

Dansk Kemi

Nummer 3 - Juni 2025 / 106. årgang

Kemisk Forening - Kemiingeniørgruppen

Spredning af
antibiotikaresistens
via mineraloverflader

AI som redskab
til at forstå
strukturdannelse
i plantebaserede
fødevarer

Landvindinger i
membranteknologi
kan bane vejen
for græs som
proteinkilde

LabDays 2025

- trade fair for laboratory technology



AARHUS

10-11 SEPTEMBER

Intelligent Chemistry Biolab A/S Automation Specialist

Biolab A/S Custom Solutions

Liquid dispensing - Vial handling - Measurement of weight- pH - and a lot more...

JASCO

Advanced Spectroscopic & Purification Solutions

SP Scientific

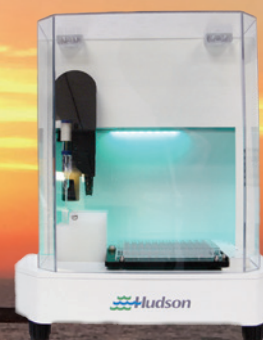
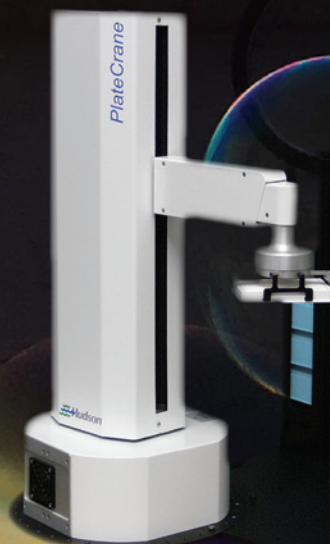
Automated Sample Concentration - Freezedrying

Gilson and Hudson Robotics Inc.

Advanced Automation solutions.

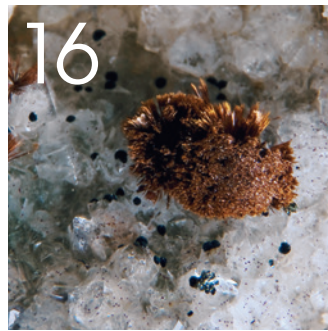
Rheosense - Viscosity on 15ul

Advanced Viscosity profiles



The only limitation is your imagination

Biolab A/S
Sindalsvej 29
DK-8240 Risskov
+45 8621 2866
sales@biolab.dk
www.biolab.dk



1 Forside
Der er teknologiske udfordringer, men samtidig potentiale i græs som proteinkilde.
Læs mere i artiklen side 6.
Foto: Mette Lübeck.

10 Hofmeister - nem at anvende, svær at forstå
Bag om Hofmeisters rækkefølge, der angiver en rangorden af anioner og kationer, efter hvordan de påvirker proteins opløselighed.

13 Nye metoder giver indsigt i plantebaseret strukturdannelse
Afsluttet ph.d.-studie har ved hjælp af AI (maskinlæring) opnået ny indsigt i strukturdannelse under forarbejdning af plantebaserede fødevarer.

16 Antibiotikaresistens i vores naturlige miljøer
Forskning afslører, at antibiotikaresistens kan spredes via binding til mineraloverflader.

20 Enzymet glucoseoxidase
Det er 100 år siden, at Detlev Müller opdagede glucoseoxidase, der sidenhen har spillet en stor rolle i behandlingen af diabetes.

24 Det gyldne mikrobiom: Tarmbakterier som kilde til det essentielle B-vitamin riboflavin
Riboflavin-producerende bakterier synes at kunne spille en vigtig rolle i det komplekse miljø, der findes i tarmen.

27 Vælg bælg
NMR-spektroskopi som redskab til at analysere og karakterisere metabolitter i frø fra bælglplanter, der gerne skulle finde vej til spisebordet.

31 Foreningsnyt

TechMedia

Naverland 35
2600 Glostrup
Telefon 43 24 26 28
info@techmedia.dk
www.techmedia.dk

Ledelse:
Rikke Marott Schelde, CEO

Redaktion:
Professor Hanne Christine Bertram
(ansvarshavende)
hcb@techmedia.dk
Professor Søren Kiil
sk@kt.dtu.dk
Ph.d. Kristian B. Krogh
kbk@novozymes.com
Professor Henrik Skov
hsk@envs.au.dk

Redaktionskomité:
Professor Anne S. Meyer (formand)
Professor, dr. scient. Mikael Bols
Professor Morten J. Bjerrum
(Kemisk Forening)
Lektor, ph.d. Peter Szabo
(Kemiingeniørgruppen)
Lektor, civilingeniør, ph.d.
Merete Norsker Bergsøe
Vibeke Richter Foersom
(Næstformand, Kemilærerforeningen)
Chefkonsulent Helle Westphal
Senior Environmental Specialist,
FMC Site Rønland
Inge Margrethe Jensen
Fagkonsulent Mette Malmqvist

ISSN 0011-6335 (tryk)
ISSN 1902-360x (online)

Bladsekretær:
Heidi Thode
Tlf. 43 24 26 62, ht@techmedia.dk

Annoncer:
Tanja Wulff Dühring
Tlf. 43 24 26 06, twd@techmedia.dk

Annonceproduktion:
Marianne Dieckmann
Tlf. 43 24 26 82, md@techmedia.dk

Layout: Trine Plass
Tryk: PE Offset A/S

Oplag: 4.190
Online læsere: 1.279

Abonnement:
Bestilling og ændring/opsigelse
sendes til abonnement@techmedia.dk

Trykt på
miljøvenligt papir
med vegetabiliske
miljøfarver.



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.

Læs bladet online:
www.dansk kemi.dk

Se også: www.kemifokus.dk

Eller find
Dansk Kemi på:



Scan og hent Dansk Kemi's
medieinformation 2025 her!
Scan med kameraet
på din smartphone.



Når kemien står i vejen

I det seneste år har der været flere sager med u hensigtsmæssig håndtering af overskudsjord med indhold af miljøfremmede stoffer eller med indhold af materialer fra nedrivning af bygninger. Der har været eksempler på, at forurenede jord er udlagt og nedpløjet i marker, hvor der efterfølgende er risiko for, at farlige stoffer kan udvaskes til grundvand eller optages i de afgrøder, der dyrkes på marken. Det er helt uacceptabelt.

Der mangler ikke regler og lovgivning, men der mangler måske almen forståelse for konsekvensen af, at farlige stoffer havner de forkerte steder, hvis reglerne ikke følges.

Dokumentationskravene og sagsbehandlingen omkring jordflytning og håndtering af forurenede jord og nedrivningsmaterialer kan synes tung for den, som gerne vil videre med et nybyggeri – eller

med at oprense en forurenede grund – men reglerne er der jo for at beskytte mennesker og miljø.

Det er vigtigt, at vi holder fast i kontrollen.

Det er også vigtigt, at vi som et samfund, der gerne vil udvikle byer og veje, oprense forureninger og genanvende materialer, også udvikler og investerer i teknologier og anlæg, der kan

håndtere miljøfremmede stoffer, så det bliver let at gøre det rigtigt. De mange store bygge- og anlægsprojekter rundt om i Danmark vil også i de kommende år give udfordringer med korrekt håndtering af jord og nedbrydningsmaterialer.

Det giver mening at genanvende og spare på de jomfruelige materialer, som kan være begrænsede ressourcer. Restindhold af farlige stoffer, som ikke må spredes ukontrolleret ved genanvendelse af for eksempel jord eller knust beton som fyldmateriale, er en udfordring i denne sammenhæng.

Mangler vi viden og kapacitet til at få det bedste ud af det værste?

Viden til at identificere og udvikle et bredt spektrum af teknologier til rensning af jord og nedrivningsmaterialer er efterspurgt og vil have betydning for vores evne som samfund til at øge genanvendelsen og fremme det cirkulære materialeforbrug. Der er brug for forståelse af de miljøfremmede stoffers kemiske egenskaber for at kunne håndtere dem.

Den grønne omstilling kræver ikke kun investering i vedvarende energiformer og infrastruktur, men også investering i at håndtere affald. Når kemien står i vejen for genanvendelse af materialer, er der også brug for kemisk viden til at finde en udvej.

Inge Margrethe Jensen,
senior environmental specialist, FMC Site Rønland

Når kemien står i vejen ”
for genanvendelse af
materialer, er der også brug for
kemisk viden til at finde en udvej

Savner du også det store overblik?

PFAS

Med Combustion IC (CIC) får du den totale mængde PFAS i dine prøver.

Med mere end 10.000 forskellige PFAS er det vigtigt at få det fulde billede.

Få hurtige og pålidelige resultater - for alle PFAS.

Med CIC efter den nye standardmetode DIN-38409-59 får du:

Selektiv bestemmelse af AOF, AOCl, AOBr og AOI i forskellige vandprøver

AOF som en hurtig, ikke-målet screening for PFAS'er

Effektivt system med meget lidt vedligeholdelse

Let at bruge, robust og pålideligt



Udvinding af fødevareproteiner fra kløvergræs ved membranteknologi

Hvis kløvergræs skal kunne anvendes som ny ressource til udvinding af fødevareproteiner, kan membranteknologi være vejen frem.

Af Mette Lübeck, Mads Koustrup Jørgensen, Simon Gregersen, Anders Kjær Jørgensen og Peter Stephensen Lübeck, Institut for Kemi og Biovidenskab, Aalborg Universitet

