til for at få et hydrolytisk enzym til at katalysere den "baglæns" syntesereaktion.

E-mail:
Birgitte Zeuner: biz@kt.dtu.dk

Referencer

1. Bode, L. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* **2012**, *22*, 1147-1162.
2. Ninonuevo MR, Park Y, Yin H, Zhang J, Ward RE, Clowers BH, German JB, Freeman SL, Killeen K, Grimm R, Lebrilla CB. A strategy for annotating the human milk glycome. *J Agric Food Chem* **2006**, *54*, 7471-7480.
3. Paris G, Ratier L, Amaya MF, Nguyen T, Alzari PM, Frasch ACC. A sialidase mutant displaying *trans*-sialidase activity. *J Mol Biol* **2005**, *345*, 923-934.
4. Jers C, Michalak M, Larsen DM, Kepp KP, Li H, Guo Y, Kirpekar F, Meyer AS, Mikkelsen JD. Rational design of a new *Trypanosoma rangeli* trans-sialidase for efficient sialylation of glycans. *PLOS One* **2014**, *9*, e83902.
5. Michalak M, Larsen DM, Jers C, Almeida JRM, Willer M, Li H, Kirpekar F, Kjærulff L, Gotfredsen CH, Nordvang RT, Meyer AS, Mikkelsen JD. Biocatalytic production of 3'-sialyllactose by use of a modified sialidase with superior *trans*-sialidase activity. *Process Biochem* **2014**, *49*, 265-270.
6. Zeuner B, Luo J, Nyffenegger C, Aumala V, Mikkelsen, JD, Meyer AS. Optimizing the biocatalytic productivity of an engineered sialidase from *Trypanosoma rangeli* for 3'-sialyllactose production. *Enzyme Microb Technol* **2014**, *55*, 85-93.
7. Saito T, Itoh T. Variations and distributions of *o*-glycosidally linked sugar chains in bovine κ-casein. *J Dairy Sci* **1992**, *75*, 1768-1774.
8. Vandekerckhove F, Schenkman S, Pontes de Carvalho L, Tomlinson S, Kiso M, Yoshida M, Hasegawa A, Nussenzweig V. Substrate specificity of the *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase. *Glycobiology* **1992**, *2*, 541-548.
9. Luo J, Morthensen ST, Meyer AS, Pinelo M. Filtration behavior of casein glycomacropeptide (CGMP) in an enzymatic membrane reactor: fouling control by membrane selection and threshold flux operation. *J Membr Sci* **2014**, *469*, 127-139.
10. Luo J, Nordvang RT, Morthensen ST, Zeuner B, Meyer AS, Mikkelsen JD, Pinelo M. An integrated membrane system for the biocatalytic production of 3'-sialyllactose from dairy by-products. *Bioresour Technol* **2014**, *166*, 9-16.

dansk kemi på nettet

UNG KEMI

find us on facebook

Sjove historier med kemisk tvist

facebook.com/UNG.KEMI/

artikeldatabase: www.danskkemi-online.dk

Ny detaljeret indsigt i blodkoagulationen

Koagulationsfaktorer er proteiner, der kan få blodet til at størkne (koagulere). Processen er nøje reguleret og er ansvarlig for både den gavnlige koagulation, som aktiveres ved vævskader, men også den skadelige, som forekommer under dannelsen af blodpropper. Her præsenteres forskningsresultater fra et studie, der har fokuseret på de sidste begivenheder af koagulationen. Studiet viser, at koagulationsfaktor XIII spiller en langt mere kompliceret rolle end hidtil troet.

Af Camilla Lund Nikolajsen og Jan J. Enghild, Interdisciplinary Nanoscience Center og Institut for Molekylærbiologi og Genetik, Aarhus Universitet

En af kroppens vigtigste forsvarsmekanismer er blodets evne til at størkne og derved stoppe en blødning. Blodkoagulationen består af en række reaktioner, der normalt aktiveres som følge af vævsskader. Disse reaktioner får blodet til at størkne lokalt omkring vævsskaden og forhindrer således blodtab. Blodkoagulation kan altså ses som naturens eget plaster. Processen er nøje reguleret, og skærer vi os for eksempel i fingeren, skal reaktionerne på den ene side sikre, at en stabil masse af størknet blod dannes, så blødningen standser. På den anden side er det vigtigt, at reaktionerne begrænses til det skadede område, og at det størknede blod nedbrydes igen efter sårhelingen.

Livsvigtig balance

Blodkoagulationen reguleres af prokoagulanter og antikoagulanter, som kan henholdsvis fremme eller hæmme koagulationsprocessen. Under normale omstændigheder er disse i en balance, der forhindrer både omfattende blødninger og omfattende koagulation. En ubalance kan imidlertid være medvirkende til, at blodet koagulerer inde i vores blodkar og danner blodpropper. Dette er en af de hyppigste dødsårsager i verden [1].

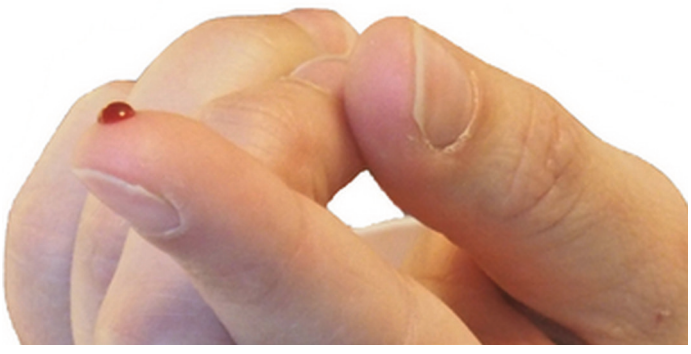
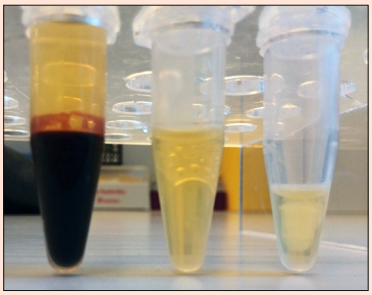


Foto: Peter F. Gammelby.

Koagulation af isoleret plasma

Blodet består af to hoveddele; blodceller og blodplasma. Blodplasma er en gullig væske, der indeholder vand, salte, lipider, plasmaproteiner og lavmolekylære organiske stoffer så som glukose. Yderst til venstre på billedet ses, hvordan blodcellerne samles i bunden af et prøverør efter centrifugering af opsamlet blod. Plasmaet kan fjernes ved hjælp af en pippette. Blodprøver opsamles typisk i rør, der indeholder antikoagulanter. Antikoagulanter hæmmer koagulationen og holder det isolerede plasma flydende. Opsamles blodet i rør uden antikoagulanter eller tilsættes prokoagulanter, vil det isolerede plasma hurtigt koagulere. Når koagulationen aktiveres i plasma, dannes en hvidlig, uopløselig masse, der hovedsageligt består af proteinet fibrin. Denne masse kaldes på engelsk en "plasma clot" eller på dansk en "plasmaprop" eller "plasma-koagel" og ses yderst til højre på billedet. I det beskrevne studie er den uopløselige "plasmaprop" blevet isoleret og undersøgt ved hjælp af avanceret massespektrometri.



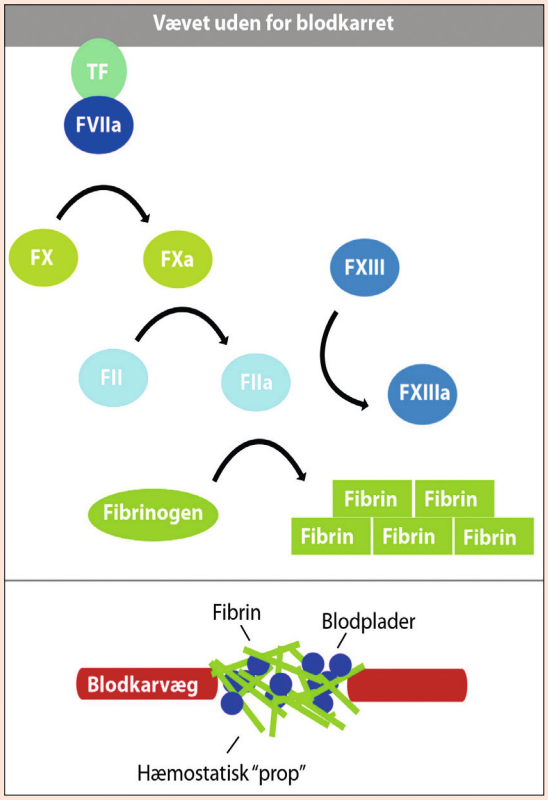
En ubalance, der opstår på grund af manglende prokoagulanter, eksempelvis en koagulationsfaktor, giver derimod ophav til blødninger. Omkring 1.000 danskere er diagnosticeret med en blødersygdom. Langt flere menes dog at have den mest almindelige blødersygdom, von Willebrands sygdom, uden at vide det (ca. 1% af befolkningen) [2].

En kaskade af reaktioner

Koagulationsfaktorerne udgøres af elleve plasmaproteiner,

Koagulationskaskaden

Den øverste illustration viser, hvordan koagulationsfaktorer aktiveres i en kaskadereaktion som følge af en vævsskade. Skader på blodkarvæggen resulterer i, at plasmaproteiner, heriblandt koagulationsfaktorerne, kommer i kontakt med proteiner i det omkringliggende væv. Et af disse vævsproteiner kaldes tissue factor (TF) på engelsk eller vævsfaktor på dansk. Når TF binder til faktor VII (FVII), aktiveres koagulationskaskaden. Aktiveret FVII (FVIIa) i kompleks med TF kan således aktivere faktor X (FX). Aktiveret FX (FXa) aktiverer efterfølgende faktor II (FII), og herefter kan aktiveret FII (FIIa) aktivere både faktor XIII (FXIII) og fibrinogen. Fibrinogen giver således ophav til uopløselige fibrinpolymerer, der stabiliseres af aktiveret FXIII (FXIIIa). Lignende reaktioner aktiverer de resterende koagulationsfaktorer. Den nederste illustration skitserer, hvordan polymeriseret fibrin og blodplader danner en såkaldt hæmostatisk "prop", der kan standse blødninger fra et skadet blodkar.



der traditionelt kaldes faktor I-XIII (faktor IV er Ca^{2+}-ioner og ikke et protein, og faktor VI er en aktiveret form af faktor V). Faktorerne cirkulerer i blodet som inaktive proenzymer, der under normale omstændigheder aktiveres, når et blodkar beskadiges. Aktiveringen er en såkaldt kaskadereaktion, hvor proenzymerne aktiveres trinvist, og reaktionen forstærkes ved hvert trin. Koagulationskaskaden kulminerer med aktiveringen af faktor II, der efterfølgende aktiverer fibrinogen (faktor I) og faktor XIII. Fibrinogen omdannes til uopløselige fibrinfibre, der fungerer som et net omkring blodceller ved det skadede område. Aktiveret faktor XIII er et enzym, der danner kovalente krydsbindinger imellem specifikke proteiner. Disse krydsbindinger dannes blandt andet imellem fibrinfibrene, der således stabiliseres [3].

Fibrinolyse

Umiddelbart efter aktivering af koagulationskaskaden aktiveres en modsatrettet proces, der kaldes fibrinolyse. Under denne proces nedbrydes fibrinfibrene af enzymet plasmin. Faktor XIII krydsbinder plasmaproteiner, der hæmmer fibrinolysen, til fibrin. Dette stabiliserer fibrinfibrene yderligere. At krydsbindingsreaktionen er essentiel for blodkoagulationen ses hos personer med en sjælden blødersygdom, der skyldes mangel på faktor XIII. Disse personers blod koagulerer som normalt, men deres fibrinfibre er ikke stabile, og efter kort tid begynder de at bløde igen.

En udvidet forståelse af faktor XIII's rolle

Vi har i vores studie udført en omfattende undersøgelse af den proces i koagulationen, der involverer faktor XIII [4]. Vi har først og fremmest undersøgt, hvilke plasmaproteiner, der kan fungere som substrater for faktor XIII i krydsbindingsreaktionen. Vores metode er baseret på *in vitro* krydsbinding imellem et kunstigt faktor XIII substrat og de plasmaproteiner, der kan fungere som faktor XIII substrater. Det kunstige substrat er modificeret med biotin, hvilket gør det muligt at oprense og identificere substratpeptider fra plasmaproteinerne. Til formålet har vi benyttet topmoderne udstyr inden for proteinseparation og massespektrometri. Vi har endvidere undersøgt, hvilke plasmaproteiner, der bliver krydsbundet til fibrinfibrene under koagulationen *ex vivo*. Kort forklaret har vi isoleret frisk blodplasma og ladet dette koagulere. Herefter har vi oprenset de krydsbundne plasmaproteiner og igen benyttet massespektrometri til at identificere de oprensede proteiner.

Tidligere har forskere identificeret 20 substrater i blodplasma. Vores studie afslørede yderligere 132 substrater. Dermed kendes nu i alt 152 substrater, hvoraf mindst 48 inkorporeres i fibrinfibrene under koagulationsprocessen.

Fra ny viden til nye hypoteser

Vi ved fra tidligere studier, at de identificerede substrater har funktioner i henholdsvis koagulationssystemet, immunsystemet, i det inflammatoriske system og i dannelsen af bindevæv. Vi ved endvidere, at krydsbindingsreaktionen kan påvirke funktionen af de krydsbundne proteiner. Eksempelvis kan faktor XIII stabilisere fibrinfibrene ved at krydsbinde fibrin og fibrinolysehæmmere. Det forventes, at krydsbindingsreaktionen kan påvirke funktionen af de nyligt identificerede substrater og/eller ændre fibrinfibrenes egenskaber på en lignende måde. Vores resultater indikerer derfor, at faktor XIII ikke bare stabiliserer fibrinfibrene, men spiller en langt mere kompleks rolle i koagulationen. Specielt vekselvirkningen mellem faktor XIII og immunforsvaret er interessant, da begge parter er involverede i sårheling, blodpropdannelsen og blodforgiftningen [4].

Vores resultater rejser en række nye spørgsmål og forventes at stimulere fremtidig forskning inden for koagulationsfeltet, således at en øget forståelse af faktor XIIIs rolle opnås. Et interessant spørgsmål er eksempelvis, om faktor XIII kan regulere aktiveringen af immunsystemet under koagulationen? En bedre forståelse af faktor XIIIs funktioner kan på længere sigt føre til en bedre behandling af faktor XIII-mangel og forhåbentligt også til en bedre medicinsk behandling af blodpropper.

E-mail:
Camilla Lund Nikolajsen: camillan@inano.au.dk
Jan J. Enghild: jje@mbg.au.dk

Referencer
1. Lippi, G., Franchini, M. and Targher, G. (2011) Arterial thrombus formation in cardiovascular disease, *Nat Rev Cardiol 8*, 502-512.
2. www.bloderforeningen.dk.
3. Versteeg, H.H., Heemskerk, J.W., Levi, M. and Reitsma, P.H. (2013) New fundamentals in hemostasis, *Physiol Rev 93*, 327-358.
4. Nikolajsen, C.L., Dyrlund, T.F., Poulsen, E.T., Enghild, J.J. and Scavenius, C. (2014) Coagulation Factor XIIIa Substrates in Human Plasma: Identification and incorporation into the clot, *J Biol Chem 289*, 6526-6534.

GMP-undervisning for ingeniørstuderende

DTU Kemiteknik har i en årrække tilbudt et kursus med titlen "GMP og kvalitet i farmaceutisk, biotek og fødevareindustri". Kurset er udviklet i samarbejde med medicinalindustrien.

Af Lars Kiørboe, DTU Kemiteknik

Kurset har fokus på de procesmæssige aspekter ved Good Manufacturing Practise. GMP er en rammelovgivning og omfatter i realiteten en blanding af emner som internationale regler og love, accepteret teknisk praksis for etablering og drift af bygninger og produktionsanlæg, dokumentationskrav, organisationsstruktur, medarbejderuddannelse o.m.m. – alt sammen for at sikre den endelige produktkvalitet. GMP er obligatorisk ved produktion af medicinalvarer.

Det er grundlæggende for GMP-filosofien, at produktkvalitet ikke kan sikres ved analyse af stikprøver af færdigvarer – kvaliteten skal indbygges i procesanlæg og procedurer. Det hygiejniske design fokuserer på at minimere risikoen for afsætning af produkt på anlægsoverflader og komponenter samt at sikre maksimal rengøringsvenlighed. Det betyder, at f.eks. valg af konstruktionsmaterialer er begrænset til få typer, visse ventiler kan ikke bruges, føringsveje for rør skal sikre drænbarhed osv. Det er i øvrigt de samme principper, der anvendes, uanset om det er på et slagteri eller på en farmaceutisk fyldelinje.

Begrebet clean utilities henviser til de hjælpestoffer, som især benyttes i farmaindustrien: Diverse vandkvaliteter (purified water, water for injection), rent damp til sterilisation, ren oliefri trykluft osv. Disse aspekter rækker også ind i rengøringsproblematikken, der ofte er lige så krævende og omfangsrig som selve produktionen. Det gælder såvel valg af rengøringskemikalier som af systemer og procedurer, der sikrer en dokumenteret reproducerbar rengøring af procesanlægget, således at mikrobiel vækst (biofilm) og krydskontaminering imellem produkter ikke finder sted.

Dokumentation spiller en afgørende rolle for de handlinger, der foretages ved produktion af medicinalprodukter, og efterhånden også på fødevareområdet. Lige fra bygning af nye anlæg til almindelig drift og regelmæssig validering af metoder og udstyr skal alt dokumenteres og godkendes efter nøje fastlagte procedurer. De studerende skal kende hovedprincipperne, og de får lejlighed til selv at afprøve dem under øvelserne.

Fakta om kurset

Kurset gives til kandidatstuderende og er udformet som en bred indføring i de mange aspekter ved GMP og kvalitetssikring. Det afholdes i forårssemestret som et 5 ECTS-point kursus, dvs. omfatter undervisning i fire timer i hver af de 13 uger i semestret. Kurset er et samarbejde imellem DTU Kemiteknik og DTU Fødevareinstituttet.

Da kurset ikke er forskningsbaseret, er det nødvendigt med ekstern ekspertise til belysning af særlige emner, f.eks.: Myndighedsinspektioner (Sundhedsstyrelsen), industriens QA/QC-funktioner, ISO-systemer (Dansk Standard), industrieksempel på anlægskvalificering/-dokumentation, procesvalidering i praksis. Industri-ekskursionen omfatter besøg i forskellige GMP-regulerede produktionsafdelinger på en farmaceutisk fabrik.

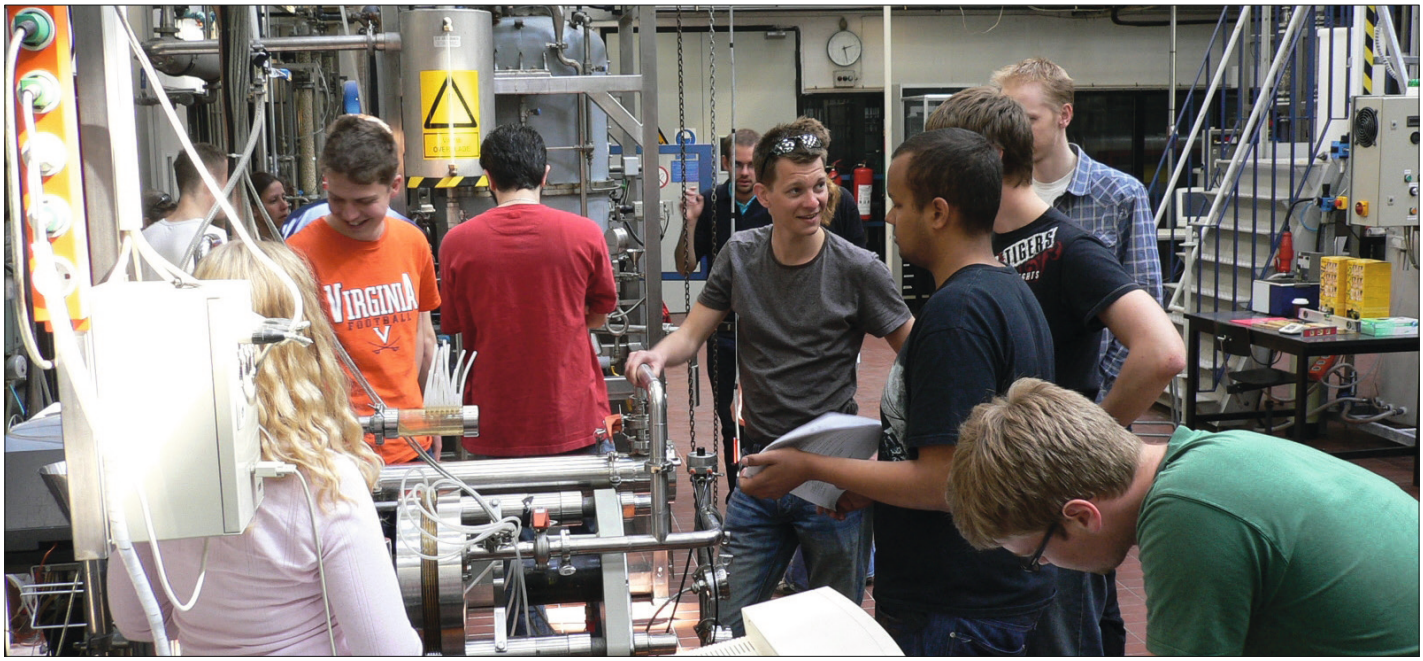
Struktur

Fra kursets start inddeles de studerende i grupper på 4-5 personer, der i forløbet arbejder sammen om de frivillige og obligatoriske opgaver, der gives. Undervisningsformen er blandet, men i betydelig grad baseret på auditorie-forelæsninger med mange indbyggede opgaver, der som regel er tidligere eksamensspørgsmål.

Kursusindhold

1. GMP-begrebet, international lovgivning, organisationer.
2. Kvalitetsstyringssystemer (ISO 9000, ISO 22000 mv.)
3. Hygiejnisk design af procesanlæg.
4. Øvelse 1.
5. Fødevaresikkerhed, risk management.
6. Clean utilities.
7. Kvalificering og kvalitetsdokumentation (URS, IQ/OQ testplaner etc.).
8. Øvelse 2.
9. Rengøringskemi og CIP-processer.
10. Industribesøg på GMP anlæg.
11. Øvelse 3.
12. Procesvalidering, SOP.
13. Rengøringsvalidering. Demonstration af CIP dyser m.v.

Under kurset skal grupperne aflevere fire skriftlige opgaver, hvoraf de tre er baseret på arbejde udført i laboratoriet på et af institutternes pilotanlæg. Det kan være et spraytørringsanlæg, en fermentor, ultrafiltreringsanlæg, CIP-anlæg osv. Hensigten er at simulere relevante industrielle processer. Hver gruppe dedikeres til et bestemt anlæg, som de arbejder med i hele kurset. Øvelserne betragtes som et meget vigtigt pædagogisk element, idet de studerende her får lejlighed til at afprøve de til tider noget abstrakte problemstillinger i praksis. I de tre øvelser, som opbygges omkring en tænkt industriel problemstilling, får de følgende opgaver:



Diskussioner i laboratoriet om hygiejnisk design af procesanlæg.

1. Udarbejde et PI-diagram for anlægget. Gennemføre en vurdering af det hygiejniske design med forslag til forbedringer.
2. Udarbejde dokumenter, der skal bruges til at kvalificere anlægget: Brugerkrav specifikation og to detaljerede testplaner med tilhørende testskemaer.
3. Gennemførelse af selve anlægskvalificeringen vha. de udarbejdede dokumenter og udarbejdelse af en IQ/OQ-rapport. Afvigelser skal godkendes af en QA-funktion i form af et medlem af lærergruppen.

Alle rapporterne diskuteres med lærerne og skal godkendes – evt. efter forbedringer. Det er en forudsætning, at alle fire obligatoriske rapporter er godkendte for, at man kan gå til eksamen.

Erfaringer

Der findes ingen lærebøger, der blot nogenlunde dækker kursets indhold, så undervisningsmaterialet er derfor en blanding af et udarbejdet kompendium, forelæsningsslides, artikler, officielle dokumenter og tidligere eksamensopgaver.

Kurset tages ofte målrettet af studerende, der fokuserer på ansættelse i den relativt store danske farmaceutiske industri. Der er som regel en blanding af studerende fra bioteknologi, farma-linjen, fødevareteknologi og kemiteknik. Kurset opfattes ofte som svært, dels pga. det dominerende procestekniske aspekt, der er uvant for især studerende med hovedsagelig mikrobiologisk baggrund, men også pga. de mange forskellige fagområder, som indgår i stoffet. Særlig problematisk er det forhold, at der ofte ikke er én bestemt veldefineret løsning på et problem (common sense og gode argumenter spiller en rolle). Det er en mental barriere for ingeniørstuderende, der er vokset op med en matematisk tradition, hvor der kun findes én rigtig løsning.

Kurset er meget velbesøgt med omkring 60 studerende hvert år, hvilket også er kapacitetsgrænsen. Der er en fire timers skriftlig eksamen, karaktergennemsnittet er relativt lavt, og der er ofte nogle, der dumper. Det er formentlig en konsekvens af de ovenfor nævnte forhold.

Der er tit forespørgsler fra personer udenfor DTU om optagelse på kurset, ligesom ønsker om specialkurser jævnligt forekommer. Vor begrænsede kapacitet gør det svært at imødekomme ønskerne.

E-mail:
Lars Kiørboe: lgk@kt.dtu.dk

Ordforklaringer

GMP: Good Manufacturing Practise. I familie med GCP (Good Clinical Practise), GDP (Good Documentation Practise), GEP (Good Engineering Practise) osv.
Kvalificering: En formel lovbefalet kvalitetsgodkendelsesprocedure for nyanlæg før ibrugtagning må finde sted.
QA/QC: Quality Assurance/Quality Control: Lovbefalede kvalitetsfunktioner i en farmaceutisk industriel organisation.
URS: User Requirement Specification: Samling af krav som et anlæg skal opfylde.
IQ/OQ: Installation/Operation Qualification. Kvalificeringsprocedurer for installation og montage af hardware henh. af styringssystemer og software.
CIP: Clean-In-Place: Rengøring af procesanlæg uden demontage af komponenter (modsætningen er opvaskemaskine-princippet, hvor alle enkeltdele rengøres adskilte).
SOP: Standard Operation Procedure: Brugervejledning.
PI-diagram: Piping and Instrumentation diagram (et detaljeret flowdiagram).

Elektrostatiske vekselvirkninger i proteiner

Her gives en kort opsummering af vores viden om protein elektrostatik og om eksperimenter som for nylig direkte har målt styrken af elektriske felter i proteiner og har bekræftet, at den dielektriske konstant af proteiner er lav.

Af Jens Erik Nielsen, Protein Design, Novozymes A/S

Elektrostatiske vekselvirkninger i proteiner og enzymer har været studeret i over hundrede år på grund af deres store indvirkning på stabiliteten og funktionen af disse biomolekyler. I de sidste 10-20 år har vi fået meget større viden om styrken af elektrostatiske kræfter i proteiner, og hvordan de påvirker industrielt vigtige enzymparametre som pH-aktivitets- og pH-stabilitetsprofiler.

Beregning af elektrostatiske vekselvirkninger

Grundlæggende set er styrken af elektrostatiske vekselvirkninger givet ved Coulombs lov:

$$E = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon}\frac{q_1 q_2}{r}$$

hvor ε_0 er permitiviteten af vakuum, ε er den dielektriske konstant af mediet, q_1 og q_2 beskriver størrelsen af de elektriske ladninger, og r er afstanden mellem ladningerne.

Den dielektriske konstant beskriver, hvordan mediet påvirker styrken af den elektrostatiske vekselvirkning. Et meget polariserbart solvent som vand har en høj dielektrisk konstant (ca. 80 ved 25°C) og leder ikke det elektriske felt godt, idet vandmolekylerne orienterer sig i forhold til det elektrostatiske felt. Et apolært solvent som f.eks. octanol har en lav dielektisk konstant, hvilket giver stærkere interaktioner end de tilsvarende i vand.

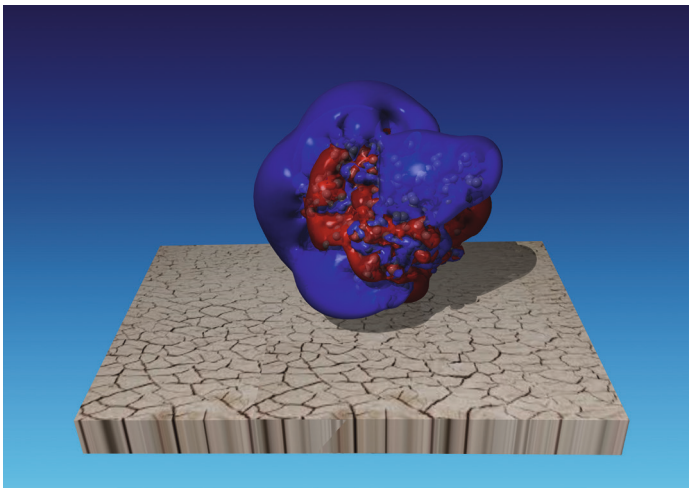
En vandig proteinopløsning kan ikke beskrives tilstrækkelig nøjagtigt som én fase med en uniform dielektrisk konstant, eftersom proteiner er mere apolære end vand, og Coulomb's lov derfor giver unøjagtige beregninger for elektriske kræfter med statiske proteinstrukturer. Der er udviklet flere beregningsmetoder til at løse dette problem. De mest populære er Poisson-Boltzmann-baserede algoritmer, der typisk modellerer protein-vand systemet som et 2-fasesystem med en protein dielektrisk konstant på ca. 2-4, og en dielektrisk konstant for vandet på 80.

Der har i mange år været stor uenighed om størrelsen på den dielektriske konstant for proteiner i disse modeller. Forskellige forskningsgrupper har brugt værdier fra 2-20 i et forsøg på at reproducere eksperimentelt biofysiske karakteristika, som primært bestemmes af elektrostatiske kræfter. Disse har typisk været pK_a-værdier af titrerbare aminosyregrupper i grupper målt vha. NMR pH-titreringseksperimenter, og de har vist sig at være svære at beregne nøjagtigt.

Det elektrostatiske felt og pK_a-værdier

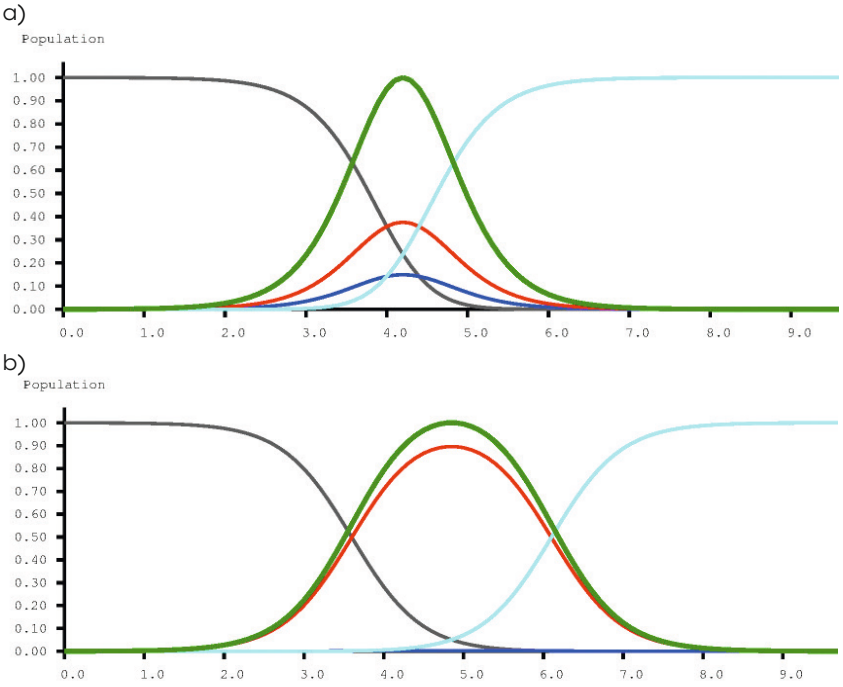
Før vi diskuterer, hvorfor pK_a-værdier er svære at beregne og hvad dette fortæller os om det elektriske felt, er det vigtigt at forstå, hvad der producerer det elektriske felt, hvordan det påvirker pK_a-værdierne i proteiner, og hvorfor pK_a-værdier er vigtige for applikationen af enzymer.