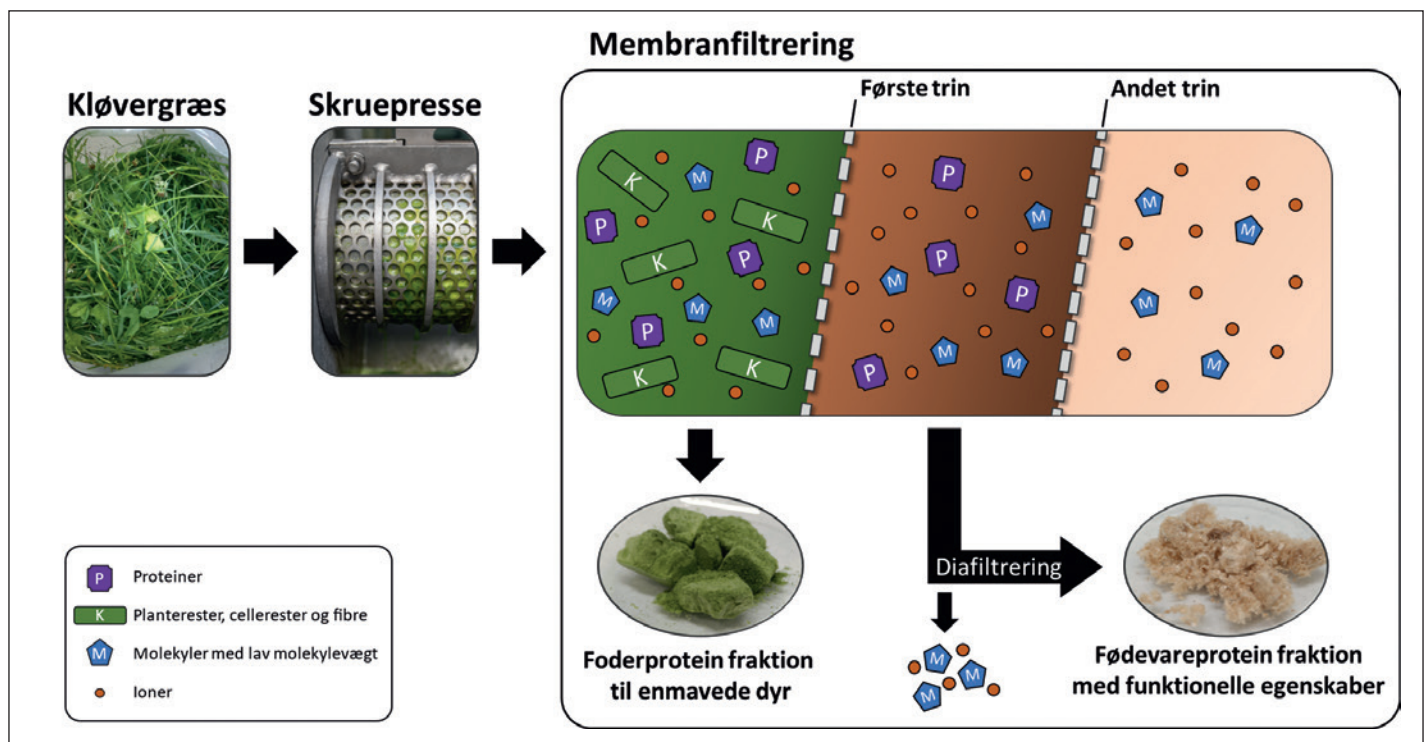
Verden står over for store udfordringer med hensyn til produktion af fødevarer i fremtiden. Den nuværende produktion er i høj grad baseret på animalsk produktion, hvilket ikke er bæredygtigt

på grund af et meget højt negativt klimaaftryk. Men i vores kost har vi brug for en vis mængde protein indeholdende essentielle aminosyrer, og de kommer primært fra animalske produkter. Nogle af de animalske proteiner, for eksempel fra æg og mælk, har også nogle gode teknofunktionelle egenskaber, som er eftertragtede som fødevarer ingredienser. Derfor arbejdes der intenst på at finde alternative løsninger til produktion af fødevarer ingredienser, der indeholder

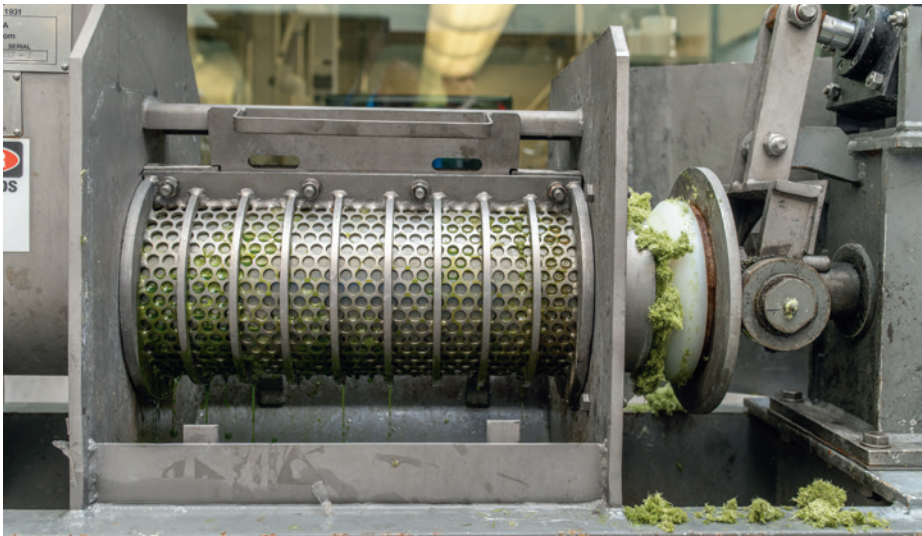
proteiner med essentielle aminosyrer og med lignende teknofunktionelle egenskaber, så det bliver muligt at reducere den nuværende animalske produktion. En vej er at producere fødevareproteiner fra planter, som for eksempel kløvergræs.

Kløvergræs giver klima- og miljøgevinster

Kløvergræs dyrkes i dag i landbruget som foder til køer og får. Kløvergræs



Figur 1. Proteinudvinding fra kløvergræssaft. Friskhøstet kløvergræs skruet presses og den grønne saft membranfiltreres. I første membranfiltreringstrin tilbageholdes cellerester, fibre og ikke opløselige og membranbundne proteiner, der kan opkoncentreres og udfældes til foderprotein. I næste membranfiltreringstrin tilbageholdes opløselige proteiner, som kan opkoncentreres og spraytørres til fødevareprotein. Restsaften indeholder en række næringsstoffer og kan anvendes til fermentering eller til gødning.



Skruepresse.

har nogle gode dyrkningsmæssige egenskaber i forhold til miljø og klima, idet de på mange måder er optimale til at understøtte landbrugets omstilling. De kan dyrkes uden brug af pesticider, med mindre eller ingen gødning, og bidrager samtidig til kulstoflagring, reduceret næringsstofudvaskning og giver mulighed for høst, selv efter længere tørkeperioder takket være deres dybe rodnet.

Flerårige kløvergræsser er med deres lange vækstsæson i stand til at udnytte sollyset i højere grad gennem sæsonen end etårige planter. De kan derved opnå højere tørstof og proteinudbytte per hektar end andre landbrugsafgrøder. Der har gennem en årrække været stor fokus på at udvinde proteiner af foderkvalitet fra kløvergræs til enmavede dyr, der ellers vanskeligt kan omsætte græs på grund af det høje indhold af ufordøjelige fibre [1]. Proteinerne udvindes i grønne bioraffinaderier, hvor alle plantens komponenter kan anvendes i en fuldt cirkulær proces.

Den anvendte metode til udvinding af foderproteiner foregår ved at høste frisk kløvergræs og skruepresse det for at få en proteinrig saft. Proteinerne udvindes gennem en varmebehandling, der koagulerer proteinerne, som så fanges gennem centrifugering. Denne proces er i Danmark commercialiseret og anvendes for eksempel på Herregården Ausumgaard i samarbejde med fodervirksomheden Vestjyllands Andel og af firmaet Biorefine, der er dannet af grovvareselskaberne DLG og Danish Agro sammen med græsfrøfirmaet DLF. De udvundne græsproteiner anvendes som foder til fjerkræ og grise, og en hel del undersøgelser har påvist, at græsproteinerne kan erstatte importeret sojaprotein [1].

Græsprotein udvundet ved denne metode er uegnet til mennesker på

grund af den kraftige smag og duft af græs, der ikke kan maskeres og som vanskeligt efterfølgende kan fjernes. Desuden ødelægger varmeudfældningen proteinstrukturen, opløseligheden i vand og de gode funktionelle egenskaber, som er kendt for fotosyntese-proteinet RuBisCO [2].

Udvinding af fødevarerproteiner

For at skabe økonomisk bæredygtige grønne bioraffinaderier vil udvinding af fødevarerproteiner – med foderproteiner som biprodukt – forbedre økonomien markant.

Alle grønne, fotosyntetisk aktive blade, som for eksempel kløverplanter og græsser, har et højt indhold af proteiner, især RuBisCO, der indeholder tilstrækkeligt af de essentielle aminosyrer, som vi mennesker har brug for. Der har gennem tiden været en række forsøg på at udvinde RuBisCO



Græssaft inden filtrering.



Pulp, græssaft, membranfiltreret grøn græssaft (efter 1. filtrering), og membranfiltreret saft (efter 2. filtrering). Derefter kan de opkoncentreres og tørres.

til fødevarerformål fra forskellige typer af grønne blade inklusive kløvergræsser. De fleste metoder anvender en mild varmeudfældning, hvor det er muligt at fjerne en del fibre og klorofyl fra saften, inden de vandopløselige proteiner udfældes, enten ved endnu en varmebehandling ved høj temperatur eller ved at sænke pH til cirka 4.

I begge tilfælde kan proteinerne udvindes, men den efterfølgende opløselighed mistes helt ved varme og delvist ved syreudfældning, selv når pH justeres tilbage til neutral på grund af hel eller delvis irreversibel denaturering af proteinerne. Alternativt kan proteinerne opsamles ved membran teknologi gennem ultrafiltrering, der kan tilbageholde de vandopløselige, native proteiner, efter den første initiale milde varmeudfældning. I dette trin mistes langt det meste protein, som dog stadig kan anvendes til foderprotein til enmavede dyr.

Hvis man skal udvinde proteiner fra planter til fødevarer, hvor de naturlige egenskaber bevares, skal der mere nænsomme metoder til. Inspireret af valleeventyret, hvor membranfiltreringsteknologi har øget værdien af valle gennem produktion af en portefølje af produkter (valleprotein, proteinisolater, specialproteiner, laktose mv.), har vi visionen, at tilsvarende fremskridt kan ske for bæredygtig udnyttelse af saften fra kløvergræs. Vi har derfor udviklet en metode, hvor vi har fjernet den ovennævnte beskrevne milde varmeudfældning for at få større udbytte af de vandopløselige proteiner, særligt RuBisCO. I stedet har vi erstattet det med en proces, hvor membranfiltrering anvendes til tilbageholdelse af de uønskede komponenter i saften som cellerester, og fibre fra skruepresningen, samt mikroorganismer, som uvægerligt lander i saften.

På grund af indholdet af cellerester og fibre i grønsaften, tilstopper membranen let, hvilket har været en udfordring i udviklingen af teknologien. Gennem et intensivt udviklingsarbejde og tests af en lang række af både procesparametre



Manuel håndtering af græssaft inden filtrering i lille pilotskala.



Tørret græsproteinfoder.



Tørret græsprotein ingrediens til human brug.

og membraner af forskelligt materiale og med forskellige egenskaber og permeabilitet, er det lykkedes at udvikle en to-trins-membranfiltreringsmetode. I denne metode kan der kan høstes ikke-grønt, lugt- og smagsneutralt protein, som primært består af RuBisCO.

I det første membranfiltreringstrin tilbageholdes fibre, cellerester, klorofyl og mikroorganismer, samt farven, smagen og duften fra græsset, mens der i det andet membranfiltreringstrin anvendes en tættere membran, som tilbageholder de vandopløselige proteiner (figur 1, side 6) [3]. Ved hjælp af diafiltrering kan mindre molekyler som sukre og salte udvaskes fra de tilbageholdte proteiner, og proteinindholdet øges. Efter endt filtrering kan fødevarerproteinene spraytørres.

Et af de allervanskeligste problemer, som vi har arbejdet med, er, at der – umiddelbart efter høst af friskt plantemateriale – går en lang række enzymatiske processer i gang, som dels stammer fra planterne selv, når de såres og dels stammer fra mikrobiel aktivitet. På grund af disse udfordringer, og for at forhindre nedbrydning af proteinerne, er det vigtigt at processere plantematerialet så hurtigt som muligt efter høst og skruetpresning, at tilsætte kemikalier som for eksempel sulfat, der er almindeligt i fødevarerindustrien, til at hæmme de mikrobielle og enzymatiske processer, og i videst muligt omfang at undgå oxidering ved, at processen foregår så iltfrit som muligt.