Det elektriske felt i proteiner bestemmes af ladningsfordelingen i proteinet. I klassisk fysisk forstand kan ladningsfordelingen approksimeres ved at tildele hvert eneste atom i et protein en partiel ladning. Sådanne ladningsfordelinger modellerer dipoler og formelle ladninger med god nøjagtighed, men forholder sig ikke til inducerede dipoler og højere-ordens inducerede ladningseffekter.



Figur 1. Det elektrostatiske potentiale omkring proteasen Savinase illustreret med konturer, hvor den potentielle energi af en elementarladning er hhv. -0.5 (rød) og +0.5 (blå) kJ/mol. Atomerne i proteinet kan skimtes som grå kugler gennem de elektrostatiske isopotentiale overflader.

I praksis vil man således tildele hvert atom en ladning på grundlag af et opslag i et "kraftfelt", som er udviklet til at reproducere egenskaber af aminosyrer, f.eks. disses partitioneringskoefficient i et octanol-vand-system. En backbone C=O-gruppe vil typisk have partielle ladninger af størrelsen +0.8 og -0.8, hvorimod den mindre stærke dipol i H-N-bindingen modelleres med partielle ladninger af størrelsen +0.3 og -0.3. Ved et sådant tabelopslag, ladningstildeling eller "charge assignment", kan man approksimere ladningsfordelingen af et givent protein, hvis man har en høj-opløsnings 3D-struktur af proteiner, hvori positionerne af hydrogenatomer også er bestemt.



Figur 2.

Oftest er hydrogenatomer ikke synlige i protein 3D-strukturer bestemt ved røntgenkrystallografi, og positionerne skal derfor beregnes. Ydermere er ladningsfordelingen i et protein stærkt pH-afhængig.

Disse to fakta komplicerer ladningstilordningen betydeligt, idet ioniseringskonstanterne (pK_a-værdierne) af de titrerbare aminosyrer (Glutaminsyre–Glu, Asparaginsyre–Asp, Histidin–His, Arginin–Arg, Lysin–Lys) til dels bestemmes af det elektriske felt i proteinet. F.eks. vil en Asp i et stærkt negativt ladet miljø have en højere pK_a-værdi, hvorimod en Asp i et positivt ladet miljø vil have en lavere pK_a-værdi.

Dvs. for at kunne bestemme det elektriske felt i et givent protein, så skal man kende pK_a-værdierne for alle de titrerbare aminosyrer i deres specifikke miljø i proteinet, samt pH-værdien der er relevant for ladningstildelingen.

Det lyder umiddelbart som et hønen-eller-ægget problem, men det kan løses elegant ved at dekomponere bidragene til det elektrostatiske felt i en pH-afhængig og en pH-uafhængig komponent. Den pH-uafhængige komponent beregnes først, hvorimod den pH-afhængige typisk bestemmes ved evalueringen af en Boltzmann-sum, som summerer over alle tilgængelige protoneringstilstande i proteiner. Selv for små proteiner (100 aminosyrer) er antallet af mulige protoneringstilstande meget højt, eftersom dette afhænger af antallet af protonerbare grupper (N) som 2^N. Eksempelvis består et middelstort enzym som en α-amylase af ca. 500 aminosyrer og ca. 130 titrerbare grupper, hvilket giver $1.4x10^{39}$ mulige protoneringstilstande. Direkte evaluering af ▶

Boltzmann-summen er selvsagt ikke mulig, men med sampling-teknikker såsom Monte Carlo eller andre approksimationer kan man finde gode løsninger på få sekunder.

pK_a-værdier og faktorer, der bestemmer disse

Af de 20 naturligt forekommende aminosyrer titrerer Arg, Asp, Cys, Glu, His, Tyr og Lys ved pH-værdier mellem 2 og 12. Ydermere vil hhv. N- og C-terminalen af proteinet titrere, og standard pK_a-værdierne er kendt for alle disse titrerbare grupper. En pK_a-værdi er et mål for energiforskellen mellem den protonerede og den uprotonerede form af en titrerbar gruppe, og denne energi bestemmes tildels af identiteten af den givne aminosyre og tildels af miljøet omkring den titrerbare gruppe som nævnt ovenfor.

En Asp har eksempelvis en pK_a-værdi på ca. 4.0 i vandig opløsning, men fikseres denne nær en negativ ion såsom en klorid-ion, vil den ufavorable elektrostatiske vekselvirkning mellem den negative ion og den negative ladning på Asp bevirke, at pK_a-værdien af Asp'en bliver forhøjet. Dette gør sig også gældende for interaktioner mellem titrerbare aminosyrer, og mellem disse og partielle ladninger og udvirker, at der er stor forskel på pK_a-værdierne på f.eks. aspartater i proteiner.

Tabel 1 viser pK_a-værdierne af de første syv titrerbare aminosyrer i Hen Egg White Lysozyme og demonstrerer, at der kan være stor forskel på standard pK_a-værdien og den faktisk målte pK_a-værdi i proteinets foldede tilstand.

Rest	Standard pK_a-værdi	pK_a-værdi i HEWL
Glu 7	4.4	2.6
His 15	6.5	5.5
Asp 18	4.0	2.8
Glu 35	4.4	6.1
Asp 48	4.0	1.4
Asp 52	4.0	3.6
Asp 66	4.0	1.2

Tabel 1.

Effekt af pK_a-værdier

Denne spredning i et proteins pK_a-værdier er andet end et kuriosum, og har en stor funktionsmæssig betydning. Der observeres bl.a. en effekt på proteinstabilitet og enzymatiske pH-aktivitetsprofiler.

Et enzym katalyserer kemiske reaktioner ved at tilvejebringe et miljø omkring det bundne substrat, således at energien af overgangstilstanden (transition state) for den kemiske reaktion nedbringes. Typisk er det en eller to specifikke protoneringstilstande, som er katalytisk aktive, og derfor er aminosyrernes pK_a-værdier i det aktive site af stor betydning for enzymets pH-aktivitetsprofil.

I Hen Egg White Lysozyme (HEWL) er to syregrupper (Glu 35 og Asp 52) involveret i katalysen. Glu 35 skal være protoneret og Asp 52 skal være negativt ladet for, at den katalytiske reaktion kan foregå. Den katalytisk kompetente protoneringstilstand (KKP) kan således beskrives som Glu35H, Asp52-. pK_a-værdierne for isolerede Asp og Glu sidekæder i vandig opløsning er hhv. 4.0 og 4.4, hvilket giver en meget smal pH-aktivitetsprofil for enzymet (figur 2a). I virkeligheden er pK_a-værdierne i HEWL perturberet, så enzymet er katalytisk aktivt fra pH 3-7 jf. pK_a-værdierne i tabel 1 (figur 2b).

Ændrede pK_a-værdier har også stor betydning for pH-stabilitetsprofilen af proteiner. I de fleste tilfælde er der forskel på pK_a-værdierne mellem den foldede og udfoldede tilstand af proteinet, og her observerer man typisk en stærk pH-afhængighed af proteinets stabilitet, hvor pK_a-værdierne spiller den primære rolle.

pK_a-værdier er således vigtige for et enzyms pH-stabilitets- og pH-aktivitetsprofil. De er indirekte bestemmende for, hvilke betingelser enzymet kan bruges under. Da elektrostatiske kræfter spiller en stor rolle i at bestemme et enzyms pK_a-værdier, er det vigtigt at forstå disse, hvis man vil optimere/engineere et enzym, så det virker under specifikke industrielle betingelser.

Hvorfor er pK_a-værdier svære at beregne nøjagtigt?

Vi er nu nået tilbage til vores udgangspunkt og forklaringen på, hvorfor undertegnede og forskningsgrupper, der arbejder med proteinelektrostatik, ikke har gjort nævneværdige fremskridt de sidste 10-15 år mht. udvikling af modeller, der kan beregne protein pK_a-værdier mere nøjagtigt.

I løbet af de sidste 10 år er to nye eksperimentelle teknikker blevet udviklet til at måle det elektrostatiske felt mere direkte end det har været muligt med pK_a-værdier. Målinger baseret på pH- og ladnings-inducerede ændringer i det NMR kemiske skift og på vibrational Stark spectroskopi har vist, at det elektriske felt i proteiner modelleres bedst med en lav protein dielektrisk konstant i Poisson-Boltzmann ligningen. Dvs., at det elektrostatiske felt er stærkt, og at pK_a-beregningsalgoritmer – hvis de modellerer proteiner realistisk – bør bruge en dielektrisk konstant på 2-4.

Desværre så overestimerer pK_a-beregningalgoritmer de protein-inducerede ændringer i pK_a-værdier, hvis de bruger så lave dielektrisk konstanter, og vi er derfor i den situation, at korrekt modellering af det elektriske felt bevirker, at de beregnede pK_a-værdier bliver endnu værre.

En forklaring på den observation er, at andre effekter end det protein-inducerede elektriske felt har stor betydning for et proteins pK_a-værdier. En mulig effekt, som kan være skyld i diskrepansen, og som sjældent modelleres pga. af dens kompleksitet, er ændringerne i vandstrukturen omkring proteinet, der sker, når en aminosyre titrerer. Det har altid været velkendt, at ionisering afstedkommer ændringer i den umiddelbare vandstruktur, men man har i mange år ignoreret dette i håbet om, at en detaljeret beskrivelse af proteinstrukturen og Poisson-Boltzmann-ligningen kunne give en tilstrækkelig nøjagtig beskrivelse af de faktorer, der er vigtige for pK_a-værdier.

Med de nye data for det elektrostatiske felts styrke er det klart, at detaljeret modellering ioniserings-inducerede ændringer i vandstrukturen bør være et fokusområde for fremtidig udvikling af algoritmer til beregning af elektrostatiske effekter i proteiner.

Selv efter ca. 100 års studie er det svært at forstå selv simple effekter som elektrostatik i proteiner, og for elektrostatik-nørder er det gode nyheder!

E-mail:
Jens Erik Nielsen: Jens.Nielsen@gmail.com

Kilder

Vibrational Stark Spectroscopy Directly Probes Electric Fields in Proteins. S Boxer, S Bagchi, SD Fried, N Levinson, M Saggu, L Xu. Biophysical Journal 104 (2), 355a.

Protein dielectric constants determined from NMR chemical shift perturbations. Predag Kukic, Damien Farrell, Lawrence P MacIntosch, Bertrand García-Moreno E, Kristine Steen Jensen, Zigmantas Toleikis, Kaare Teilum, Jens Erik Nielsen. Journal of the American Chemical Society 135 (45), 16968-16976.

The pKa Cooperative: A collaborative effort to advance structure-based calculations of pKa values and electrostatic effects in proteins. JE Nielsen, MR Gunner, E García-Moreno. Proteins: Structure, Function and Bioinformatics 79 (12), 3249-3259.

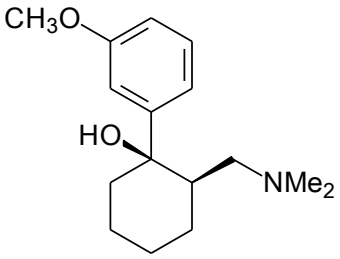
Nyt om …

… Mysteriet om Tramadol

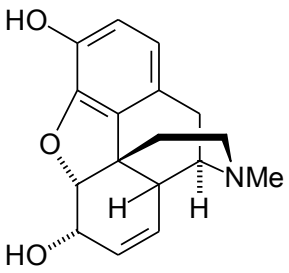
Det er jo meget almindeligt, at man syntetiserer naturstoffer, der har medicinsk anvendelse, dels fordi man kan lave dem billigere end ved at isolere dem fra naturlige materialer, og dels fordi man er interesseret i at modificere dem. Det er derimod meget ualmindeligt, at man efterfølgende finder lægemidler

i naturen, som oprindeligt er fremstillet syntetisk. Det vakte derfor opsigt, da man fandt det syntetisk fremstillede smertestillende middel Tramadol i en mængde på 0,4% i rødderne af en afrikansk lægeplante, *Nauclea latifolia,* som gror i Cameroun. Den anvendes af befolkningen mod en række sygdomme og smerter.

Tramadol, der indeholder de vigtigste strukturer fra morfin, var fremstillet allerede i 1977. En anden undersøgelse viste, at det kun var rødder indsamlet i den nordlige del af Cameroun, der indeholdt Tramadol, hvorimod rødder fra planter i den sydlige



TRAMADOL



MORFIN

del ikke indeholdt noget. Ved en rundspørge blandt farmerne viste det sig, at de i den nordlige del brugte Tramadol for bedre at kunne udholde strabadser, og at de også gav det til kvæget, hvilket man ikke gjorde i den sydlige del. På grund af heden søgte kvæget ind under træerne i skyggen og Tramadolen stammede formentlig fra disses urin og fæces. Det viste sig, at det også fandtes i grundvandet og formentlig blev optaget af træerne herfra.

Carl Th.

Tramadol Drama, Chemical & Engineering News September 29, 2014 side 34.
Tramadol – A True Natural Product? *Angewandte Chemie International Edition* 53 2014 side 12073, DOI: 10.1002/ania.201406639.

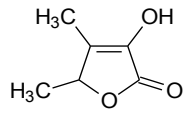
Nyt om …

… soya

Med den stigende popularitet af østasiatiske køkkener i Danmark i de senere år - især sushi, har soyaen holdt sit indtog. En blanding af ristede sojabønner og hvede tilsættes svampen *Aspergillus oryzae* og får lov at "mugne" adskillige dage i høj

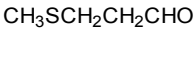
luftfugtighed. Denne kultur opslemmes nu i en 20% vandig saltopløsning og får så lov til at stå og gære i 6-8 måneder. Efter filtrering og opvarmning for at deaktivere enzymer er produktet en rødbrun væske. En undersøgelse af de centrale aromastoffer i fem forskellige japanske soyaer viste, at de fire viste stoffer var de altdominerende aromastoffer. Specielt dominerende er sotolon i alle de fem undersøgte soyaprodukter. Den optræder også som naturligt aromastof i en række forskellige sammenhænge som f.eks. karry, løvstikke, ahornsirup, gammel rom og sauternes.

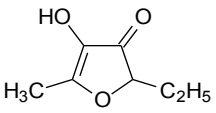
Carl Th.



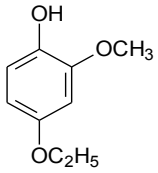
3-hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5*H*)-on

SOTOLON





4-hydroxy-2-ethyl-5-methylfuran-3(2*H*)-on



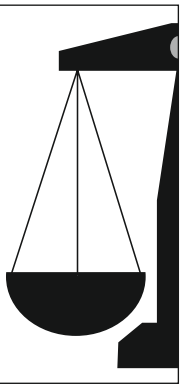
Comparison of Key Aroma Compounds in Five Different Types of Japanese Soy Sauces by Aroma Extract Dilution Analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60, 2012, side 3831.

Pipettecenteret

Kalibrering og service af alle fabrikater pipetter.

Vi kalibrerer både ved indsendelse eller på kundens adresse.

Salg af pipetter og laboratorie varer.



Pipettecenteret
Skovkanten 41 · 4700 Næstved
Tlf. 55 73 62 05 · Mobil 30 33 32 49
Email. nielslindgaard@stofanet.dk
www.pipettecenteret.dk

Patentering af stamceller og gener

Stamceller nævnes ofte som en fremtidig mirakelkur, men kan forskningen patentbeskyttes?

Af Anders Heebøll-Nielsen,
European Patent Attorney, Awapatent A/S

Under debatten om Danmarks tiltræden til EU's enhedspatentdomstol rejstes synspunkter om patentering inden for stamceller, gener og software, da der var bekymring for at overlade beslutninger om disse emner til en domstol uden for landets grænser. Kontroversielle områder udvikles typisk hurtigt, og patentpraksis er tilsvarende under udvikling. Særligt som patentansøger har man stor interesse i, at patentsystemet er forudsigeligt, så man ikke skal bruge tid og penge på patentansøgninger, som vil blive afvist. Denne artikel søger at skabe overblik over udviklingen af praksis for patentering af stamceller og gener.