Fødevarerproteinproduktets egenskaber

Det har vist sig, at det første filtreringstrin fuldstændigt fjerner den grønne farve (klorofyllet) samt duft og smag af græs. Det opsamlede fødevarerprotein er derfor lyst til brunligt, og det har bevaret sin naturlige form, som gør det anvendeligt i forskellige fødevarer sammenhænge. Ved hjælp af avancerede proteomics metoder har vi klarlagt, hvor meget RuBisCO udgør af det udvundne protein. Gennem proteinkarakterisering har vi fundet en forklaring på, hvorfor klorofylet, som er et mindre molekyle end de fleste proteiner, tilbageholdes i det første membranfiltreringstrin.

I samarbejde med Fødevarerinstitutionen ved DTU har vi undersøgt indholdet af potentielle allergene proteiner *in silico*, hvor det er muligt, ud fra kendskab til allergene proteinfamilier, at klarlægge indholdet af sådanne proteiner. Dette er vigtig viden, eftersom proteiner fra kløvergræs betragtes som "novel food" i EU og er underlagt regulering, så der skal søges om godkendelse til at kunne markedsføre græsprotein som fødevarer ingrediens.

Vi har også undersøgt de teknofunktionelle egenskaber af membranfiltreret kløvergræsprotein i samarbejde med Institut for Fødevarer videnskab ved Københavns Universitet, hvor der også ses på, hvilke fødevarer typer proteinerne vil kunne anvendes til. Da



BiomassProtein's pilotanlæg til udvinding af proteiner ved hjælp af membranfiltrering.

RuBisCO bibeholder sin naturlige form ved membranoprensningen, bevarer det egenskaber som opløselighed, gelering, skumning og emulgering, hvilket, ud over sit indhold af essentielle aminosyrer, giver mulighed for mange forskellige fødevarerapplikationer.

Den udviklede membranfiltreringsmetode, som lige nu testes på pilotskala i samarbejde med virksomheden BiomassProtein, er skalerbar til industriel skala, og kan med stor sandsynlighed også overføres til en række kommercielt dyrkede planter, hvor bladene traditio-

nelt er underudnyttede, såsom blade fra roer, gulerødder, kartofler, hamp og kassava. Vi har netop modtaget en bevilling fra Novo Nordisk Fonden, hvor vi skal udvikle og undersøge udvinding af proteiner fra blade fra nogle af disse planter.

E-mail:
Mette Lübeck: mel@bio.aau.dk

Referencer

1. Santamaría-Fernández, M. and Lübeck, M. (2020). Production of leaf protein concentrates in green biorefineries as alternative feed for monogastric animals. *Animal Feed Science and Technology*, 268, 114605. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114605>.
2. Di Stefano, E., Agyei, D., Njoku, E.N. and Udenigwe, C.C. (2018). Plant RuBisCo: An Underutilized Protein for Food Applications. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 95, 1063-1074. <https://doi.org/10.1002/aocs.12104>
3. Lübeck, P.S., Mattsson, T., Jørgensen, A.K., Echers, S.G., Jørgensen, M.K., Olsen, M., Heiske, S.U., and Lübeck, M. 2023. Aalborg University/BiomassProtein ApS patent application PA202370631 – GIPC ref. P3473PC00: Method for producing a food grade protein product and/or a feed protein product from plant material.

Sætter tempoet blandt vakuumpumper. HiPace turbopumper.

Vores turbopumper leverer vakuum til kemi- og laboratorieprocesser, hvor ekstremt lave tryk er nødvendige. HiPace turbopumper er ideelle til processer indenfor destillation, ekstraktion og massespektrometri. De sikrer dig præcise målinger og pålideligt vakuum.



Part of the **BUSCH** GROUP

PFEIFFER
VACUUM+FAB SOLUTIONS

www.pfeiffer-vacuum.com

Hofmeister - nem at anvende, svær at forstå

Franz Hofmeister opløste æggehvite i vandige saltopløsninger. En artikel fra 1888 beskriver, hvordan nogle ioner får proteiner til at udfælde, mens andre ioner har den modsatte effekt. Fødevarekemien bruger stadig Hofmeister, men langt mere nuanceret.



Af Leif Skibsted, Institut for Fødevarevidenskab, Københavns Universitet

Salt påvirker proteins opløselighed i vand. Koger man suppe på oksekød, vil suppen indeholde mere protein, hvis kødet koges med salt, end hvis salt

tilsættes efter kogning. Det beskrives meget detaljeret i den klassiske "Frøken Jensens Kogebog", se boks 1.

Hofmeisters opdagelse

Nogle anioner som sulfat forårsager, at opløste proteiner udfældes af vandig opløsning. Andre anioner som klorid

forårsager derimod, at proteiner opløses bedre, når man sammenligner anionerne i salte med den samme kation.

Hofmeister opstillede rækkefølgen af anioner efter effekten på proteins opløselighed [1]. Figur 1 viser den originale rækkefølge afbildet på en

■ Boks 1 - Hofmeister i køkkenet

Kogning af kraftig suppe ifølge Frøken Jensens Kogebog:

Kød tilsættes koldt vand, hvor salt allerede er opløst. Herefter koges, indtil suppen er færdig. Suppen vil nu være kraftig og velmagende, mens kødet er udkogt og kedeligt.

Sådan forbliver kød smagfuldt efter kogning af suppe ifølge Frøken Jensens Kogebog:

Kød tilsættes kogende vand. Salt tilsættes først senere. Suppen bliver nu smagløs, men kødet bevarer sin smag.

Hvordan får man både kraftig suppe og smagfuldt kød ifølge Frøken Jensens Kogebog:

Del kødet i to dele: kog den ene del på den ene måde, og den anden del på den anden måde. Formodentlig er det smagfulde kød ofte blevet serveret sammen med den kraftfulde suppe for herskabet "upstairs", mens det udkogte kød og den tynde suppe er blevet serveret "downstairs".



Frøken Jensens Kogebog udkom første gang i 1901. Denne udgave har forfatteren arvet fra familien.

mindetavle på Hofmeisters institut i Prag. Hofmeister bemærkede videre, at anioner havde større effekt på proteiners opløselighed end kationer. Til venstre i hvad der i dag kaldes Hofmeisters rækkefølge, og som er vist i boks 2, ses de såkaldte kosmotrope ioner som ammonium og sulfat. Ammonium og sulfat skaber orden i vand som opløsningsmiddel. Til højre i Hofmeisters rækkefølge ses de såkaldte kaotrope ioner som calcium og thiocyanat. Calcium og thiocyanat skaber uorden i vand som opløsningsmiddel.

Kosmotrope ioner er små og med høj ladning og bryder vandmolekylernes hydrogenbindinger. Denne elektrostatiske effekt skaber lokal struktur og orden. Kaotrope ioner er større og med lavere ladning og nedbryder vands struktur og skaber dermed uorden.

Kosmotrop og kaotrop er afledt af græsk for henholdsvis orden og uorden.

Salte og vands struktur

Hofmeisters rækkefølge blev oprindeligt forklaret ud fra de enkelte ioners effekt

på vands struktur [2]. Ioner har ikke kun effekt på vandmolekyler bundet direkte til ionerne. Ioner kan også inducere mere langtrækkende strukturer og påvirke grænseflader mellem luft og vand.



Figur 1. Mindesmærke for Franz Hofmeister på Charles Universitet i Prag med den originale rækkefølge af anioner udledt fra "salting-out" effekt af æggehvideproteiner.

Små anioner, der binder vand stærkt, kan stjæle vand fra proteiner, og synes at stabilisere proteiner. Store anioner, der binder vand svagere, synes at fremme denaturering af proteiner [3].

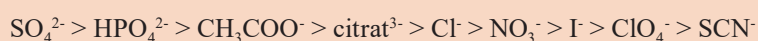
Proteiners opløselighed i vand afhænger af tilstedeværelse af salte og deres koncentration. Hæmoglobin og myoglobin har ofte været anvendt til at undersøge proteiners opløselighed og stabilitet, fordi de er små veldefinerede proteiner [4]. I den nu klassiske undersøgelse fra 1932 blev effekten af citrater, klorider og sulfater på hæmoglobins opløselighed fastlagt for stigende koncentration og dermed stigende ionstyrke. Som det fremgår af figur 2, side 12, var effekten meget forskellig. Alle salte øgede opløseligheden op til omkring fysiologisk ionstyrke på 0,16 M. Denne "salting-in" blev for sulfaterne afløst af "salting-out" for højere ionstyrke, men ikke for kloriderne.

De enkelte ioners virkning på vands struktur forklarer proteinernes opløselighed. Kosmotrope ioner som ammonium og sulfat hver for sig og især i kombination, mindsker proteinernes

opløselighed og beskytter proteinerne mod denaturering. "Salting-out" i mættede opløsninger af ammoniumsulfat benyttes derfor til at oprense enzymer, uden at enzymernes aktivitet ødelægges [5]. Calcium-ionen og thiocyanat-ionen har modsat effekt. "Salting-in" vil øge opløseligheden af proteiner og samtidig fremme deres denaturering. "Salting-in" er knyttet til protein-denaturering, fordi den øgede opløselighed skyldes udfoldning af proteiner. "Salting-out" derimod beskytter proteinernes rumlige struktur.

■ Boks 2 - Fra orden til uorden

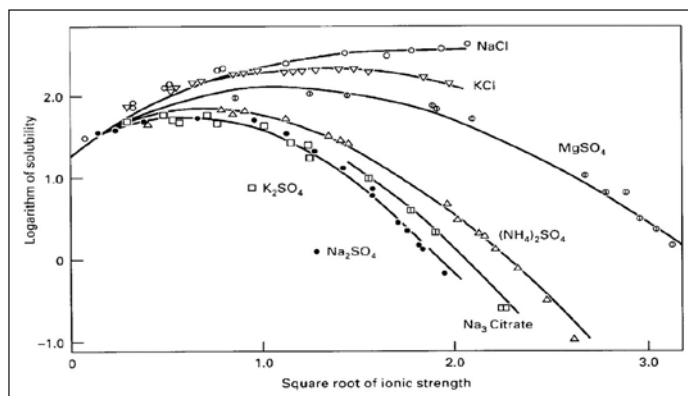
Hofmeisters rækkefølge fra kosmotrope ioner mod venstre til kaotrope ioner mod højre for både kationer og anioner:



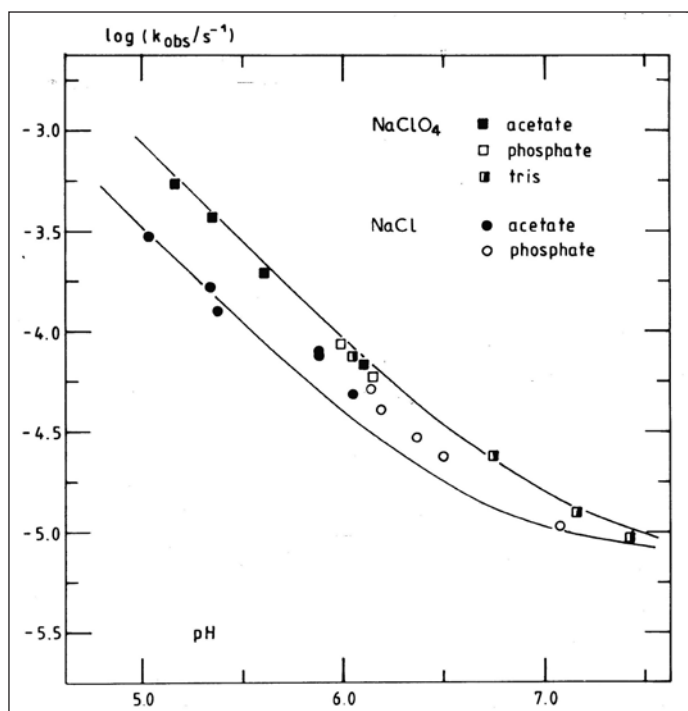
Ioner til venstre, for både kationer og anioner, har størst tendens til

- at øge overfladepænding
- at beskytte proteiner mod denaturering
- at udfælde proteiner.

Kosmotrop og kaotrop er afledt af græsk for henholdsvis orden og uorden.



Figur 2. Logaritmisk afbildning af opløselighed af hæmoglobin i gram i kilo vand for stigende koncentration af salte vist som ionstyrke ved 25°C. Balancen mellem "salting-in" og "salting-out" er forskellig for forskellige salte. Fra A.A. Green, *Journal of Biological Chemistry* 95: 47-66, 1932 [4].



Figur 3. Hydrogenionkatalyse af autooxidation af oxymyoglobin ved 30°C i vandig opløsning af natriumklorid og natriumperchlorat ved ionstyrke 0,16. Logaritmen af observeret første ordens hastighedskonstant for varierende pH. Den kaotrope perchlorat-ion øger hastigheden for den syrekatalyserede proces næsten tre gange. Fra H.J. Andersen, G. Bertelsen & L.H. Skibsted, *Acta Chemica Scandinavica* A42, 1988, 226-236 [7].

Ioner, specifikke effekter og ionpar

Ioner som Ca^{2+} har specifik effekt på mange proteins opløselighed og deres denaturering, da mange kationer som Ca^{2+} binder sig til carboxylat-sidekæder af asparginsyre og glutaminsyre i proteiner [5].

Den fysiologisk vigtige klorid-ion, Cl^- , er midt i rækken mellem kosmotrope og kaotrope anioner. Klorid-ionen danner mere orden end den kaotrope perchlorat-ion, ClO_4^- , selvom perchlorat-ionen generelt er mere inert og ikke danner ion-par.

Misfarvning af fersk oksekød skyldes auto-oxidation af det lyserøde oxymyoglobin til det brune metmyoglobin. Misfarvningen går hurtigere med faldende pH på grund af specifik syrekatalyse. Salt øger hastigheden af den syrekatalyserede misfarvning.

Det fysiologiske klorid synes at beskytte oxymyoglobin mod oxidation gennem en specifik effekt. Klorid-ionen binder sig til proteinet nær jern(II) centeret i oxymyoglobin og beskytter mod protonen i den syrekatalyserede oxidation. Den kaotrope perchlorat-ion har ikke denne beskyttende effekt, som det ses af figur 3. Det overraskende resultat, at klorid-ionen, men ikke perchlorat-ionen, beskytter mod syrekatalyseret oxidation, kan nu forklares ud fra Hofmeisters rækkefølge.

Kaotrope anioner har større tendens til at danne ionpar med kaotrope kationer, og kromotrope anioner har større tendens til at danne ionpar med kromotrope kationer end tendensen for de to kaotrop/kromotrop kombinationer. Disse præferencer minder om præferencer for hårde og bløde metalioners kompleksdannelse med hårde og bløde ligander. Bløde polariserbare metaller foretrækker bløde polariserbare ligander, og små hårde metalioner foretrækker små hårde ligander.

Netop dannelse af ionpar eller komplekser i grænseflader som mellem luft og opløsning og mellem udfældede proteiner og opløsning synes vigtig for forskellige saltes indflydelse på proteiner i opløsning [5]. For klorider øges grænsefladespænding for alkaliske salte som $\text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$, mens rækkefølgen er omvendt for sulfater [6]. Effekten af anion og kation er således ikke additiv.

"Salting-in" eller "Salting-out"

Almindeligt salt, NaCl , som det anvendes til fødevarer, har typisk en opløselighedsfremmende effekt på proteiner. Figur 2 viser, at opløseligheden af hæmoglobin vokser op til mættet saltvand, der har ionstyrken omkring 5 M. Tilsættes 10 gram salt svarende til 1 liter kogevand til suppekogning, bliver koncentrationen 0,17 M. Ved denne saltkoncentration er opløseligheden af kødproteiner væsentligt forøget, som det ses af Frøken Jensens Kogebog i boks 1, side 11. "Salting-in" giver den kraftige suppe. Det er også denne effekt, der udnyttes ved ansaltning af kød til fars, hvor salt tilsættes kødet, før farsen røres for at opløse mere protein, der kan virke som emulgator i farsen under stegning og holde på farsens fedt.

Resultater af teoretiske beregninger for "salting-in" og "salting-out" bliver i disse år sammenlignet med den praktiske udnyttelse i biokemi, herunder i fødevarekemi. Der er stadig mange uløste spørgsmål, og der er brug for at inddrage effekt af pH og temperatur og specifikke bindinger af ioner og ionpar i grænseflader. Et spørgsmål synes dog besvaret. Hvorfor det er de samme ioner, der udfælder proteiner, som også beskytter proteiner mod denaturering.

E-mail:

Leif Skibsted: ls@food.ku.dk

Litteratur

- Hofmeister, F. (1888). Zur Lehre von Wirkung der Salze. *Archiv Experimentelle Pathologie und Pharmacologie* (Leipzig), 24, 247-260.
- Xie, W.J. & Gao, Y.Q. (2013). A Simple Theory of the Hofmeister Series. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 4, 4247-4252.
- Jungwirth, P. (2013). Hofmeister Series of Ions: A Simple Theory of Not so Simple Reality. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 4, 4258-4259.
- Green, A.A. (1932). Studies in the Physical Chemistry of the Proteins. X. The solubility of Hemoglobin in Solutions of Chlorides and Sulfates of Varying Concentration. *Journal of Biological Chemistry*, 45, 47-66.
- Gregory, K.P., Elliot, G.R., Robertson, H., Kumar, A., Wanless, E.J., Webber, G.B., Craig V.S.J., Andersson, G.G. & Page, A.J. (2022). Understanding specific ion effects and the Hofmeister series. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 24, 12682-12718.
- Pegram, L.M. & Record. M.T. (2008). Origin of Hofmeister Ion Effect. *Journal of Physical Chemistry B*, 112, 9428-9436.
- Andersen, H.J., Bertelsen, G. & Skibsted L.H. Salt effect on Acid Catalyzed Autooxidation of Oxymyoglobin. *Acta Chemica Scandinavica* A 42, 226-236.

Nye metoder giver indsigt i plantebaseret strukturdannelse

Foto: Freepik.com

Et afsluttet ph.d.-projekt fra Institut for Fødevarer ved Aarhus Universitet.

Af Julie Frost Dahl*, Sandra Beyer Gregersen og Milena Corredig, Institut for Fødevarer, Aarhus Universitet
(*nuværende adresse IFF, Braband)

Det er vanskeligt at udvikle nærende og attraktive plantebaserede fødevarer, medmindre vi forstår, hvordan proteiner opfører sig under forskellig procesering og i samspil med andre ingredienser. Et nyligt afsluttet ph.d.-projekt fra Institut for Fødevarer ved Aarhus Universitet har bidraget til forståelsen ved at optimere analytiske teknikker til at karakterisere ekstruderede planteproteiner. Samtidig demonstrerer projektet, hvordan maskinlæring (AI) kan integreres i forskning og optimere produktudviklingsprocesser.

Tekstuering af planteproteiner

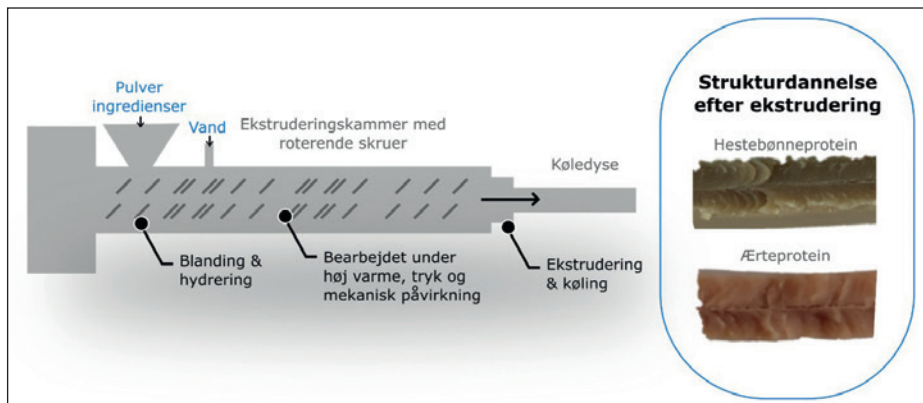
High-moisture extrusion (HME) kan anvendes til at skabe anisotrope strukturer i plantebaserede fødevarer, hvilket giver egenskaber, som vi kender fra muskelfibre i kød. HME bruges derfor især til produktion af plantebaserede kødanaloger. Processen består af mixing og hydrering af ingredienserne, efterfulgt af varme, tryk og mekanisk forarbejdning, inden det ekstruderes og solidificeres under køling (figur 1).

I dette projekt blev ærte- og hestebønneprotein-koncentrater og -isolater kombineret med forskellige niveauer af stivelse og vand. Dette skabte en række modelsystemer, der kunne danne grundlag for at forstå strukturdannelse under ekstrudering.

Nye metoder til bedre forståelse

En af de store udfordringer ved ekstruderede plantebaserede fødevarer er, at deres komplekse sammensætning og heterogene karakter gør dem svære at karakterisere strukturelt. En vigtig del af arbejdet i projektet har derfor været at undersøge nye og forbedrede muligheder for at analysere og bestemme relevante parametre til at beskrive systemerne med.