Europa

EU-landenes patentlove er styret af Europa-Parlamentets og Rådets Direktiv 98/44/EF om retlig beskyttelse af bioteknologiske opfindelser. I den europæiske patentkonvention (EPC) er flere af Direktivets artikler inkorporeret som regler, der definerer bioteknologiske opfindelser, som kan være patenterbare eller er udelukket fra patentering. Ifølge Direktivet falder menneskelige gener udtrykkeligt inden for muligt patenterbare opfindelser, hvis de vel at mærke er isoleret fra det menneskelige legeme eller frembragt ved en teknisk fremgangsmåde. I modsætning hertil er anvendelsen af menneskelige embryoner til industrielle eller kommercielle formål udelukket fra patentering. Gener er lette at håndtere, da de kan beskrives ved en DNA-sekvens, men "menneskelige embryoner" er derimod ikke klart defineret i Direktivet. Spørgsmålet "hvad er et embryon?" har været sendt videre til den Europæiske Unions Domstol (CJEU) for afklaring. Faktaboksen viser en oversigt over vigtige datoer for to ikke-beslægtede patentansøgninger, som har ført til afgørelser fra CJEU.

C-34/10

Den tyske højesteret henviste til CJEU for en afklaring af fortolkningen af Direktivets forbud mod patenter, som angår anvendelse af menneskelige embryoner, efter en ugyldighedssag om patentet 197 56 864. Patentet beskyttede isolerede, oprensede præcursorceller tilvejebragt fra embryonale stamceller, som kan være fra et embryon eller fra en ægcelle efter en kernetransplantation. CJEU's dom udtrykker, at begrebet "menneskeligt embryon" i Direktivet skal forstås bredt for sikringen af menneskets værdighed, som ville kunne påvirkes af patenterbarhed. CJEU fandt derfor, at "enhver menneskelig ægcelle helt fra stadiet for befrugtningen, enhver ubefrugtet menneskelig ægcelle, hvori der er transplanteret en cellekerne fra en moden menneskecelle, og enhver ubefrugtet menneskelig ægcelle, der er stimuleret til deling og videreudvikling gennem partenogenese, udgør et "menneskeligt embryon". Dommen understreger, at Direktivet udelukker patentering af en opfindelse, såfremt den tekniske viden, der er genstand for patentansøgningen, nødvendiggør forudgående destruktion af menneskelige embryoner eller anvendelsen heraf som grundmateriale, uanset på hvilket stadium dette finder sted, og selv såfremt beskrivelsen af den tekniske viden ikke omtaler anvendelsen af menneskelige embryoner.

C-364/13

I 2006 indleverede International Stem Cell Corporation en patentansøgning i Storbritannien, hvor patentmyndigheden afviste ansøgningen under henvisning til C-34/10. Afgørelsen blev appelleret, og domstolen henviste sagen til CJEU for en uddybende fortolkning af Direktivet, da C-34/10 til dels er upræcis. Patentansøgningen angår en fremgangsmåde til fremstilling af menneskelige stamceller, der omfatter partenogenetisk aktivering af en ægcelle. C-364/13 påpeger, at ifølge C-34/10 skal en ubefrugtet menneskelig ægcelle kvalificeres som "menneskeligt embryon", for så vidt som den "kan udløse en proces for udvikling af et menneske". Under behandlingen af C-34/10 blev det fremført, at en "partenot" havde denne evne, men ifølge den videnskabelige viden, som var til rådighed under C-364/13, kan en partenot ikke som sådan udløse en proces for udvikling, som fører til et men-

Vigtige datoer om stamcellepatentering i Europa

19. december 1996:	Ansøgningsdato for prof. Brüstles tyske patent 197 56 864.
6. juli 1998:	Europa-Parlamentets og Rådets Direktiv 98/44/EF.
29. april 1999:	Den tyske patentmyndighed udsteder 197 56 864.
20. oktober 2004:	Ugyldighedssag indledes mod 197 56 864 ved den tyske patentdomstol.
23. oktober 2006:	Ansøgningsdato for International Stem Cell Corporations britiske patentansøgning 0621068.6.
17. december 2009:	Den tyske højesteret henviser til den Europæiske Unions Domstol (CJEU) for afgørelse om 197 56 864 (C-34/10).
18. oktober 2011:	CJEU træffer afgørelse i C-34/10.
16. august 2012:	Storbritanniens patentmyndighed afviser 0621068.6 efter at have afventet C-34/10.
17. april 2013:	High Court of Justice (England & Wales) henviser til CJEU for afgørelse om 0621068.6 (C-364/13).
18. december 2014:	CJEU træffer afgørelse i C-364/13.

neske. CJEU fandt derfor, at Direktivet "skal fortolkes således, at en ubefrugtet menneskelig ægcelle, der er stimuleret til deling og videreudvikling gennem partenogenese, ikke udgør et "menneskeligt embryon" […], hvis den i lyset af den aktuelle videnskabelige viden ikke som sådan har en iboende evne til at udvikle sig til et menneske".

USA

Den amerikanske patentlov nævner, som EPC, opfindelser, som er udelukket fra patentering, men loven har ikke samme bekymring om stamceller. Amerikanske patenter svarende til ansøgningerne bag CJEU's to afgørelser er blevet udstedt. En væsentlig bekymring i USA er, om ansøger forsøger at patentbeskytte naturlove eller naturlige fænomener eller produkter. Den 16. december 2014 offentliggjorde den amerikanske myndighed et nyt sæt retningslinjer til hjælp for tolkningen af nylige afgørelser fra den amerikanske højesteret. Patentering af genbaserede opfindelser er blevet vanskelig i USA, da højesteret har fundet, at fordi gensekvenser findes i naturen, kan disse ikke patenteres. Det er muligt at patentbeskytte cDNA, som netop ikke findes naturligt, og dermed kan eukaryote gener beskyttes. Prokaryote gener kan derimod næppe patenteres, da de ikke indeholder introns. Tilsvarende vil naturligt forekommende organiske molekyler også være vanskelige at patentbeskytte, modsat i Europa.

Afsluttende

Patentpraksis udvikles løbende, og selv om loven ikke ændres, kan der ske ændringer i, hvad der kan patentbeskyttes. Således er C-34/10 meget begrænsende omkring patenter, der omhandler embryonale stamceller, hvorimod C-364/13 åbner mere op. Dommene omtaler, hvad der var muligt på tidspunktet for afgørelserne, og de åbner dermed for, at opfindelser, som i dag er udelukket fra patentering, kan bringes inden for området, hvor patenterbarheden ikke er udelukket. Hvis det for eksempel bliver muligt at fremskaffe embryonale stamceller uden at ødelægge et embryon, vil en opfindelse om embryonale stamceller kunne søges patenteret.

I Europa er patentansøgninger om gener ikke udelukket fra patentering, men i USA er holdningen blevet meget restriktiv. Det er muligt, at praksis i USA vil udvikle sig, så DNA-sekvenser kan indsættes i en sammensætning, som ikke findes naturligt. For tiden bør patentansøgninger, som er relevante for USA, søge at beskrive opfindelser med "naturligt forekommende produkter" (DNA-sekvenser eller molekyler) både som fremgangsmåder og som produkter.

For alle opfindelser gælder naturligvis stadig, at de skal opfylde kravene om nyhed og opfindelseshøjde for at føre til patent, og selv hvis et patent bliver udstedt, giver dette ikke i sig selv ret til at udøve opfindelsen. Som opfinder bør man ikke holde sig tilbage fra at søge patent, men det kan være en god idé at tage en snak med en patentrådgiver, før man beslutter sig for, hvordan man vil gå videre.

E-mail:
Anders Heebøll-Nielsen: anders.heeboll-nielsen@awapatent.com

Grønland – et land i rivende udvikling

Indbyggere, politikere og samarbejdspartnere er ikke i tvivl. Grønland står over for en lys fremtid inden for råstofområdet, og du kan som patenttager blive en del af den.

Af patentrådgiver, partner Jesper Mark Wenzel, Chas. Hude A/S

Geologiske undersøgelser har vist, at der i den grønlandske undergrund findes en lang række metaller, mineraler, ædelsten og sjældne jordarter som bl.a. jern, bly, zink, kobber, guld, sølv, rubiner, safirer, niobium, tantalum og zirkonium.

Fundene har i de sidste 10 år sat gang i den grønlandske udvikling inden for minedrift, og der bliver i øjeblikket samarbejdet med store virksomheder som North American Nikkel, True North Gems og Hudson Resources Inc.

Derudover opstår der jævnligt nye grønlandske minedriftsvirksomheder, der har gode erfaringer med at arbejde i det kolde og udfordrende miljø.

Fokus på uddannelse

Ud over det voksende antal minedriftsvirksomheder forbereder resten af Grønland sig på en fremtid med en stor råstofindustri.

Derfor er der sat stor fokus på uddannelse af de lokale beboere på Grønland på bl.a. Greenland School of Minerals & Petroleum, Råstofskolen og på ARTEK, der som de eneste i Danmark uddanner arktiske diplomingeniører.

Virksomhederne inden for al transport til lands, til vands og i luften, samt entreprenørvirksomheder, forbereder sig også på et stigende behov for deres ekspertise. Veletablerede virksomheder som Air Greenland Charter, H.P. Entreprenørmaskiner A/S og LNS Greenland A/S samt en håndfuld andre lokale og internationale transportvirksomheder sætter nu alle segl ind på at blive de bedste samarbejdspartnere ved råstofforskning og minedrift.

Mange patentmuligheder

En udvikling som denne kræver utvivlsomt nye og innovative løsninger, der kan danne grundlag for et patent. Lige så mange ressourcer, der findes i den grønlandske undergrund, lige så mange patentmuligheder er der inden for alle tænkelige teknologier, maskiner, software og kemiske fremgangsmåder, der knytter sig til minedrift og råstofindustrien generelt. Grundet de store mængder ressourcer, den lokale ekspertise og det faktum, at Grønlands muligheder endnu ikke for alvor er nået ud til resten af verden, er der gode muligheder for at tage, udnytte og ikke mindst håndhæve et patent i Grønland. Det er derfor et strategisk godt tidspunkt at patentere på.

Krav til grønlandsk patent

Et grønlandsk patent er underlagt den danske lovgivning og skal derfor søges hos den danske Patent- og Varemærkestyrelse og tilsvarende som i Danmark er kravet for at opnå patent, at opfindelsen, der søges patent på, adskiller sig væsentligt fra kendt teknik på ansøgningsdagen. Det er således også danske regler, der gælder ved håndhævelsen af et grønlandsk patent. Det vil sige, at der er tale om patentkrænkelse, såfremt man i Grønland producerer, sælger eller importerer det, som andre har opnået grønlandsk patent på.

Strategisk og professionel håndtering af immaterielle rettigheder handler ikke kun om at beskytte, overvåge, håndhæve og forsvare sin viden. Det handler i lige så høj grad om at kommercialisere de immaterielle værdier, så viden, teknologi og idéer kan omsættes til forretning.

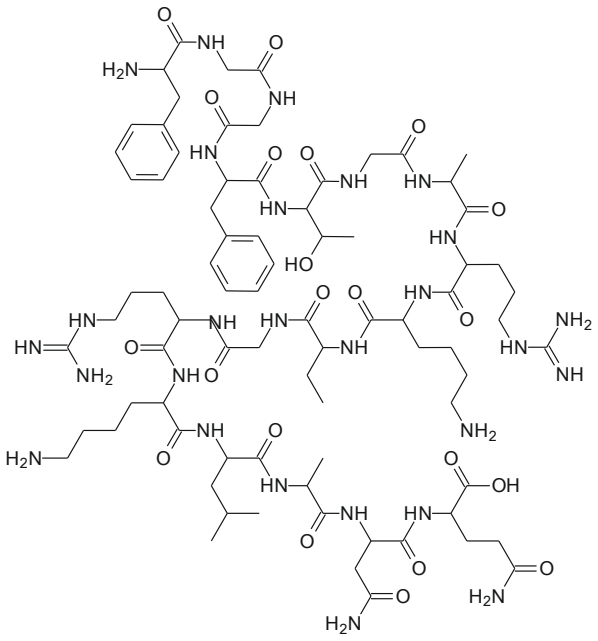
E-mail:
Jesper Mark Wenzel: jmw@chashude.dk

Nyt om …

… Afhængighed af solbadning

Til trods for at et stort materiale viser en klar forbindelse mellem modermærkekræft og solbadning både ved stranden og i solariet, fortsætter antallet af kræfttilfælde med at stige.

Det er blevet vist, at mængden af β-endorphin (et peptid med morfinlignende egenskaber) stiger hos mus, når de udsættes for UV-lys i nogle uger, og musene søger mod UV-lyset. Hvis man giver musene naloxon, som blokerer endorphinreceptoren



β–ENDORPHIN

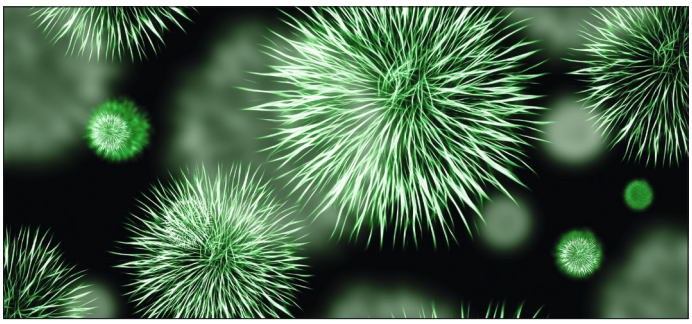
i hjernen, viser de ikke denne adfærd. Forfatterne antyder på dette grundlag, at mennesker kan få en tilsvarende afhængighed af solbadning.

Carl Th.

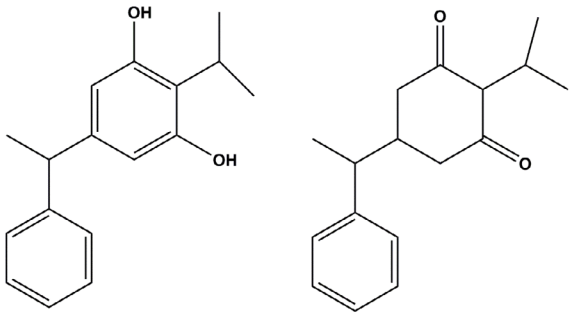
Skin β-Endorphin Mediates Addiction to UV Light, *Cell* 157, 2014, side 1527.

Nyt om …

… Bakterielingvistik



Bakterier, der taler sammen vha. acylerede homoserinlaktoner, er velkendte. Når homoserinlaktonerne når en vis koncentration, går bakterierne i gang med nye aktiviteter (quorum sensing). F.eks. bliver de virulente. Mange bakterier benytter andre



2-(2-propyl)-5-(1-phenylethyl)resorcionol 2-(2-propyl)-5-(1-phenylethyl)cyclohexan-1,3-dion

Både 2-(2-propyl)-5-alkylresorcinol og 2-(2-propyl)-5-alkylcyclohexan-1,3-dion optræder med 1-phenylethyl- (vist i formlen), (E)-1-phenylethenyl-, isohexyl-, pentyl-, isooctyl- og heptyl-grupper i 5-stillingen.

sprog og en stor gruppe eksemplificeres ved *Photorhabdus asymbiotica*. Den er dødelig patogen for insekter, men kan også inficere mennesker. Bakterier i denne gruppe kommunikerer indbyrdes vha. dialkylresorcinoler og dialkylcyclohexandioner.

Carsten Christophersen

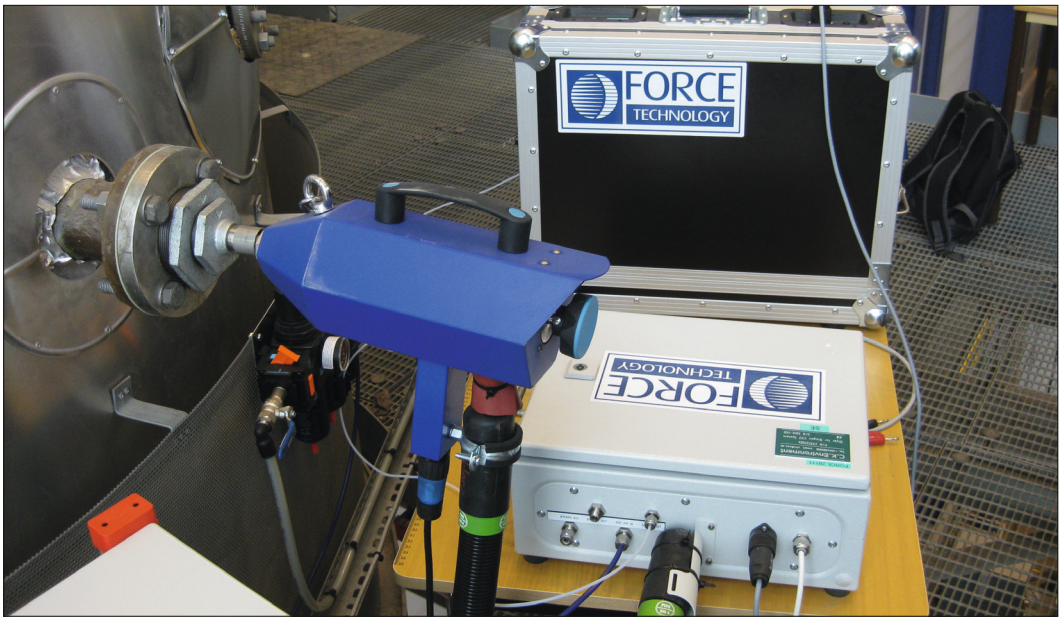
Dialkylresorcinols as bacterial signaling molecules. S. Brameyer *et al. PNAS*, 2015, **112**, 572-577.

Kulstof-14-bestemmelse af fossilt CO_2 i røggas fra affaldsforbrænding

FORCE Technology har udviklet en metode til at måle biogent og fossilt CO_2 i røggas fra affaldsforbrændingsanlæg. Metoden gør det muligt at opsamle CO_2 over meget lange perioder.

Af Karsten Fuglsang, Henrik Mathiasen og Niels Hald Pedersen, FORCE Technology

Regeringen bestemte i 2012, at CO_2 kvoteloven fra den 1. januar 2013 også skulle gælde for de danske affaldsforbrændingsanlæg. Det betyder, at de danske affaldsforbrændingsanlæg skal opgøre deres årlige emission af fossilt CO_2. Da affaldets nøjagtige indhold af biogent og fossilt carbon ikke kan forudsiges præcist nok ud fra det kendskab, man har til affaldssammensætningen, iværksatte Energinet.dk i samarbejde med en række danske affaldsforbrændingsanlæg i 2009 et projekt med det formål at undersøge emissionen af fossilt og biogent CO_2 fra typiske danske affaldsforbrændingsanlæg. Projektet blev gennemført af DTU i samarbejde med FORCE Technology og DCE i 2009-2012. Som et led i dette projekt udviklede FORCE Technology en metode til at måle andelen af biogent og fossilt CO_2 i røggas fra affaldsforbrændingsanlæg. Målemetoden, der er baseret på en bestemmelse af kulstof-14-indholdet i røggassens CO_2, er siden 2013 blevet implementeret på fem af de største affaldsforbrændingsanlæg i Danmark. Metoden er nu akkrediteret af DANAK og godkendt af engelske Ofgem (Office of Gas and Electricity Markets) til dokumentation i forbindelse med affaldsanlæggenes salg af "grøn strøm" til England.



Figur 1. Instrumentering til flowproportional prøvetagning af CO_2 fra affaldsforbrændingsanlæg. 1 = probe med filter til fjernelse af partikler; 2 = opvarmet prøvetagningsslange; 3 = konditioneringsenhed til fjernelse af vand; 4 = flaske med absorptionsvæske indeholdende 4 M KOH; 5 = tørreenhed med silicagel; 6 = partikelfilter; 7 = massefloweontroller, der regulerer prøvetagningsflowet proportionalt med røggassens hastigheden i skorstenen; 8 = pumpe; 9 = anlæggets flowmåler til bestemmelse af røggashastigheden.

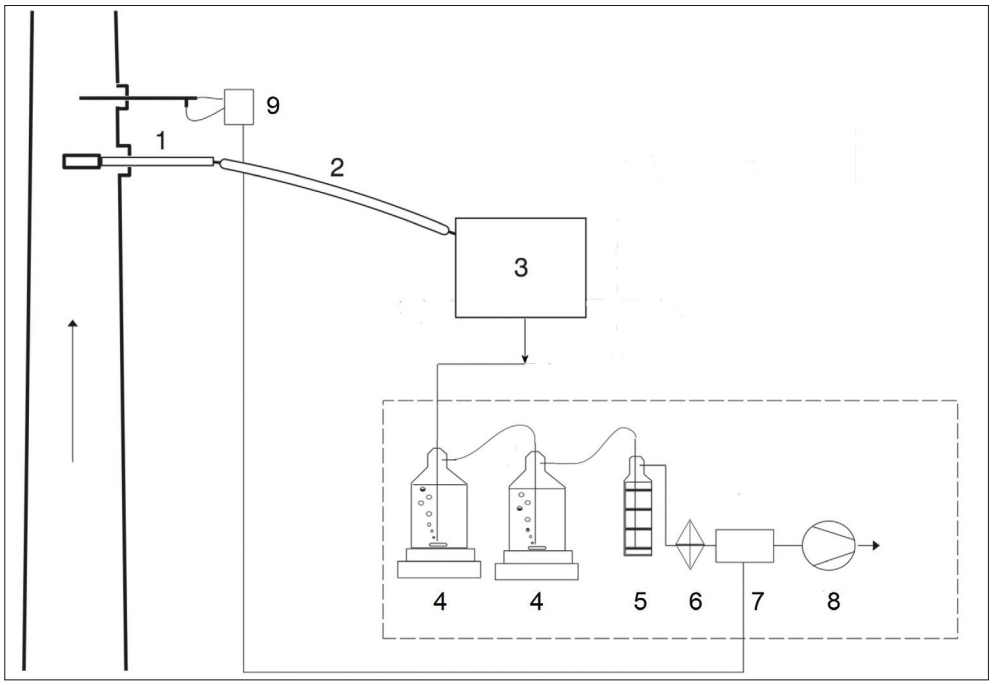
Hvordan bestemmes den fossile emission af CO_2?

CO_2 i røggas fra affaldsforbrænding stammer fra den biogene kulstof i affaldet og fra den fossile kulstof i affaldet. Den biogene del af affaldet har et indhold af kulstof-14, der svarer til det aktuelle indhold af CO_2 i atmosfæren på vækstidspunktet, hvorimod den fossile kulstof ikke indeholder målelige mængder af kulstof-14. Da alt kulstof-14 i en udtaget prøve af CO_2 fra røggassen derfor stammer fra affaldets indhold af biogent kulstof, kan andelen heraf beregnes ud fra resultatet af en kulstof-14-analyse. Andelen af fossilt CO_2 af det totale CO_2 i prøven kan herefter beregnes ud fra, at summen af den biogene og fossile andel giver 100%.

En nærmere beskrivelse af målingen af biogent og fossilt CO_2 i røggas er beskrevet i standarden EN ISO 13833 (2013), som FORCE Technology har bidraget aktivt til udarbejdelsen af.

Akkrediteret langtidsprøvetagning og analyse af kulstof-14

Metoden, som anvendes, er baseret på opsamling af CO_2 i basisk væske (4 M KOH). CO_2 opsamles som carbonat, og indholdet af kulstof-14 i den opsamlede carbonat analyseres efterfølgende i FORCE Technology's laboratorium ved low level



Figur 2. Udstyr som vist på figur 1, anvendt til langtidsprøvetagning af CO_2 i skorstenen på et affaldsforbrændingsanlæg.

liquid scintillation counting. For en nærmere beskrivelse af målemetoden henvises til [1]. FORCE Technology har udviklet en prøvetagningsmetode, der gør det muligt at opsamle CO_2 over meget lange perioder (typisk 1-2 måneder pr. prøve), og dette reducerer antallet af prøver pr. år og dermed omkostningerne til prøveskift og analyse. Prøvetagningen foretages flowproportionalt i henhold til EN ISO 13833.

FORCE Technology blev af DANAK i 2014 akkrediteret til såvel langtidsprøvetagning af CO_2 som analyse af kulstof-14 i henhold til EN ISO 13833.

Figur 1 og 2 viser prøvetagningsudstyret installeret på skorstenen på et affaldsforbrændingsanlæg.

Beregning af den fossile andel af CO_2

Som nævnt beregnes andelen af fossilt CO_2 ud fra en bestemmelse af, hvor stor en andel af den opsamlede kulstof, der er af biogen oprindelse. Den biogene andel udtrykkes ved pmC (percentage of modern Carbon). Andelen af biogent CO_2 i den udtagne røggasprøve beregnes ud fra kulstof-14 indholdet i den carbonat, der opsamles i prøverne. Beregningen fremgår af (I) og (II):
Hvor:

$$fCO_2[\%] = 100 - \mathrm{pmC}_{sample}[\%] \quad \text{(I)}$$

$$\mathrm{pmC}_{sample}[\%] = \frac{(\mathrm{CPM}_{sample} - \mathrm{CPM}_{background})}{\varepsilon \cdot \mathrm{M}_{C,sample}[\mathrm{g}] \cdot C\left[\frac{dpm}{g}\right]} \cdot \frac{100}{\mathrm{pmC}_{ref}} \cdot 100[\%] \quad \text{(II)}$$

fCO_2 = andelen af fossilt carbon i prøven i forhold til den totale masse af carbon i prøven [%].
pmC_{sample} = andelen af biogent carbon i prøven i forhold til den totale masse af carbon i prøven [%].
CPM_{sample} = prøvens kulstof-14 indhold målt ved LSC. Kulstof-14 indholdet udtrykkes ved antallet af observerede disintegrationer ("counts") pr. minut for hver prøve [min^{-1}].
$\mathrm{CPM}_{background}$ = antallet af observerede "counts" pr. minut målt vha. LSC for en prøve indeholdende 100% fossilt carbon (dvs. uden biogent carbon) [min^{-1}].
ε = den samlede tælleeffektivitet for LSC-detektionen (dvs. forholdet mellem observerede og faktiske disintegrationer). ε bestemmes ved, at prøverne spikes med en referenceprøve med kendt ^{14}C-indhold.
$\mathrm{M}_{C,sample}$ = massen af carbon opsamlet i prøven [g].
C = en konstant, der repræsenterer antallet af disintegrationer pr. gram biogent carbon = 13,65 [$min^{-1} \cdot g^{-1}$] [2].
pmC_{ref} = en referenceværdi, der korrigerer for indholdet af ^{14}C i den aktuelle biomasse. pmC_{ref} angives som et index, der beregnes ud fra ^{14}C indholdet i atmosfæren før 1950.

Som det fremgår af (II), korrigeres den beregnede biogene andel (pmC) med en referenceværdi pmC_{ref}. Denne korrektion er nødvendig, fordi biomasse, der er vokset især i perioden 1960-1990, indeholdt væsentligt mere kulstof-14 end det indhold, der havde været naturligt indtil 1950.

Det skyldes, at atmosfærens indhold af kulstof-14 øgedes ganske dramatisk i løbet af 1950'erne pga. de overjordiske atombombesprængninger, der blev udført under den kolde krig. De overjordiske atombombesprængninger blev stoppet i 1963, og kulstof-14-indholdet i atmosfæren faldt herefter markant i 1960'erne og 70'erne. Referenceværdien for kulstof-14 i frisk biomasse (f.eks. halm), der har groet i 2010, defineres til 105 [3]. Imidlertid indeholder den biomasse, der er vokset og er blevet fældet efter 1960'erne, gennemsnitligt en øget mængde kulstof-14, som der skal korrigeres for, når man skal beregne andelen af biogent kulstof ud fra kulstof-14-indholdet.

Den "sande" referenceværdi pmC_{ref} vil for en blanding af biomasse, der indfyres i et affaldsforbrændingsanlæg, derfor afhænge af sammensætningen af f.eks. træ og papir og af de tidspunkter, hvor træmassen er vokset og fældet/høstet. Da man under normale driftsforhold aldrig kender den præcise sammensætning og alder af den biomasse, der modtages til forbrænding, er det ikke muligt at beregne et anlægs aktuelle pmC_{ref}.

I praksis anvendes en gennemsnitlig værdi, der er fundet ud fra en større undersøgelse på schweiziske affaldsforbrændingsanlæg [4]. Denne værdi er fundet anvendelig som referenceværdi for det gennemsnitlige indhold af kulstof-14 i biomassen i danske affaldsforbrændingsanlæg [5]. Referenceværdien justeres hvert år for den reduktion af kulstof-14 indholdet i atmosfærens CO_2, der sker som følge af henfaldet af den ekstra $^{14}CO_2$, der blev tilført ved atombombesprængningerne, og som følge af den "fortynding" af $^{14}CO_2$ i atmosfæren, som de stadigt stigende globale emissioner af fossilt CO_2, forårsager. For 2015 anvendes for affaldsforbrændingsanlæg i Danmark en pmC_{ref} på 109,2.

Hvad er måleusikkerheden?

Da anlæggenes opgørelser over den årlige, fossile emission af CO_2 anvendes til afregning efter CO_2-kvoteloven, stilles der ganske store krav til måleusikkerheden på de målinger, der indgår i beregningen af den årlige emission. Den samlede usikkerhed på det indrapporterede årsgennemsnit for fossilt CO_2 må ▶

højst være 7,5% på 95% konfidensniveau. Det stiller store krav til de målinger, der indgår i beregningen af årsgennemsnittet – herunder målingen af den fossile andel af CO_2.

Den samlede usikkerhed for den årlige emission af fossilt CO_2 fra affaldsanlæggene beregnes efter (III) med udgangspunkt i (IV):

$$U(E, fCO_2) = \sqrt{U(fCO_2)^2 + U(totCO_2)^2 + U(Qrøggas)^2} \quad \text{(III)}$$

$$E, fCO_2 = fCO_2[\%] * totCO_2 * Q(røggas) \quad \text{(IV)}$$

Hvor:

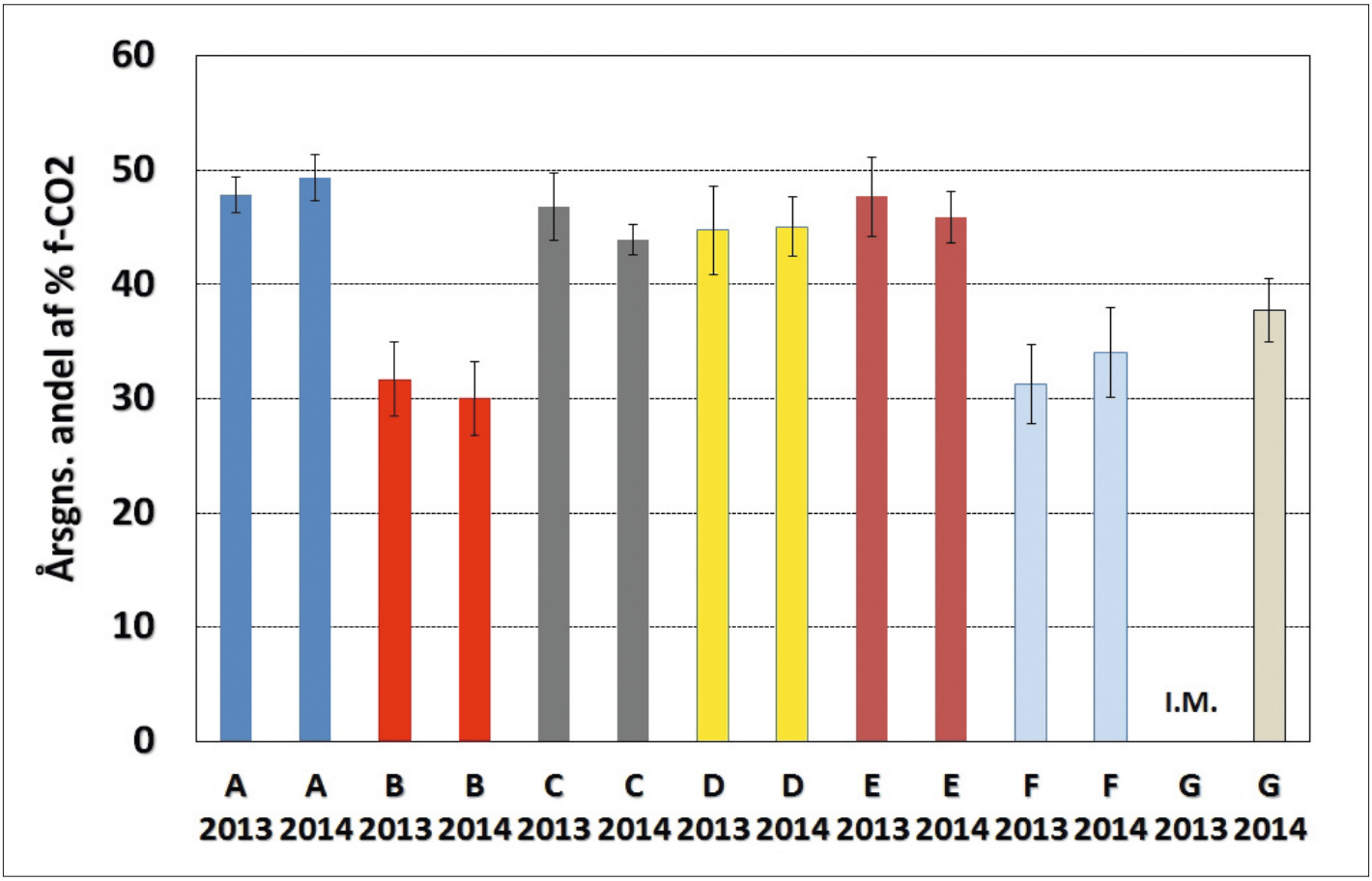
E,fCO$_2$ = den beregnede, årlige emission af fossilt CO_2.
fCO$_2$ = den gennemsnitlige, fossile andel af CO_2, der emitteres på årsbasis.
totCO$_2$ = den gennemsnitlige årlige emissionskoncentration CO_2.
Q(røggas) = det samlede røggasvolumen emitteret over året.

referenceværdien pmC_{ref} jf. den usikkerhedsvurdering, der er foretaget af Mohn et al. [4]. Samtidig er der i tabel 1 foretaget et beregningseksempel, der viser den samlede usikkerhed på en årsopgørelse bestemt ved 12 månedsprøver. I denne forbindelse er usikkerheden på bestemmelsen af årsmiddelværdien for *totCO*$_2$ og *Q(røggas)* hver estimeret til at være ±3%.