Mikroskopi anvendes ofte til at vise komponentfordelingen i fødevarer-strukturerne. De fleste mikroskopiske metoder er dog utilstrækkelige i forhold til at karakterisere vandfordeling og forskelle i hydrering. Dette er på trods af, at vand spiller en vigtig rolle i mange fødevarer – og specielt i HME som indeholder mindst 40 procent vand. For at imødekomme denne begrænsning, blev der i projektet udviklet en metode til at bruge Confocal Raman-mikroskopi til at følge vandhydrering i proteinfasen [1]. Raman-spektroskopi er velkendt for at kunne give detaljeret kemisk information. Når metoden kombineres med mikroskopi, kan man navigere rundt i prøven og forstå fordelingen af forskellige faser, inklusive vand. Ved anvendelse af metoden kunne det anskueliggøres, hvordan vandet bevæger sig og strukturen hydreres under HME-processering. Resultaterne viste, at det i ekstrudering af systemer bestående af proteinisolat og vand, var muligt at karakterisere to faser – én med mindre og én med mere



Figur 1. Skematisk repræsentation af de forskellige stadier under *high-moisture extrusion* (HME), samt eksempler på strukturer efter ekstrudering i modelsystemer.

hydreret protein. Denne fase separation bidrager til at skabe den anisotrope struktur. Ved tilsætning af stivelse opstår der konkurrence om vandet, hvilket yderligere øger fase separationen.

De anisotrope egenskaber er vigtige for teksturen af de plantebaserede fødevarer, men der mangler viden om den relevante længdeskala samt bedre metoder til at kvantificere begrebet. Projektet anvendte derfor en række komplementære biofysiske teknikker til at karakterisere de anisotrope egenskaber, herunder reologi, hvor prøven roteres under oscillationsbevægelse, samt dynamisk mekanisk analyse (DMA), hvor prøven strækkes i hver ende. Resultaterne viste, at hvis prøven analyseres uden en stor grad af deformation, som ved lineær reologi, opnås der information om de molekulære interaktioner i det kontinuerlige proteinnetværk, men ikke om de anisotrope egenskaber. Når prøven deformeres yderligere som under DMA, afsløres de svageste punkter i strukturen. De vil for disse systemer ofte være defineret af stivelsen i pro-

teinnetværket. DMA analyserer dermed strukturen på makroskala, og kan derfor give information om fase separation og de anisotrope egenskaber [2].

Da ekstrudering foregår i et lukket system, har man kun indsigt i de ingredienser, der tilsættes, og det produkt, der opnås. Vurdering af forskellige ingredienser eller procesparametre kræver gentagelse af processen. Dette er tidskrævende og begrænsende, da vi ofte ender med systemspecifikke konklusioner. Men hvis vi i stedet kunne evaluere materialets egenskaber under ekstruderingen, forventes det at kunne udvide forståelsen. Dette har man forsøgt ved brug af et såkaldt closed cavity rheometer (CCR), hvor procesbetingelserne under HME simuleres, samtidig med at materialet karakteriseres ved måling af *large amplitude oscillatory shear* (LAOS) reologi. Denne del af projektet blev udført på Wageningen Universitet i Holland. LAOS-reologi er dog endnu ikke særlig anvendt til karakterisering af fødevarer, så for at udnytte dets potentiale krævede det, at resultaterne bedre

kunne processeres. I samarbejde med Institut for Datalogi på Aarhus Universitet blev der derfor udviklet software til forbedret visualisering og sammenligning af LAOS-data [3]. Software er i dag frit tilgængeligt: <https://vis-au.github.io/vaos/>.

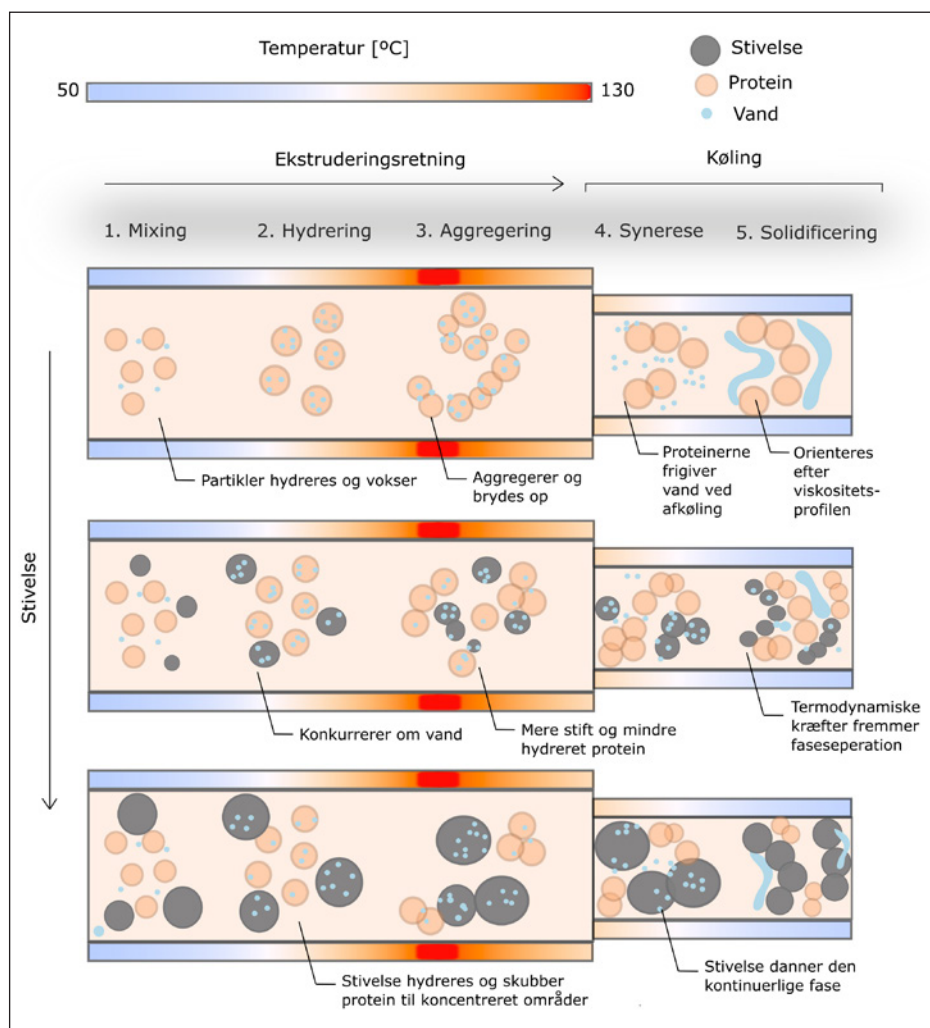
For at opnå en forståelse af, hvordan de målte LAOS-parametre relateres til strukturel information, blev plantesy-stemernes reologiske viskoelastiske egenskaber målt med CCR, korreleret til strukturen efter ekstrudering. Resultatet viste blandt andet, at store dele af strukturen dannes under kølingen [4].

Den opnåede forståelse

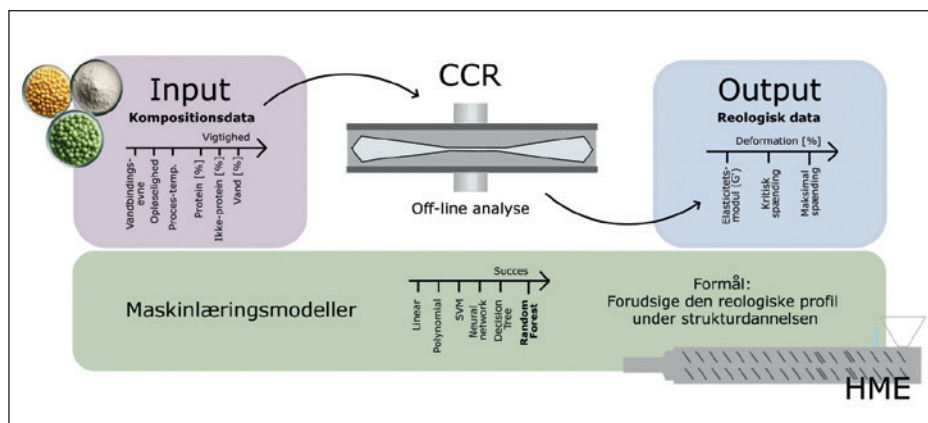
Baseret på resultaterne fra de udviklede metoder, sammenfatter figur 2 de mekanismer, der formodes at foregå under ekstrudering. I systemer, der kun består af proteinisolat og vand, antages det, at proteinerne hydrerer, vokser og aggregerer under varmepåvirkningen. Under den efterfølgende køling afgiver proteinerne noget af vandet igen (synerese), hvilket resulterer i fase separationen, som blev observeret med Confocal Raman. Ved tilstedeværelsen af stivelse binder denne det afgivne vand fra proteinerne. Stivelse og protein danner hver sin fase, hvilket fremmer fase separationen yderligere. Reologien viste, hvordan højere koncentrationer af vand eller stivelse resulterer i blødere og mere fleksible strukturer, som bedre tilpasser sig ekstruderingsflowet. Dette fører til strukturer med tydelige anisotrope egenskaber, medmindre stivelsen er til stede i så høj koncentration, at den overtager den kontinuerlige fase og i stedet fragmenterer proteinnetværket.

Forudsigelse af strukturdannelse

Foruden at bidrage til en øget forståelse af de bagvedliggende mekanismer, muliggjorde CCR indsamlingen af større mængder data, der også kan anvendes i datadrevet forskning. Der blev under projektet indsamlet et datasæt med 311 prøver, som blev brugt til at træne AI maskinlæringsmodeller til at forudsige strukturdannelse baseret på kompositions- og procesparametre. Resultatet viste, at især regressionsmodellen Random Forest har et stort potentiale. Modellen hjalp også med at forstå mønstre i dataene og identificerede de mest relevante inputdata og reologiske outputparametre (figur 3). Komplekse kulhydrater og vandindholdet viste sig at have større indflydelse på den reologiske respons end variation i proteinindholdet [5].



Figur 2. Schematisk illustration af foreslåede mekanismer under *high-moisture extrusion* (HME) af plantebaserede ingredienser vist som en funktion af stigende stivelsesfraktion.



Figur 3. Maskinlæringsmodeller trænet på data fra det offline rheologiske udstyr closed cavity rheometer (CCR), der efterligner procesparametre under *high-moisture extrusion* (HME). Input-kompositionsdata er rangeret efter vigtighed for modellens forudsigelse af reologiske parametre under øget deformation. Forskellige maskinlæringsmodeller blev testet og rangeret efter succesrate.

Konklusion

Projektet opnåede at optimere metoder til at forstå strukturdannelse i plantebaserede proteinrige produkter. Resultaterne viste også, hvordan maskinlæring kan reducere trial-and-error-baseret forskning og bidrage til at forstå mønstre og korrelationer i komplekse multikomponentsystemer. Anvendelse

af AI bliver yderligere brugbart, hvis vi i fremtiden ønsker at fremstille fødevarer af mindre processerede ingredienser og dermed arbejde med mindre raffinerede råvarer. Det vil nemlig gøre det sværere at drage konklusioner om, hvilke ingredienser der spiller hvilken funktionel rolle i strukturen. Her kan AI hjælpe med at identificere og forstå påvirkning

gen af forskellige komponenter og deres sammenspil.