Regneeksemplet i tabel 1 viser, at det er muligt med kulstof-14 metoden at imødekomme CO_2-kvotelovens krav om max. 7,5% usikkerhed på 95% konfidensniveau på årsgennemsnittet for fossilt CO_2.

Resultater fra danske affaldsforbrændingsanlæg

Metoden har siden januar 2013 været anvendt på en række danske og svenske affaldsforbrændingsanlæg med det formål at måle den årlige emission af fossilt CO_2 i henhold til CO_2-kvoteloven. Fra januar 2015 udfører FORCE Technology måling vha. kulstof-14-metoden for i alt fem danske og fire svenske affaldsforbrændingsanlæg, hvilket svarer til i alt 17 ovnlinjer. Figur 3 viser de målte årsgennemsnit, beregnet ud fra de månedlige resultater fra syv danske ovnlinjer.



Figur 3. Årsgennemsnit for den målte andel af fossilt CO_2 i 2013 og 2014 for emissionen fra i alt syv ovnlinjer (benævnt A-G) fordelt på fire danske affaldsforbrændingsanlæg. Gennemsnittet er bestemt ud fra månedlige målinger med kulstof-14-metoden på de enkelte ovnlinjer. Årsgennemsnittene for 2014 er foreløbige estimater, idet de er beregnet ud fra resultater fra årets første 10 måneder (januar-oktober 2014). De viste standardafvigelser illustrerer afvigelsen fra måned til måned inden for de enkelte år. "I.M": Ikke målt i 2013.

Parametrene *totCO*$_2$ og *Q(røggas)* bestemmes typisk af anlæggenes egne målere. I tabel 1 er et usikkerhedsbudget for målemetoden opsummeret. Usikkerhedsbudgettet for bestemmelsen af andelen af biogent hhv. fossilt CO_2 baserer sig på gentagne målinger med kulstof-14-metoden på prøver med et indhold svarende til 38% fossilt CO_2. Den samlede måleusikkerhed på resultatet af én månedsprøve beregnes på denne måde til ±3%. I denne beregning indgår samtlige usikkerheder ved prøvetagning og analyse – herunder også usikkerheden på

Det fremgår af figur 3, at der forekommer ret store variationer i den fossile andel af CO_2. Forskellen er størst fra anlæg til anlæg, hvorimod variationen imellem flere ovnlinjer på samme anlæg typisk er væsentligt mindre. Det antages, at forskellene fra anlæg til anlæg skyldes forskelle i affaldssammensætningen. Indholdet af fossilt materiale i industriaffald kan således variere fra anlæg til anlæg og over tid, og nogle anlæg modtager desuden affald fra udlandet med et varierende indhold af fossilt materiale.

Tabel 1. Beregnet usikkerhed på årsgennemsnittet af 12 månedsprøver, gældende for et niveau af fossilt CO_2 på 38%, svarende til det gennemsnitlige indhold i røggas fra danske affaldsforbrændingsanlæg. Det antages, at den totale CO_2-koncentration i røggassen og røggasflowet, kan måles med en relativ usikkerhed på ±3,0%. Alle usikkerheder er beregnet på 95% konfidensniveau.

	Enhed	Usikkerhed på f-CO2 måling med kulstof-14 metoden
U bCO2 = U fCO2 (2xSD ved 1 prøve)	**pmC**	**± 3,0**
U bCO2 = U fCO2 (2xSD ved 12 prøver)	**pmC**	± 0,9
gældende for b-CO2 niveau	**pmC**	61,7
svarende til f-CO2 niveau	**%-fCO2**	38,3
2xRSD f-CO2 (for gns. af 12 prøver)	**% relativ**	**± 2,3**
2xRSD totCO2 (for gns. af 12 prøver)	**% relativ**	± 3,0
2xRSD Q(røggas) (for gns. af 12 prøver)	**% relativ**	± 3,0
U(E,fCO$_2$) (2xRSD) (for gns. af 12 prøver)	**% relativ**	**± 4,8**

Konklusion

Kulstof-14-metoden efter EN ISO 13833 har vist sig at være særdeles driftssikker og pålidelig til måling af fossilt og biogent CO_2 i røggas fra affaldsforbrændingsanlæg. Det er med metoden muligt at imødekomme CO_2-kvotelovens krav om max. 7,5% usikkerhed på 95% konfidensniveau på årsgennemsnittet for fossilt CO_2. Metodens store fordel er, at den er sporbar og kan udføres akkrediteret. Desuden er driften af kulstof-14-målingerne uafhængig af anlæggenes egne målere, og kulstof-14-metoden stiller dermed ingen ekstra krav til driften og kvaliteten af anlægsmålerne.

E-mail:
Karsten Fuglsang: kfu@force.dk

Referencer

1. Fuglsang, K., Pedersen, N.H., Larsen, A.W. og Astrup, T. (2014). Long-term sampling of CO_2 from waste-to-energy plants: 14C determination methodology, data variation and uncertainty. Waste Management & Research, Vol. 32(2) 115–123.
2. CEN/TR 15591 (2007). Solid recovered fuels – Determination of the biomass content based on the 14C method.
3. ASTM D6866 - 11 Standard Test Methods for Determining the Biobased Content of Solid, Liquid, and Gaseous Samples Using Radiocarbon Analysis.
4. Mohn J, Szidat S, Fellner J, Rechberger H, Quartier R, Buchman B and Emmenegger L (2008) Determination of biogenic and fossil CO_2 emitted by waste incineration based on $14CO_2$ and mass balances. Bioresource Technology 99: 6471–6479.
5. Astrup, T. Larsen, A.W., Fuglsang, K. Pedersen, N.H. (2012). Biogent og fossilt kulstof i brændbart affald i Danmark. Rapport PSO-0213 til Energinet.dk.

Nyt om …

… Mus og kartoffelvand

Når mus holdes på en fedt- og kulhydratrig kost, øger de vægten og bliver overvægtige med tendens til diabetes 2. Når de, samtidig med den fede kost, også får udtræk af kartofler, tager de langt mindre på. Det er modsat forventningerne, da kartofler har et højt kalorieindhold.

I løbet af 10 uger tager 25 g's mus i gennemsnit 16 g på, når de spiser den fedt- og kulhydratrige kost. De 25 g's mus, der kombineret med denne kost, også får kartoffeludtræk, tager derimod kun 7 g på. Den daglige dosis kartoffeludtræk kommer fra 30 g kartofler, og de aktive komponenter menes at være polyphenoler. Selv om mus og mennesker har sammenligneligt stofskifte, skal kliniske studier afgøre, om metoden også er anvendelig til mennesker.

Carsten Christophersen

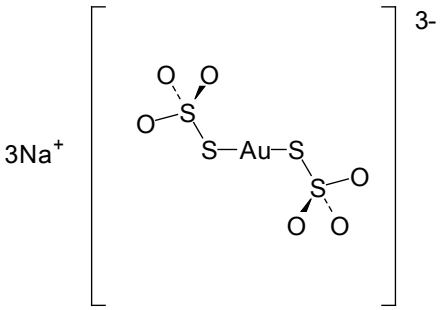
Extract of Irish potatoes (*Solanum tuberosum L.*) decreases body weight gain and adiposity and improves glucose control in the mouse model of diet-induced obesity. S. Kubow *et al. Molecular Nutrition & Food Research*, November 2014. DOI: 10.1002/mnfr.201400013.

Guldeventyret på Blegdamsvej – Sanocrysin

Bortset fra anvendelsen af en række platin aminplatin-komplekser mod cancer har kun få ædelmetalforbindelser fundet vej til medicinen, når man ser bort fra sanocrysin.[1,2]

Af Carl Th. Pedersen, Institut for Fysik, Kemi og Farmaci, SDU

Sanocrysin af (lat. *sanus* sund og gr. *chrysos* guld) er trinatriumbis(thiosulfato)aurat(1), $Na_3[Au(S_2O_3)_2]$. Det kan fremstilles ved simpelthen at tilsætte en opløsning af guld(III) chlorid til en opløsning af natriumthiosulfat. Det blev indført i behandlingen af tuberkulose af den danske fysiolog Holger Christian Møllgaard i 1931. Møllgaard var professor i fysiologi ved Landbohøjskolens Landøkonomiske Forsøgslaboratorium.



Sanocrysin

Starten på guldeventyret

En ung cand.polyt. Einar Keiding blev i 1922 ansat som assistent hos Møllgaard på et hemmelighedsfuldt projekt med guldpræparatet Sanocrysin. Der var i den medicinske verden på den tid en opfattelse af, at små mængder af metalioner i organismen kunne have en virkning mod bakterieinfektioner. Møllgaard havde påvist, at kaliumguldcyanid, kaliumdicyanidoaurat(I) in vitro virkede mod tuberkulosebakterier. Tuberkulose var dengang et alvorligt sundhedsproblem. Møllgaard ville på dette grundlag udvikle Sanocrysin som et middel mod tuberkulose, og han gennemførte en række succesrige forsøg med kalve.

Ferrosan

I 1920 stiftedes det danske medicinalselskab Ferrosan A/S [3]. Det skulle fremstille et jernpræparat, der også hed Ferrosan. Selskabet fik Herman Weitzmann som bestyrelsesformand. Han havde med stor succes været direktør for Malmø Kaffekompagni. Jernpræparatet Ferrosan var hidtil blevet fremstillet i det svenske AB Ferrosans regi under ledelse af Johannes Keiding, en bror til Einar Keiding. Denne produktion blev under Johannes Keidings ledelse overført til Ferrosan A/S, og præparatet blev omdøbt til Idozan.

Einar Keiding gik nu til Weitzmann og fortalte om Møllgaards Sanocrysin-projekt. Weitzmann blev stærkt begejstret

Professor Møllgaards laboratorium hos Ferrosan på Blegdamsvej. *(H.O. Loldrup, Dansk Medicin*).

Ferrosans gård, Blegdamsvej 72, *(H.O. Loldrup, Dansk Medicin)*.

og så store forretningsmuligheder i Sanocrysinet. Derfor blev selskabet Dansk Chemo-Therapeutisk Selskab dannet. Brødrene Keiding blev tekniske ledere og fik ansvaret for udviklingen af Sanocrysinprojektet. Møllgaard fik total beslutningsret i firmaet.

Eventyret på Blegdamsvejs start og endeligt

Man lejede sig ind i en ejendom på Blegdamsvej 72, hvor der blev indrettet en lægemiddelfabrik baseret på et forventet årligt salg af 4.000 kg Sanocrysin. Weitzmann omtalte begejstret projektet overfor alle som et kommende millionforetagende.

Møllgaard mente, at Sanocrysin-behandlingen mod tuberkulose skulle suppleres med en behandling med serum, hvorfor man købte en ejendom på Amager, hvor 100-200 kalve skulle producere det nødvendige serum. Det viste sig imidlertid, at Møllgaards serumteori var fejlagtig, og serumproduktionen på Amager måtte afvikles med et tab på 300.000 kr.

Da salget af Sanocrysin kun blev til en brøkdel af det, fabrikken på Blegdamsvej var projekteret til, var der ikke megen dækning for de 1.300.000 kr. - svarer til ca. 36 mio. kr. i 2014-priser - der var investeret i fabrikationen på Blegdamsvej. Hertil kom tabet på Amagerprojektet, som svarer til ca. 8 mio. kr.

Sanocrysinet viste sig kun at have virkning mod nogle bestemte former for tuberkulose, og salget stabiliserede sig på et langt lavere niveau end projekteret. I 1940 fik salget en opblomstring på grund af den såkaldte guldkur mod leddegigt.

Og sådan endte, som så mange andre guldeventyr, guldeventyret på Blegdamsvej som en fiasko for Weitzmanns drøm om et millioneventyr med Sanocrysin.

E-mail:
Carl Th. Pedersen: chp@sdu.dk

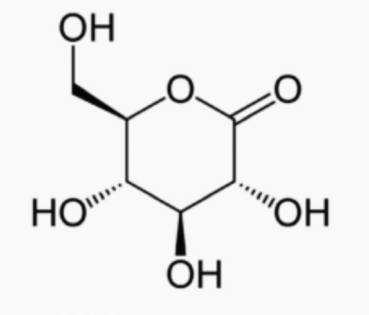
Referencer
1. C. Th. Pedersen, Dansk Kemi, 93 (9), 2012, side 52.
2. A. M. Thayer, Chemical & Engineering News, June 2010, side 24.
3. H.-O. Loldrup, Dansk Medicin, Loldrups Forlag, 2014, side 147.

Hjemmelavede spegepølser

Af Jens Folke

En spegepølse er en ikke-varmebehandlet pølse af råt kød og evt. spæk, samt krydderier, som alt sammen modner gennem en kontrolleret fermenteringsproces. Spegepølser er på mange måder en modsætning til pølser med bindefars, som jeg skrev om i sidste nummer af Dansk Kemi, se tabel 1.

De bedste spegepølser fremstilles ved en fermentering af den rå fars; de ringeste pølser modnes blot med en færdig GDL-blanding, figur 1 og 2, hvilket giver et ensartet industriprodukt svarende til de hurtigmodnede eddikesyre-sild. Fermenteringen er en spændende proces, som tidligere har været behandlet i Dansk Kemi [1].



Figur 1. Gluconsyre-δ-lacton (GDL).

Jeg har selv lært en del om spegepølser på kurser afholdt af 5. generationsslagteren "Anders Pølsemager" [2] fra Selvforsyningsskolen i Fjerritslev (vi diskuterer lige nu anvendeligheden af Sous Vide til brug som klimakammer), og jeg er da også blevet så sikker på området, at jeg selv afholder kurser i regi af LOF i Holbæk, og diskuterer kokkeri på Facebook (Folke's Køkken).

Den indledende fermentering kan startes i en 8% saltlage, hvor spegepølsen ligger i køleskabet i ca. 7-14 dage afhængig af tykkelse, tarm, skivestørrelse på hakkeren m.m. Dette er den letteste metode for amatører. Den kan også foregå i et klimaskab ved ca. 18°C og 95% fugtighed, hvilket giver finere aromaer.

Grundlæggende er metoden:
(1) at kød og evt. nakkespæk hakkes på et 3-6 mm jern og (2) herefter tilsættes natriumchlorid, natriumnitrit (E250)/-nitrat (E251) og evt. natrium-/calciumascorbat (E 301, E 302), samt (3) krydderier efter smag og (4) evt. sukker og starterkultur. Dernæst (5) blandes farsen grundigt og stoppes i en tarm af cellulose eller naturtarme fra gris, okse eller andre dyr, før den (6) fermenterer, som allerede nævnt, (7) evt. koldryges eller inokuleres med en skimmelkultur og (8) eftermodner ved lavere temperaturer, indtil den er klar til brug.