E-mail:

Julie Frost Dahl: julie.dahl@iff.com

Referencer

1. Dahl, J.F., Gregersen, S.B., Andersen, U., and Corredig, M. (2023). Confocal Raman microscopy to evaluate anisotropic structures and hydration development. *Methodological considerations*. *Soft Matter*, 19(23):4208-4222.
2. Dahl, J.F., Bouché, O., and Corredig, M. (2025). Multiscale study of structure formation in high moisture extruded plant protein biopolymer mixes. *Food Hydrocolloids*, 158:110523.
3. Dahl, J.F., Gregersen, S.B., Andersen, U., Schulz, H.-J., and Corredig, M. (2024). Small and large deformation rheology on pizza cheese as an example of application to study anisotropic properties of food soft materials. *Food Hydrocolloids*, 148:109456.
4. Dahl, J.F., Bouché, O., Schlangen, M., van der Goot, A.J., and Corredig, M. (2025). Relationship between rheological parameters and structure formation in high moisture extrusion of plant protein biopolymers. *Food Hydrocolloids*, 160:110843.
5. Dahl, J.F., Schlangen, M., van der Goot, A.J., and Corredig, M. (2025). Predicting rheological parameters of food biopolymer mixtures using machine learning. *Food Hydrocolloids*, 160:110786.

LabDays 2025

- trade fair for laboratory technology

AARHUS 10-11 SEPTEMBER



Antibiotikaresistens i vores naturlige miljøer

Spredning af antibiotikaresistens kan ske via mineraloverflader.

Af Karina Krarup Svenninggaard Sand, associate professor, Globe Institute, Københavns Universitet

Antibiotikaresistens spreder sig i vores miljøer og findes i dag langt fra formodede kilder [1]. I vores nylige studie viser vi, at mineraloverflader kan spille en vigtig rolle for udbredelsen af antibiotika på tværs af økosystemer [2]. Vi ser, at ekstracellulært resistens-DNA kan adsorberes på mineraler, og at bakterier kan inkorporere det adsorbere DNA og udvikle resistens. Mineralernes overfladekemi spiller en stor rolle for denne form for mineralfacileret spredning af antibiotikaresistens, og vores resultater peger på, at vi kan nedsætte spredningen af antibiotikaresistens ved at mindske mængden af udledt antibiotika.

Antibiotikaresistens er ikke længere kun et klinisk problem

Grundet udledning fra blandt andet storforbrug kan vi i dag finde både antibiotika- og resistensgener i stort set alle økosystemer i vores naturlige miljøer. Der er dog også en stor forekomst af antibiotikaresistens i jorde, sediment og marine systemer, som ligger langt væk fra storforbrug såsom landbrug, fiskeopdræt og hospitaler. Ifølge WHO er antibiotikaresistens en af de største trusler mod vores helbred [3], og vi er allerede på vej ind i en situation, hvor vi ikke er i stand til at slå bakterieinfektioner ned. Konsekvensen er, at vi i 2050 kan forvente flere dødsfald forårsaget af resistente mikrober end cancer (10 millioner vs. 8,2 millioner) [4]. Vi har i vores seneste studie sat en finger på en spredningsproces, som vi mener, er meget overset: spredning af antibiotikaresistens via sedimentære mineraler [2].

Bakterier er effektive til at dele gener imellem sig

Ved øget eksponering af antibiotika udvikler bakterier resistens. Bakterier kan, i modsætning til os, modtage gener fra hinanden, og dermed kan resistensgener blive delt mellem bakterier på kort tid (minutter, timer). Denne form for gendeling



Foto: Wikimedia

kaldes horisontal genoverførsel. Horisontal gen-overførsel kan dels ske ved, at to bakterier skaber direkte kontakt og deler DNA (bakterie-til-bakterie). Gener kan også overføres ved, at én bakterie samler et ekstracellulært DNA-molekyle op, eller ved at en phag overfører DNA til en bakterie. Overførslen af resistensgener via bakterie-til-bakterie mekanismen er meget effektiv og anses for at være hovedansvarlig for spredning af antibiotika til nabobakterier.

Til sammenligning regnes mekanismen, hvor én bakterie samler ekstracellulære DNA-molekyler op, for at være meget mindre effektiv og meget mindre udbredt, simpelthen fordi ekstracellulært DNA nedbrydes ret hurtigt i vand. Vi mener dog, at de ekstracellulære resistensgener kan spille en stor og overset rolle i udbredelsen af antibiotikaresistens på tværs af økosystemer.

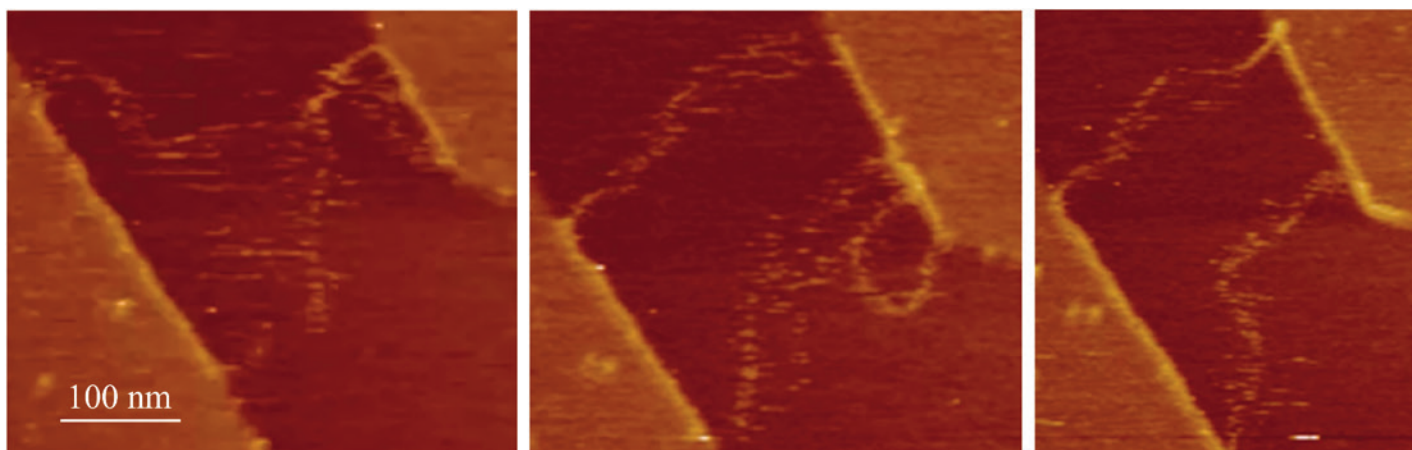
DNA-adsorption på mineraler

Vi ved nu, at ekstracellulære DNA-molekyler kan adsorberes til mineraler, der for eksempel er suspenderet i en vandsøjle, eller som ligger på bunden af en sø. Når DNA'et er adsorberet på mineraler, kan nedbrydningshastighe-

den af DNA'et mindskes markant. Udover at stabilisere DNA, kan mineraler også transportere det adsorbere DNA med sig videre i de sedimentære systemer. Dvs. at en lerpartikel i princippet kan samle resistensgener op i nærheden af et spildevands udløb og derfra bringe det med sig og introducere DNA'et til andre økosystemer.

En DNA dobbelthelix adsorberer hovedsageligt via dens negativt ladede fosfatgrupper. Mineralers evne til at adsorbere DNA er afhængig af mineralernes interne struktur, kemiske sammensætning og overfladegeokemi. Jern oxi-hydrider (goethite, hematite) og karbonater (kalsit) er eksempler på mineraler, der ofte har en overordnet positiv overfladeladning. Silikatmineraler som kvarts, feldspat og plagioklaser er overordnet negativt ladede. Lermaterialer har både positivt og negativt ladede overflader (faktaboks 1, side 17).

Når vi taler om adsorption af DNA, er mineralets "overordnede ladning" af betydning. På trods af en positiv ladet overordnet overfladeladning, vil der i mange tilfælde være både positive og negative ladede grupper på overfladen. Adsorptionsisotermer viser, at de



Figur 1. Adsorption af cirkulært DNA (cirka 3000 base par) på en kloritoverflade. DNA'et binder stærkt (bevæger sig ikke) på de positivt ladede kanter og er svagt bundet på den negativt ladede mørkere terrasse. Figuren er en sekvens over cirka 10 sekunder. Modificeret fra Sand et al [6].

mineraller, som har mange aktive bindingsgrupper og er overordnede positivt ladede, også kan binde mere DNA per overfladeareal [5].

Nanoskaladistribution af adsorberet DNA

Vi har brugt atomar kraftmikroskopi til at studere, hvordan DNA opfører sig, når

det adsorberes på forskellige overflader, og hvordan det fordeler sig i forhold til mineralernes lokale overfladestrukturer. Atomar kraftmikroskopi kan "se" overflader og det der sidder på dem. Desuden kan et molekyle, der er svagt bundet til overfladen, også ses. Ved hjælp af den teknik kan vi se, at mængden af de aktive overfladegrupper og deres ladningsdensitet er vigtige i forhold til mobiliteten af det bundne DNA.

Figur 1 viser overfladen af et lermineral (klorit), hvor vi har adsorberet et cirkulært DNA-molekyle. Billedet kan aflæses som et topografisk kort. De lyse farver er højest og de mørkeste farver er dybest/lavest. DNA-molekylet er adsorberet ovenpå overfladen og fremstår dermed lysere end overfladen. Vi skanner i væske og det tager cirka 2 sekunder at tage billedet, fra vi starter i det ene hjørne af billedet, til vi når det modsatte hjørne. Klorit har flade terrasser, der er negativt ladede og kanter, som er positivt ladede.

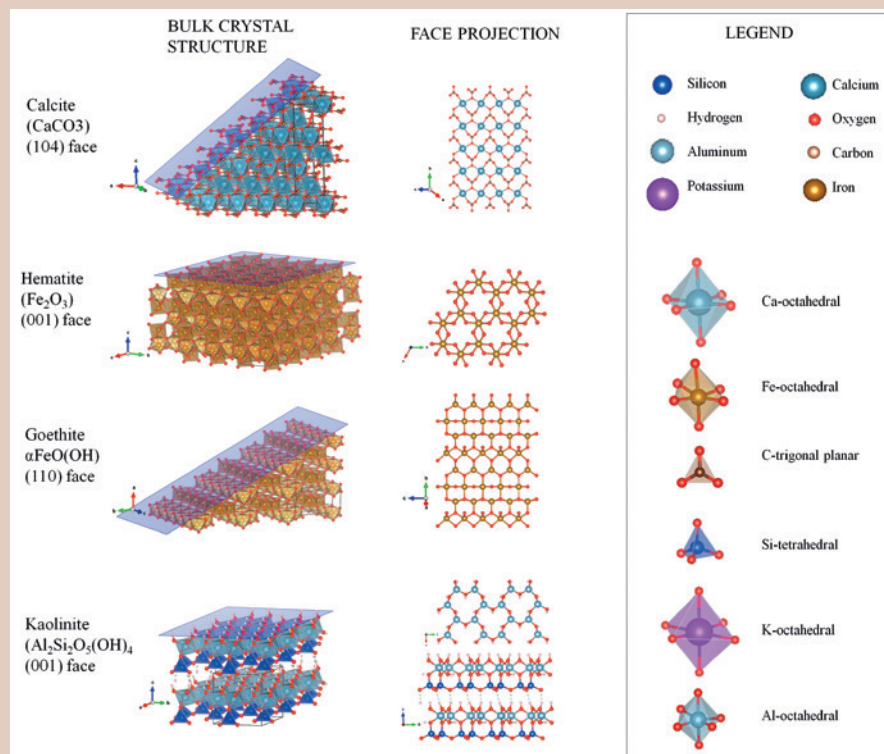
På figur 1 kan ses, at DNA'et sidder stabilt på de positivt ladede kanter, mens vi skanner, og at den del af molekylet, der rækker ud over de negativt ladede overflader, ligger og flytter sig. Dvs. at DNA'et binder stærkt til kanterne og noget mindre stærkt til de negativt ladede terrasser. I forhold til overlevelse af et DNA-molekyle i naturen, vil de mineraller, der kan binde flere grupper fra DNA-molekylet, i princippet, kunne transportere og bevare DNA'et længst (under antagelse af lignende fysiske, kemiske og biologiske forhold). Med vores studie ville vi teste, om mineralerne også spiller en rolle i forhold til genoptaget i en bakterie af det mineraladsorberede DNA.

Genoptag fra mineralalkorn

I vores studie testede vi, hvor effektivt

Mineraloverfladers kemi

Grundstofferne i overfladegrupperne har, i modsætning til elementerne inde i strukturen, bindinger, der ikke er brugt, hvilket skaber en strukturering af omgivende vandmolekyler. Vandmolekylerne kan protonere eller hydrere afhængigt af pH, hvilket giver anledning til en sammenhæng mellem pH og overfladeladning af de fleste mineraloverflader. Nogle mineraloverflader er altid negativt ladede. For eksempel er mica, som er et lermineral, altid negativt ladet grundet isomorfisk substitution af silicon (Si^{4+}) ioner med aluminium (Al^{3+}) ioner i gitteret. Dette gælder også for nogle lermineralers basal planes.



Krystalstruktur og overfladeprojektion af mineralerne kalsit, hematit, goethit og kaolinit. Krystallografiske akser er indikeret. Figuren er modificeret fra Hendiani et al [2].

bakterier kunne inkorporere resistente gener, der var adsorberede til mineraler. Vi testede en bred vifte af de mineraltyper, der forekommer i naturen, og fandt, at bakterierne kunne optage DNA fra samtlige mineraltyper. Dog var processen mest effektiv fra de mineraler, der kan binde mindst DNA (adsorptionskapacitet), og som havde en overflade, som ikke kunne binde DNA-molekylerne særlig stærkt (målt på evnen til at immobilisere det bunde DNA i væske, hvilket er en funktion af densiteten af de aktive bindingsgrupper samt ladningen af disse).

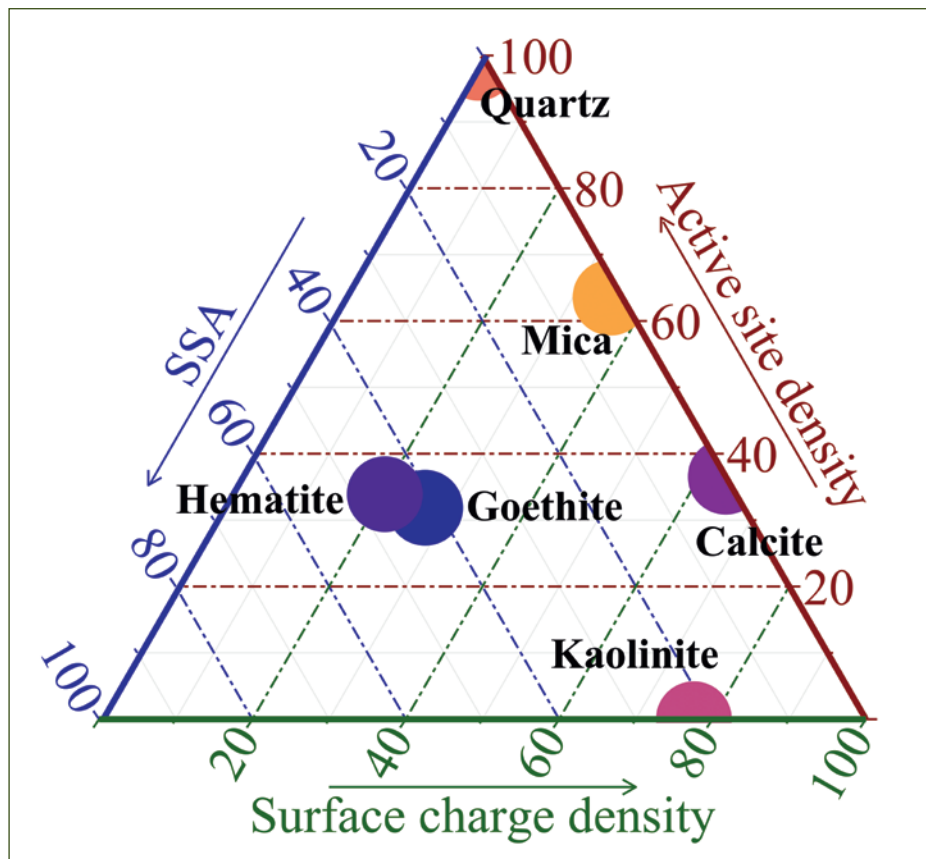
Vi så også, at mineralerne spillede en rolle for bakteriernes overlevelsessevne. Mineraler med en positiv ladning og mange aktive bindingsgrupper nedsatte bakteriernes overlevelsessevne. Vi forventede dermed, at mineraler som goethit og hematit, som netop er positivt ladede (figur 2), kunne bremse udbredelsen af resistensgener ved både at nedsætte genoverførselshastigheden og samtidig nedsætte bakteriernes celledeling og dermed biofilmdannelse.

Kan overfladegeokemi være med til at bremse spredning af antibiotikaresistens?

Vi håbede, at vi med den kobling mellem mineraloverfladeegenskaber og cellers overlevelsessevne kunne udvikle en overflade, der kunne "opsnappe" ekstracellulært DNA og samtidig forhindre, at bakterier kunne inkorporere det. Men da vi lod reaktionerne forløbe over 24 timer, blev spredningsopbremsningen vendt til forøget biofilmdannelse og forøget spredning af resistensen. Især goethite viste markant øget spredningshastighed mellem de målte 3 og 24 timer. Spredning via celledeling var størst, når der var antibiotika til stede.

Mineraler som hotspots for evolution

Først og fremmest viser vores studie, at antibiotikaresistensgener kan ophobes på mineraloverflader. Her kan bakterier tilgå DNA'et, inkorporere DNA'et og opnå resistens mod antibiotika. Når først én bakterie har inkorporeret DNA'et, spredes egenskaben meget hurtigt ved celledeling, især hvis der er antibiotika til stede. I vores studie tillod vi kun efterfølgende spredning via celledeling. I miljøet forventer vi, at bakterie-til-bakterie deling accelererer processen yderligere. I princippet er én genoverførsel fra et mineral til en bakterie nok til at accelerere spredning af antibiotikaresistens. Hvis resistent DNA overlever transporten til et andet miljø, kan en



Figur 2. Trekantsdiagram, der viser den relative fordeling af mineralparametrene: specifik overfladeareal (SSA) ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), tæthed af aktive overfladegrupper (aktive grupper $\cdot \text{m}^2$) og overfladeladningstæthed ($\text{C} \cdot \text{m}^{-2}$). Absolutte værdier er skaleret mellem 0 og 1.

lokal bakterie optage det mineraladsorberede DNA og derfra kan det hurtigt spredes via celledeling og bakterie-til-bakterie deling, især hvis der allerede er antibiotika i miljøet.

Hvad kan vi som samfundsborgere gøre?

Ifølge WHO står vi allerede i starten af antibiotikaresistenskrisen. Spredning af resistens er kompleks og breder sig over mange sektorer, miljøer og forskningsdiscipliner. Tiden er inde til at prioritere tværfaglige samarbejder og videnudveksling på dette område. Dels er der forskningsmæssigt mange aspekter af vores (og af mange andre studier), der skal undersøges nærmere, men mindst lige så vigtigt, så venter opgaver om effektiv integrering og formidling af viden og dernæst implementering af strategier for at bremse krisen.

Vi kan alle være med til at deeskalere krisen. Vi kan som samfundsborgere undlade at hælde antibiotikarester ud i vores afløb og i stedet aflevere rester på apoteket. Antibiotikaresistens kender ikke landegrænser og som borgere kan vi støtte politikere i globalt set at nedsætte sygdomstryk, øge vaccinationsprogrammer, sikre adgang til rent vand og generelt gode sanitære forhold. Desuden

er effektiv diagnosticering og antibiotikabehandlingsprogrammer med til at minimere sygdomstryk og spredningen mellem dyr og mennesker.

E-mail:
Karina Krarup Svenninggaard Sand:
kks@sund.ku.dk

Referencer

1. Hatosy, S.M. & Martiny, A.C. The Ocean as a Global Reservoir of Antibiotic Resistance Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**, 7593-7599 (2015).
2. Hendiani, S. *et al.* Reconciling the role of mineral surfaces for bacterial evolution: Importance of minerals in the dissemination of antibiotic resistance. *Sci. Total Environ.* **962**, 178301 (2025).
3. Antimicrobial resistance. <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>.
4. O'Neill, J. (2014) Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>
5. Verma, T. *et al.* Recurrence and propagation of past functions through mineral facilitated horizontal gene transfer. *Front. Microbiol.* **15**, (2024).
6. Sand, K.K., Jelavić, S., Kjær, K.H. & Prohaska, A. Importance of eDNA taphonomy and sediment provenance for robust ecological inference: Insights from interfacial geochemistry. *Environ. DNA* **6**, e519 (2024).

Villum Fonden uddeler forskningsmidler til topforskere

Villum Fonden har uddelt i alt 317 millioner kroner til 11 fremragende forskere på danske universiteter. Forskerne har alle markeret sig internationalt med banebrydende forskning og nu får de mulighed for at forfølge deres forskning med et solidt økonomisk fundament.

Genbrugsplast og grøn datakommunikation

Forskningsprojekterne spænder vidt – fra bedre udnyttelse af biomasse og udvikling af stærkere metaller til forståelse af matematikken bag kvantemekanik og udvikling af sikre computerprogrammer. Fælles for projekterne er, at de har potentiale til at flytte deres fagområder markant og bidrage med ny banebrydende viden.

Ét projekt handler for eksempel om, hvordan datanetværk kan designes, så de bruger mindre energi. Et andet har fokus på at nedbryde og genanvende plast.

Troels Skrydstrup, kemiker og professor i organisk kemi på Aarhus Universitet, kan med bevillingen fra Villum Fonden nu arbejde de næste seks år på at udvikle kemiske teknologier, der i sidste ende kan gøre plastindustrien mere bæredygtig.

- Bevillingen her giver mig en sjælden mulighed for at fordybe mig i et af de helt store miljøproblemer i vores tid – plastaffald – og udvikle nye kemiske metoder, der kan ændre den måde, vi genanvender plast på i industrien, fortæller han.



Foto: Line Ravn Gundal.