Frihedsgraderne på de otte ovenstående trin er selvsagt tæt på det uendelige, og der findes da også et utal af opskrifter. Trin 1-5 kan laves på samme dag, mens trin 6-8 let tager uger eller måneder at gennemføre.

Figur 2. GDL-opskrift på "Sønderjysk".

GDL-metoden

Med GDL-metoden kan industrien have en spegepølse klar på en uges tid, og kvaliteten af råvarerne spiller næsten ingen rolle – man kan sagtens anvende kød efter sidste salgsdato. Man får et ensartet industriprodukt hver gang, så det er ikke så interessant for Køkkenkemisten at lave mere end én gang. Produktet syrnes med citronsyre, og derudover tilsættes (Indasia (Sønderjysk): Dextrose, GDL (E575), peber, koriander, chili, ingefær, hydrolyseret protein, antioxidanter (E300 & E330)).

Klimakammermetoden

Med klimakammermetoden kræves meget kontrollerede forhold, eller en dygtig håndværker, som kan føle på pølsen, om den udvikles, som den skal. Skal den lige vaskes i koldt vand på ydersiden, skal den have nogle ekstra timers røg osv. Ved hjemmefermentering er det tilrådeligt kun at eftermodne spegepølser udendørs i måneder, der indeholder bogstavet "r", af hensyn til temperaturreguleringen. Et klimaskab står ikke lige på de

Friskstoppede spegepølser, klar til "klimakammeret" Sous Vide (18°C).

flestes budget, men måske et vinskab kan ombygges til fugtighedsstyring? Eller måske har nogen af jer andre ideer?

Selv er jeg netop startet på mine første "klimakammerfermenterede" pølser, idet jeg har brugt min Sous Vide som "klimakammer". De stoppede pølser blev lagt i en vakuumplastpose, dog med luft i for at holde på fugtigheden, og derefter lagt i Sous Viden ved 18°C, hvor de modnede i en uges tid. Jeg kommer tilbage med resultaterne senere.

Lagemetoden

Lagemetoden er mere sikker for amatører, men stadig spændende.

Opskrift på min lagemodnede spegepølse

Ingredienser:

- 450 g svinekød
- 450 g kalvekød
- 450 g svinekæber
- 150 g rygspæk hakket til 2 mm
- 10 g fint salt
- 22,5 g nitritsalt
- evt. 500 mg natrium-ascorbat (herom senere)
- 1 tsk. sukker og ¼ dl kærnemælk som starterkultur

Krydderier til "sønderjysk":

- 8 g sort peber
- 8 g sennepsfrø
- 8 g madagaskarpeber
- Rom eller cognac

Krydderier til "ungarsk":

- 10 g spidskommen
- 25 g paprika
- 10 g stærk paprika
- 10 g hvidløgspulver

Fremgangsmåde

1. Grundig rengøring af køkkenremedier og omhyggelig vask af hænder!
2. Skalfrosset kød hakkes på 6 mm skive, og det hele blandes godt og stilles på frys igen ½ times tid.
3. Farsen stoppes meget fast i cellulosetarme.
4. Lægges i saltlage i syv dage i køleskab (80 g/l, heraf 15 g nitritsalt/l).
5. Tørres ved høj fugtighed i 3-4 dage.
6. Koldrøges derefter i intervaller fra et par timer og stigende over 5-8 dage, indtil de har fået 20-30 timers røg.
7. Hænger til yderligere eftermodning i mindst 2-3 uger, før de er klar til brug – pølserne på figur 3 er 3-4 mdr. gamle.

E-mail:
Jens Folke: jens.folke@lean6sigma.eu

Referencer
1. Pelle Thonning Olesen: "Stafylokokker og aromadannelse i spegepølse", Dansk Kemi, 84, Nr. 5, s. 28-30.
2. Anders Pølsemager: https://klardigselv.wordpress.com.

Tabel 1. Forskelle og ligheder mellem spegepølser og bindefarspølser:

Spegepølser	**Pølser med bindefars**
Kød fra ældre, modne dyr (> 8 mdr.)	Frisk kød
Gerne modnet nogle dage i køleskab	Gerne varmt endnu
Bagender med mørkt kød	Bov
Ekstrem hygiejne	God hygiejne
Nitritsalt nærmest en nødvendighed, da kødet ikke er varmebehandlet	Med meget god hygiejne kan nitritsalt undværes
Kødet skæres i rene snit	Pølsen skoldes til 72°C kernetemperatur
Pølserne skal fermenteres (modnes)	Kødet til en laves til mousse (bindefars)
	Pølserne vinder ikke ved lagring

Figur 3. To slags spegepølser lavet i saltlage i køleskab (tre mdr. gamle).

Rotary Evaporator

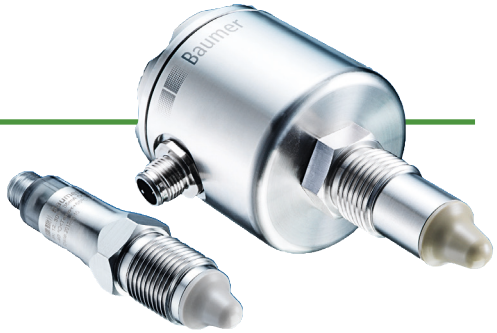
Organic chemists at the University of Oxford are benefitting from the recent acquisition of an RC900 Rotary Evaporator from KNF Lab. As one of the UK's premier academic centres for research into organic chemistry, the Chemistry Research Laboratory is engaged in a range of organic synthesis projects. Rotary evaporators are essential for this work, and the RC900 Rotary Evaporator, launched at Analytica in April this year, is a key addition to the laboratory. Charlotte Zammit, a D.Phil. student working in the laboratory's Steve Davies Group, explained:

- As a chemist involved in organic synthesis, I frequently use rotary evaporators. They are one of the most commonly used pieces of equipment in the laboratory, and are always in demand.

- We have had the RC900 Rotary Evaporator for a few months now, and I find it really easy to use. The system is designed to make attaching and detaching the round bottom flask simple, with a clip-on facility to avoid putting any strain on the glassware. It also has a number of automatic features which are really useful; functions such as the pressure that have to be set manually on other systems can be set automatically on the RC900, which is a nice touch.

Yderligere information:
KNF Neuberger GmbH
Tlf. +49 7664 5909-0
E-mail: info@knf.de
www.knf.de

UL-registrering af CleverLevel LBFS/LFFS level switch



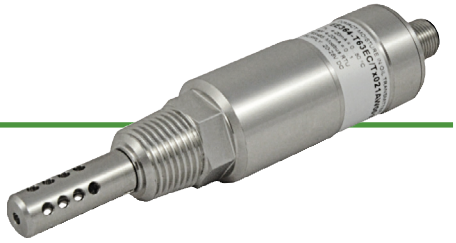
CleverLevel LBFS/LFFS level switch fra Baumer er nu registreret hos The American Underwriters Laboratories Inc (UL). Testene, som blev udført på CleverLevel, inkluderede adskillige sikkerhedsrelaterede aspekter i henhold til UL's krav og standarder. Med registreringen kan level switchen nu anvendes på vigtige internationale markeder, særligt i USA.

Med CleverLevel LFFD/LBFS-serien tilbyder virksomheden en level switch, der er en ægte all-rounder. Den kan bruges til praktisk talt alle medier, så som væsker, granulater og selv elektrostatiske medier. Den er også upåvirket af klæbende substanser og skum, som kan forårsage fejl ved brug af andre teknologier.

Den detekterer niveau i tanke og rør med præcision og en svartid på mindre end 100 ms og forhindrer derved, at pumper løber tør. Den er også i stand til at kende forskel på forskellige medier, så som vand og olie.

Yderligere information:
Baumer A/S
Tlf. 89 31 76 11
www.baumer.com/cleverlevel

Vand-i-olie-transmitter



Hans Buch præsenterer EE364, en avanceret vand-i-olie-transmitter, der er velegnet til OEM-applikationer. Med høj målenøjagtighed og langtidsstabilitet er EE364 velegnet til online overvågning af vandindhold i transformer-, smøre- og hydraulikolie samt dieselolie.

Med sit kompakte design og robuste hus af rustfrit stål er pladsbehovet i de mest krævende applikationer særdeles begrænset. Transmitteren måler vandaktivitet (aw), olietemperatur (t) og beregner absolut vandindhold (x) i ppm. De målte værdier kan fås på to 4-20 mA-udgange og en digital udgang med MODBUS RTU-interface.

De analoge udgange kan skaleres og konfigureres individuelt med et konverterkabel (ekstraudstyr) og den gratis EE-PCS konfigurationssoftware. Procestilslutning sker med ½" ISO eller ½" NPT gevind. Transmitteren er beregnet for tryk op til 20 bar.

Yderligere information:
Hans Buch A/S
Flemming Bøge
Tlf. 43 68 52 36

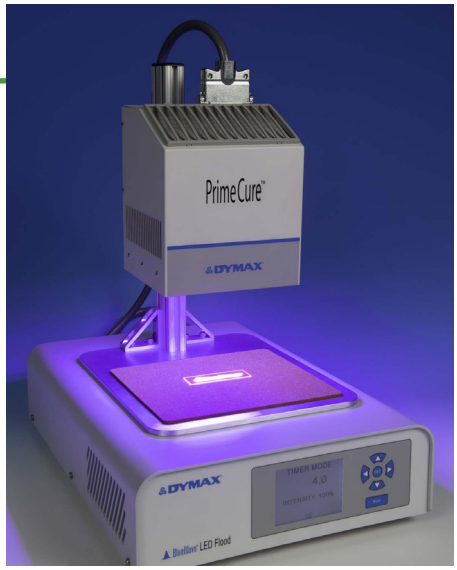
Rapid and reliable detection of dissolved gases in water

Thermo Fisher Scientific has developed a simple, reliable and robust method for detecting dissolved gases in water using a gas chromatograph equipped with an autosampler and an electron flame ionization detector (FID). Application Note 10405: *Rapid and Reliable Detection of Dissolved Gases in Water* demonstrates the power of this method to detect various levels of dissolved gases in water samples, making it an excellent option for testing possible impacts of hydraulic fracturing on the environment.

Hydraulic fracturing, or fracking, is a well-stimulation technique in which water is typically mixed with sand and chemicals and injected at high pressure into a wellbore to create small fractures to maximize oil or natural gas extraction. However, the gases liberated by fracking may contaminate water reservoirs and have become a controversial environmental and health matter. The U.S. Geological Survey (USGS) has performed several studies on the quality of well water in states where hydraulic fracturing is used.

Yderligere information:
Thermo Fisher Scientific
Sonya Pelia
Tlf.: +1 408 481 4172
E-mail: sonya.pelia@thermofisher.com

Nyt LED-hærdesystem



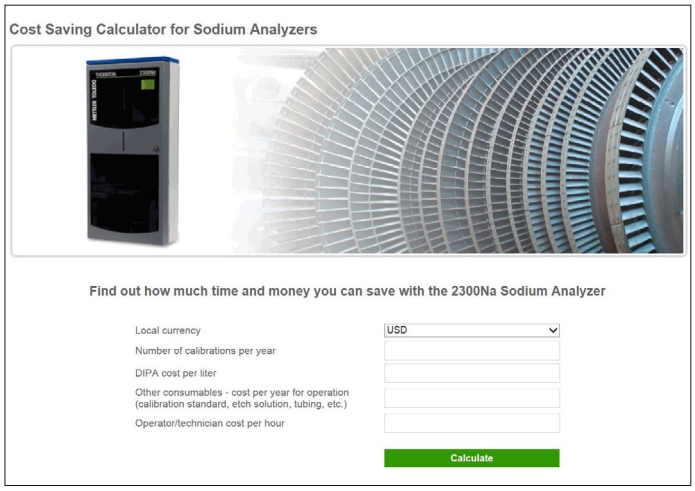
Diatom præsenterer BlueWave LED Flood System, et nyt LED-hærdesystem fra Dymax, der er udviklet til applikationer, der kræver en intensiv LED-bestråling over et stort område. Den konstant høje intensitet giver mulighed for en ensartet hærdning, kortere hærdetider og høj repeterbarhed. Hærdesystemet egner sig til industrielle applikationer i bl.a. den elektroniske, optiske og medicinske sektor.

Hærdesystemet fås i bølgelængder på 365, 385 og 405 nm og har et hærdeområde på 127 x 127 mm. LED-teknologien muliggør øjeblikkelig on/off-funktionalitet, eliminerer behovet for opvarmningstid, sikrer kortere cyklustider, lavere vedligeholdelsesomkostninger og energiforbrug samt koldere hærdetemperaturer.

Systemet har en brugervenlig betjening, og det kan integreres i eksisterende samlebåndsproduktioner eller bruges som stand-alone. Hærdesystemet er CE-certificeret og RoHS kompatibelt.

Yderligere information:
Diatom A/S
Andreas Gerbaulet
Tlf. 36 77 36 00
E-mail: ag@diatom.dk

Cost Calculator for Sodium Analyzers



Mettler Toledo Process Analytics Division has announced the release of a cost calculator to compare different sodium analyzer types.

Sodium contamination monitoring in high purity water is essential across a variety of applications and industries. When evaluating analyzers that meet this monitoring need, it is important to consider the annual operating cost and not just the capital cost of the instrument. With better technology, automation, and the more reliable components being used today, a well-maintained analyzer is expected to last 10 years or more. This makes the annual operating cost, which accounts for the consumables and cost of labor to maintain the analyzer, very important. The consumables and labor cost will be a substantial investment over the life of the analyzer, sometimes exceeding the actual cost of the analyzer itself.

The cost calculator takes all these factors into account and offers you the true annual operating cost of an analyzer in a variety of currencies. It offers comprehensive information that allows for a more informed decision on analyzer selection.

The sodium analyzer cost calculator is available at www.mt.com/sodium-calc.

Yderligere information
Media Contact:
Robyn Mellish
Tlf. +1-781-301-8811
E-mail: robyn.mellish@mt.com

Industrial Valve

Flowrox is launching a new slurry knife gate product designed to enhance current pipeline equipment and processes using enhanced technology for fluid control.

The new SKW valve - Slurry Knife Wafer - was developed for use in the Oil & Gas, Mining, Minerals and Metallurgy, Power and Waste Water industries, where abrasive or corrosive slurries, powders or coarse substances are processed.

The main benefit to the full-bore design is that the valve itself becomes an integral part of the pipe and allows it to process the same fluids in the harshest of conditions. It is designed as a full port fluid control device that allows a more efficient process, requiring less pumping energy to operate.

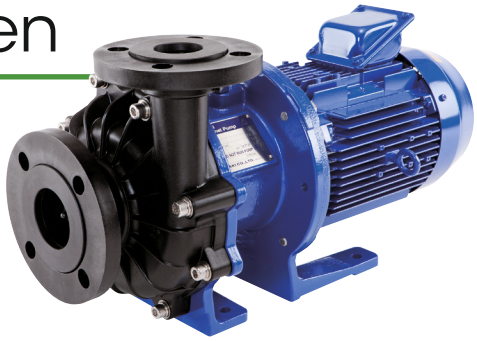
It incorporates smart manufacturing techniques and incorporates a cast single-piece body, which eliminates any potential leak paths from the body and offers a versatile tower construction that will accept manual, electric, hydraulic or pneumatic forms of actuation.

Flowrox's SKW valve offers proprietary and innovative sleeves with load distribution rings incorporated within, along with the most robust valve structure in the industry.

An added benefit is that when in the "open position" the SKW valve's rubber ring sleeves are the only parts in contact with the medium as a way to reduce any potential corrosion or deterioration due to wear-and-tear, even when processing the most abrasive slurries.

Yderligere information:
Flowrox
Molly Bragg
Tlf. +1 (410) 636-2250
E-mail: molly.bragg@flowrox.com

Ny pumpeserie øger kapaciteten



Iwaki præsenterer MX pumpeserien (en serie af magnetdrevne centrifugalpumper i PP), der netop er udvidet med en større model, kaldet MX505. Den nye pumpe øger kapaciteten for pumpeserien fra 500 til 800 liter pr. minut og har en løftehøjde på max. 24,5 meter.

Pumpeserien udmærker sig med:
- lang levetid.
- klarer ekstreme driftsforhold.
- "Non-Contact-system", hvorved friktionsvarme undgås ved tørkørsel.
- specialkonstruktion til afkøling af spindel og leje.
- Vortex-kammer, der forbedrer pumpens effektivitet.

Tekniske data (50 Hz):
- Max. Flow: 800 l/min.
- Materiale: CFRPP.
- Max. løftehøjde: 24,5 m.
- Motoreffekt: 3,7 kW.
- Væsketemperatur: 0-80°C.
- Ingen akseltætning.

Yderligere information:
Iwaki Nordic A/S
Tlf. 48 24 23 45
E-mail: info@iwaki.dk

Væskesugningssystem

Mikrolab Aarhus A/S præsenterer Lafil 100 fra Rocker Scientific. Lafil 100 er et væskesugningssystem til fjernelse af medie fra cellekulturer, vaskeopløsninger fra mikrotiterplader og supernatanter efter centrifugering. Systemets kompakte størrelse og indbyggede vakuumpumpe samt 500 ml GL45 opsamlingsflaske gør det nemt og praktisk at anvende i LAF bænke.

Systemet kan også vha. et udvalg af valgfri filterenheder anvendes til filtrering af buffere, forberedelse af cellekulturmedie og meget andet.

Lafil 100 har indbygget Rocker Scientifics BioSuction tilbehør, der med sit ergonomiske greb og smarte låseknap både tillader kortvarigt og kontinuerligt sug uden behov for gentagen aktivering af knapper. Det innovative design af 8-kanals adapteren tillader afskydning af pipettespidser og sikrer praktisk énhåndsbetjening.

Systemet er velegnet til cellearbejde, væskesug og filtrering på steder, hvor man ikke umiddelbart har vakuum installeret, eller hvis man ønsker øget fleksibilitet i sit laboratorium.

Se en video-demonstration ved at benytte viste QR-kode.

Yderligere information:
Mikrolab Aarhus A/S
Tlf. 86 29 61 11
E-mail: ml@mikrolab.dk

Leverandørregister

Analyse

E

Elektronmikroskoper

DFA A/S/NIKON
Produktionsvej 26
2600 Glostrup
Tlf. 72 48 84 31 - Fax 72 48 84 33
ak@dfa.dk
www.dfa.dk

F

Fermentering og cellekultur-udstyr

Svanholm.com
Nordisk Pharma
og Analyzer Center
Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33
mail@svanholm.com
www.svanholm.com
Nordens største sensor og analyzer udvalg til lab, pilot og proces

FTIR-udstyr

Bruker Optics Scandinavia AB
Vallgatan 5
SE-17067 Solna
Tlf. +46 8 655 25 30 -
Fax +46 8 655 25 99
www.bruker.com

G

Gasdetektorer

Dräger Safety Danmark A/S
Lyskær 9
2730 Herlev
Tlf. 44 50 00 00 - Fax 44 50 00 01
draeger-safety.dk@draeger.com
www.draeger.dk

Gasser

AGA A/S
Vermlandsgade 55
2300 København S
Tlf. 32 83 66 00 - Fax 32 83 66 01
www.aga.dk
Specialgasser

L

Laboratoriearmaturer

BROEN LAB DIVISION
Skovvej 30
5610 Assens
Tlf. 64 71 20 95 - Fax 64 71 24 76
lab@broen.com
www.broen.com

M

Massespektrometre, proces

Svanholm.com
Nordisk Pharma
og Analyzer Center
Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33
mail@svanholm.com
www.svanholm.com
Svanholm.com er distributør af Thermo Scientific proces MS

Massespektrometre

Bruker Daltonics Scandinavia AB
Vallgatan 5
SE-17067 Solna
Tlf. +45 20 21 54 44 -
Fax +45 47 31 74 44
www.bruker.com

Svanholm.com
Nordisk Pharma
og Analyzer Center
Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33
mail@svanholm.com
www.svanholm.com
MS til styring af fermentering og farmaceutisk pulvertørring

Mikrobiologi, udstyr t.

Bruker Daltonics Scandinavia AB
Vallgatan 5
SE-170 67 Solna
Tlf. +45 20 58 68 66 -
Fax +46 8 655 25 99
karina.petersen@bruker.com
www.bruker.com

Mikroskoper

DFA A/S/NIKON
Produktionsvej 26
2600 Glostrup
Tlf. 72 48 84 31 - Fax 72 48 84 33
ak@dfa.dk
www.dfa.dk

N

NIR-analyse/-udstyr

Bruker Optics Scandinavia AB
Vallgatan 5
SE-17067 Solna
Tlf. +46 8 655 25 30 -
Fax +46 8 655 25 99
www.bruker.com

Svanholm.com
Nordisk Pharma
og Analyzer Center
Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33
mail@svanholm.com
www.svanholm.com
NIR til QbD og PAT ved pulvertørring, tablet-produktion og fermentering

NMR-analyseudstyr

Bruker BioSpin Scandinavia AB
Vallgatan 5
SE-17067 Solna
Tlf. +46 8 655 25 10 -
Fax +46 8 655 25 99
www.bruker.com

O

Opvaskemaskiner

KEN A/S
Bøgebjergvej 60, Brobyværk
5672 Broby
Tlf. 62 63 10 91
www.ken.dk

Miele A/S PROFESSIONAL
Erhvervsvej 2
2600 Glostrup
Tlf. 43 27 11 00 - Fax 43 27 15 09
professional@miele.dk
www.miele.dk

R

RAMAN-udstyr

Svanholm.com
Nordisk Pharma
og Analyzer Center
Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33
mail@svanholm.com
www.svanholm.com
Råvare-identifikation og onlinemåling i R&D og GMP

Leverandørregister

Produktion

E

Etikettering

LSS Etikettering A/S
Normansvej 8
8920 Randers NV
Tlf. 70 20 25 00 - Fax 70 20 10 44
info@lss-dk.com
www.lss-dk.com

F

Faremærkning

Pekema A/S
Dam Holme 14-16
3660 Stenløse
Tlf. 44 92 62 00
pekema@pekema.dk
www.pekema.dk
www.barsafe.dk
Software til CLP mærkning, printere og etiketter.
Vi er specialister i produktmærkning.

V

Vægte

CBH Vægte aps
Vonsildvej 207
6000 Kolding
Tlf. 75 56 73 10 - Fax 75 56 73 20
info@cbh-vaegte.dk
www.cbh-vaegte.dk

Å

Åndedrætsværn

Dräger Safety Danmark A/S
Lyskær 9
2730 Herlev
Tlf. 44 50 00 00 - Fax 44 50 00 01
draeger-safety.dk@draeger.com
www.draeger.dk

Service & miljø

M

Miljøbeskyttelse og sikkerhed

Dansk Polyglas A/S
Industrivej 12
5672 Broby
Tlf. 62 64 12 00
www.polyglas.dk
Glasfiberarmerede miljøbokse til krævende miljøer

P

Patenter

Chas. Hude A/S
H.C. Andersens Boulevard 33
1780 København V
Tlf. 33 19 34 00 - Fax 33 19 35 00
chashude@chashude.com
www.chashude.dk

LBKPATENT ApS
Ole Maaløes Vej 3
2200 København N
Tlf. 30 50 38 78
lbk@lbkpatent.dk
www.lbkpatent.dk

Software

A

Arbejdspladsbrugs-anvisninger og etiketter

CHYMEIA ApS
Universitetsparken 7
4000 Roskilde
Tlf. 72 40 16 22
info@chymeia.dk
www.chymeia.dk
APB/SDS software med beregning af CLP klassificeringer

Find også dansk kemi her:

www.danskkemi-online.dk

www.facebook.com/UNG.KEMI

Er dit firma ikke allerede med i dansk kemi's leverandørregister, så vær med fra næste nummer!

Priser på optagelse:

Pr. produkt:	Kr.	234,-
Farvelogo:	Kr.	222,-
Ekstra linjer:	Kr.	60,-

Alle priser er pr. stk. pr. udgave ekskl. moms.

Vælg selv det eller de produkter, du ønsker at stå under. Vi opretter gerne et nyt produkt, hvis ikke der er et egnet i forvejen.

Optagelsen løber for et kalenderår ad gangen, men faktureres halvårligt.

Kontakt:
Heidi Thode,
Tlf. 43 24 26 62, direkte
E-mail: ht@techmedia.dk

Eksempel på optagelse i leverandørregistret:

Fagbladsforlag (produktoverskrift) - kr. 234

TechMedia (firmalogo) - kr. 222

TechMedia A/S
Naverland 35
2600 Glostrup
Tlf. 43 24 26 28 - Fax 43 24 26 26
info@techmedia.dk
www.techmedia.dk

Nordens største fagbladsforlag (ekstra linie) - kr. 60

Samlet pris for ovenstående optagelse er kr. 516

Alle priser er pr. stk. pr. udgave ekskl. moms

KEMISK FORENING
Universitetsparken 5
DK-2100 København Ø
www.chemsoc.dk
The Danish Chemical Society
Founded 1879

Dansk Selskab for Historisk Kemi

indbyder til hovedmøde i Kemisk Forening **mandag den 23. marts 2015 kl. 17.15 i auditorium 2, H.C. Ørsted Instituttet**,

hvor dr. scient. Jens Jørgen Led, Kemisk Institut, Københavns Universitet, vil holde et foredrag med titlen NMR-spektroskopiens udvikling fra et epokegørende fysisk fænomen til et alsidigt videnskabeligt værktøj.

Efter mødet er der spisning. De, der ønsker at deltage heri, bedes senest torsdag den 19. marts sende en e-mail til DSHK-sekretæren, Ture Damhus, på adressen tda@novozymes.com, og skrive "Spisning 23/3" i emnefeltet.

Se også DSHK's hjemmeside, www.historisk-kemi.dk.

Mødekalender

10.3.2015	IDA KEMI, Generalforsamling og foredrag, Kemiske våben-udfordringer i felten, kl. 18.45, Ingeniørhuset, Kalvebod Brygge 31, København, se dk 2015 (3).
23.3.2015	Kemisk Forening, Dansk Selskab for Historisk Kemi, Hovedmøde, NMR-spektroskopiens udvikling fra et epokegørende fysisk fænomen til et alsidigt videnskabeligt værktøj, kl. 17.15, H.C. Ørsted Instituttet, Universitetsparken 5, København, se dk 2015 (3).
4.-5. 6. 2015	Kemiingeniørgruppen, 10. Danish Conference on Biotechnology and Molecular Biology, Hotel Munkebjerg, Vejle, se dk 2015 (1/2).

10. Danish Conference on Biotechnology and Molecular Biology

June 4-5, 2015,
Hotel Munkebjerg, Vejle

Stem cells and tissue engineering

Embryonic stem cells (ESC) and induced pluripotent stem cells (iPSC) hold the potential to generate virtually every cell type of our body. Within the last decade the regenerative capacity of adult stem cells have been widely exploited to generate tissues including blood vessels, bone, cartilage and more complex organs such as liver, intestine and heart. Particularly in the field of tissue engineering, research into developing the correct biomaterials and tissue-specific scaffolds have been given a tremendous push forward and with our increased understanding of fundamental stem cell biology, stem cell-based treatments and drug screening of patients is within reach. These translational stem cell activities are essential for realizing the promise of stem cells for future clinical treatments. Research groups at universities and in industry around the world are already pursuing clinical trials based on stem cells. In the present conference we will explore and discuss the most recent developments and high light important clinical potentials as presented by some of the best researchers in this field. The conference will include sessions and presentations on

- Cloning and reprogramming
- Production, banking and upscaling of stem cells for disease modelling
- Stem cells in the treatment of diabetes
- Ethics in stem cell research
- Bioengineering and transplantation
- Tissue engineering and organ design
- Regenerative medicine

The conference will include a poster session covering a broad range of topics on biotechnology as well as a commercial exhibition of equipment, consumables and services to Danish biotechnology.

The conference is organised in collaboration with Danish Stem Cell Society and Danish Society of Biochemistry and Molecular Biology as well as BioPeople

Registration on-line will start December 1, 2014 at www.dascs.dk
Regular fee: 3200 Kr. Reduced fee for Ph.D. and Master Students: 2000 Kr.
Number of participants is limited to 200.
Deadline for poster abstracts and registration: April 1, 2015.

Vendor exhibition contact : Christophe Madsen, e-mail: cpm@dascs.dk, mobile: +45 27 11 31 36.
Secretariat: Birgitte Magnér-Egeberg, IDA Netværkscenter, Kalvebod Brygge 31, DK-1780 Kbh V
Tel.: 33 18 46 46, e-mail: bme@ida.dk.

Danish Biotechnological Society (DBS) / IDA Biotechnology is a scientific society established in 2006 in collaboration between Danish Biotechnology Forum and The Danish Society for Biochemistry and Molecular Biology. DBS is organised as part of The Danish Society of Engineers, IDA. The purpose of DBS is to facilitate networking within the field of biotechnology in Denmark, creating links between universities, research institutions, hospitals and companies. DBS represents professionals working with biotechnology and seeks to promote and communicate important issues on biotechnology, biochemistry and molecular biology to the public. DBS organises scientific conferences and meetings on biotechnology.

Ingeniørforeningen, IDA, Kalvebod Brygge 31-33, 1780 København V
Tlf.: 33 18 46 46, Birgitte Magnér-Egeberg
website: ida.dk, e-mail: bme@ida.dk

Kemiske våben - udfordringer i felten

Tirsdag den 10. marts 2015 kl. 19.30 i Ingeniørhuset, Kalvebod Brygge 31, København V

IDA kemi har bedt Henrik Ambirk om at fortælle, hvilke stoffer det handler om, og hvordan man i praksis detekterer og forsvarer sig mod kemiske kampstoffer, når der er risiko for at blive udsat for den type stoffer.

Major Henrik Alfred M. Ambirk er uddannet som diplomkemiingeniør fra DTU (2007) og som linjeofficer fra Hærens officersskole. Henrik har gennem de sidste mange år i forsvaret og senest i Beredskabsstyrelsen primært beskæftiget sig med forsvaret mod CBRNE-våben (kemiske, biologiske, radiologiske, nukleare og eksplosiver). Henrik Ambirk arbejder i dag med politisk strategisk samtænkning af civile og militære kapaciteter i relation til CBRNE-terrorisme.
Deltagelse er gratis.
Tilmelding på ida.dk – https://ida.dk/event/313692

Inden mødet - kl. 18.45 - er der Generalforsamling i IDA Kemi.

Dagsorden:

1. Valg af dirigent
2. Årsberetning
3. Forelæggelse af det reviderede regnskab til godkendelse og decharge
4. Fremtidigt arbejde i selskabet og budget for løbende år
5. Beretning om IDA's fagtekniske arbejde
6. Indkomne forslag
7. Valg af formand
8. Valg af bestyrelsesmedlemmer
9. Valg af kritisk revisor
10. Eventuelt

On demand – Webinar: Lineært er ikke altid bedst…

Hvis du ikke havde mulighed for at oplevere webinaret den 4. februar, kan du benytte dette On demand webinar foran egen PC.

Har du stået med et datasæt, hvor du var ret sikker på, at der skulle være en sammenhæng, men hvor din analyse ikke kunne vise det? Måske er det fordi, sammenhængen er ulineær. Dette webinar har til formål at vise, hvad du kan gøre derude, hvor PLS giver op.
Vi har inviteret to eksperter: Morten Mørup (DTU) og Rikke Tange (KU), som vil introducere dig til henholdsvis Bayesianske metoder og Support Vector Machines.
Deltagelse er gratis.
Alle tilmeldte vil modtage et link, hvorfra man kommer til sitet, hvor on demand webinaret ligger.
Tilmelding på: https://ida.dk/event/313696.

Ingeniørforeningen, IDA, Kalvebod Brygge 31-33, 1780 København V
Tlf.: 33 18 46 46, Birgitte Magnér-Egeberg
website: ida.dk, e-mail: bme@ida.dk

Afsender: TechMedia A/S, Naverland 35, DK-2600 Glostrup

Changing Microbiology

- Comprehensive Microorganism Library Containing Thousands of Species
- Microorganism Identification within Minutes
- Bench-Top Instrument
- The Market Leading Microbiology Mass Spectrometry System

Visit us at www.bruker.com

BRUKER

Innovation with Integrity

MALDI-TOF

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.