Uddannelses- og forskningsminister Christina Egelund var med, da de 11 topforskere blev fejret ved en ceremoni i VILLUM Window Collection i Søborg den 6. maj.

Styrker dansk forskning

Om millionstøtten fra Villum Fonden siger uddannelses- og forskningsminister Christina Egelund:

- I en tid, hvor fakta og evidens er under pres, er det af afgørende betydning, at vi har forskere i verdensklasse. De er kuren mod misinformation, og de er med til at rykke vores samfund og løse nogle af de store udfordringer, vi står overfor.

Kilde: Villum Fonden

De 11 forskere

De 11 forskere repræsenterer institutter fordelt på Danmarks Tekniske Universitet, Københavns Universitet og Aarhus Universitet.

- Troels Skrydstrup, Aarhus Universitet
- Torben Heick Jensen, Aarhus Universitet
- Lars Birkedal, Aarhus Universitet
- Leif Katsuo Oxenløwe, Danmarks Tekniske Universitet
- Irini Angelidaki, Danmarks Tekniske Universitet
- Jan Philip Solovej, Københavns Universitet
- Nini Pryds, Danmarks Tekniske Universitet
- Fabrice Baudoin, Aarhus Universitet
- Charlotte Fløe Kristjansen, Københavns Universitet
- Henning Friis Poulsen, Danmarks Tekniske Universitet
- Kasper Hornbæk, Københavns Universitet.

Kemikonferencen "European Symposium on Organic Chemistry" afholdes i København til sommer

Fra den 29. juni til den 3. juli 2025 afholdes kemikonferencen *European Symposium on Organic Chemistry* i Tivoli Congress Center i København. Til konferencen vil der være 13 plenary lectures, 13 invited lectures og 22 udvalgte oral communications fra anerkendte forskere fra hele verden. Der vil være en god blanding af foredrag fra kendte professorer fra blandt andet Harvard, ETH og Oxford, samt udvalgte foredrag fra unge ph.d.-studerende. Der vil også være poster session, hvor alle har mulighed for at fremvise deres forskning og diskutere resultaterne med andre interesserede. I

forbindelse med konferencen vil der være et udstillingsområde, hvor det nyeste udstyr til laboratoriet og kontoret fremvises. Man kan melde sig til konferencen via hjemmesiden www.esoc2025.com.

Foruden det faglige program vil der være mulighed for at deltage i en masse ikke-faglige aktiviteter, inklusiv et besøg på Københavns Rådhus, hvor der vil blive serveret rådhuspandekager, og en konferencemiddag i den nye Niels Bohr Bygning. Der er mulighed for at udforske København og omegn via organiserede ture til blandt andet Vikingeskibsmuseet i Roskilde, kanalrundfart i Københavns kanaler eller via en række



arrangementer via CopenPay (<https://www.esoc2025.com/programme/copenpay-event>).

Vi håber at se mange af jer til ESOC i København!

Michael Pittelkow, pittel@chem.ku.dk

Enzymet glucoseoxidase

– en status i 100-året for Detlev Müllers opdagelse.

Af Jens Ulstrup¹, Xinxin Xiao², Adam Heller³ og Ture Damhus⁴

¹ Institut for Kemi, Danmarks Tekniske Universitet

² Institut for Kemi og Biovidenskab, Aalborg Universitet

³ 1801 Lavaca Street, Apt/11E, Austin, TX 78701, United States

⁴ 2100 København Ø, Danmark (tidligere hos Novozymes til 2019)

Den amerikanske biolog Jared Diamond har fremført, at store opdagelser sjældent sker ”strategisk”, fordi der er behov for dem, men fordi ”nogen” synes, det er sjovt, og opdagelsen så næsten følger ”af sig selv” (”serendipitivt”). Undtagelser har inkluderet atomvåben, månekapløbet, i nyere tid måske Power-to-X og genteknologi [1]. Den danske forsker Detlev Müllers opdagelse af enzymet glucoseoxidase (GOx) i 1925, siden af overmåde stor betydning i behandling af diabetes, som mere end en tiendedel af verdens befolkning lider under [2], er et eksempel på en stor serendipitiv opdagelse. Indtil for nylig var Detlev Müllers opdagelse overset og fejlagtigt tilskrevet andre. Her i 100-året for opdagelsen fortæller vi historien og kommer lidt ind på enzymets egenskaber og mulige anvendelser. Glucoseoxidase er klassificeret af IUBMB som en oxidoreductase EC 1.1.3.4 (se faktaboks 1).

Alexander Flemings udvinding af penicillin fra svampetypen *Penicillium ruben* (en type mug) var ”strategisk” under indflydelse af et stort behov for ikke-toksiske antibiotika efter Første Verdenskrig. Omtrent samtidigt med Flemings opdagelse Detlev Müller i 1925, at filtrater (”safter”) fra den almindeligt forekommende svamp, *Aspergillus niger*, udviste bakteriedræbende (baktericide) egenskaber. Det baktericide stof viste sig imidlertid senere ikke at være et egentligt molekylært antibiotikum, men hydrogenperoxid produceret af GOx-katalyseret O₂-oxidation af glucose:



Der foreligger nu, meget senere, tredimensionale GOx-strukturer, der viser, at GOx er en dimer (figur 1). GOx er specifikt katalysator for oxidation af β-D-glucose med et flavincenter (FAD) som aktivt site. GOx anvendes bredt i elektrokemiske og andre typer glucosesensorer til præcis og hurtig bestemmelse af glucose i blodsukker hos diabetespatienter. GOx anses som ”ideelt” biosensorenzym på grund af enzymets glucosespecificitet, høje stabilitet og enzymaktivitet [3]. Der findes

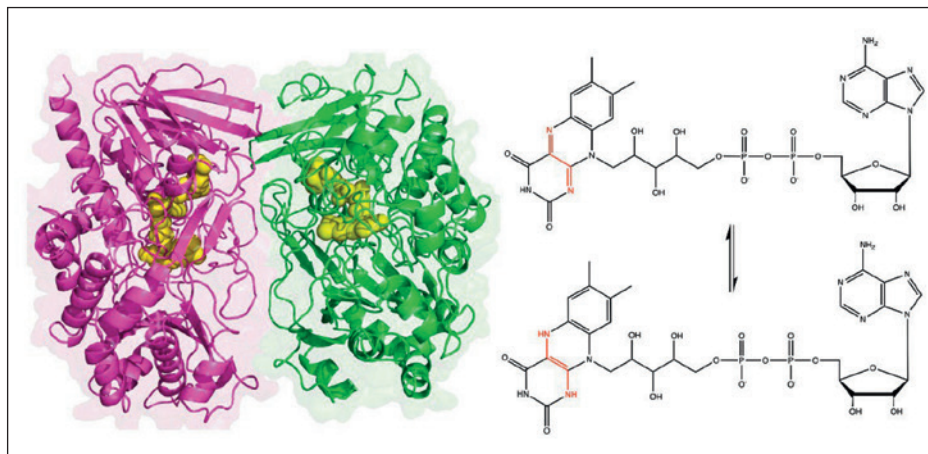
andre glucoseoxiderende enzymer, men GOx’s specificitet har gjort enzymet til det primære enzymvalg i kommercielle glucosebiosensorer. Med diabetes som en af verdens hyppigst forekommende dårligdomme vil GOx fortsat indtage en vital stilling i diabetesbehandlingen.

Detlev Müller og glucoseoxidase 1925-1929

Indtil for ikke så længe siden tilskrev det videnskabelige samfund Otto Warburg, Walter Christian, Vincent Massey og Hugo Theorell opdagelse, isolering, og karakterisering af det ”gule flavoenzym”, nu kendt som glucoseoxidase GOx, i de tidlige 1930’ere. Ingen af disse store navne synes at have kendt til Detlev Müllers opdagelse af GOx næsten ti år tidligere. I et nyligt arbejde har to af os søgt at vise, at kreditering for GOx’s opdagelse, isolering og første karakterisering rettelig tilkommer Detlev Müller [4].

Under sine fysiologiske studier af gær publicerede 26-årige Detlev Müller i 1925 en note omhandlende sin opdagelse af det nye enzym GOx i et ikke så udbredt tidsskrift [5]. Han udfældede GOx fra filtrat (”udpresset saft”) fra skimmelsvampen *Aspergillus niger* ved tilsætning af 2:1 (v/v) ethanol:ether. Efter tørring og opbevaring over CaCl₂ i ekssikator konstaterede han, at enzympulveret bevarede sin enzymaktivitet i månedsvis. Han fulgte enzymaktiviteten efter opløsning af pulveret i vand, absorption på filterpapir og overførsel til en glasbeholder med kviksølvmanometer. Tilsætning af glucose ledsagedes af O₂-forbrug og trykfald i manometeret. Samtidig faldt opløsningens pH fra 5,5-6,6 til omkring 4,0. I opfølgende studier, blandt andet af forholdet mellem forbrugt glucose og O₂, publiceret i 1928 i et meget bredere læst tidsskrift, *Biochemische Zeitschrift* [6], konkluderede Detlev Müller, at den producerede syre var gluconsyre, og at den enzymkatalyserede proces måtte være som i ligning (1). Figur 2 viser Detlev Müller i sit laboratorium i 1931 [7].

I 1929 viste Detlev Müller i endnu et



Figur 1. Til venstre: Tredimensional struktur af dimer af glucoseoxidase (PDB ID: 1GAL). Monomererne markeret i violet og grønt. Hver monomer indeholder en flavinadenindinucleotid-cofaktor (FAD) markeret i gult. Til højre: Øverst FAD i oxideret og nederst i reduceret form (FADH₂). GOx-katalyseret O₂-oxidation af glucose involverer protonkoblet elektronoverførsel (PCET) af to protoner (hydroner) og to elektroner.

Faktaboks 1: Enzymnomenklatur

Enzymer kan identificeres på flere måder, for eksempel kan deres struktur som proteiner beskrives, eller deres genetiske ophav i en organisme, der producerer dem, kan specificeres. En anden tankegang ligger til grund for *enzymnomenklatur*, som ikke er en navngivning af molekyllære strukturer som for eksempel i systematisk organisk-kemisk nomenklatur, men hvor den katalyserede reaktion opfattes som definerende for enzymet. Siden 1961 er enzymer klassificeret i IUBMB's database [24], ordnet med EC-numre (EC = Enzyme Committee) og for hvert enzym, ud over angivelse af reaktionen, forskellige navne (som ikke nødvendigvis anbefales) og nogle kildehenvisninger til litteratur og andre databaser. Posten EC 1.1.3.4 er et eksempel. Der er ikke en målsætning om en fuldstændig dokumentation af opdagelseshistorien eller enzymologien; specielt bemærkes, at Detlev Müller ikke figurerer i litteraturlisten. EC-numrene er en nyttig klassifikation i praksis, for eksempel i industriel patentering, da man grupperer forskellige proteiner, der katalyserer samme reaktion, uden at behøve at specificere alle proteinkemiske detaljer.

EC	1.1.3.4
Accepted name:	glucose oxidase
Reaction:	β -D-glucose + O ₂ = D-glucono-1,5-lactone + H ₂ O ₂
Other name(s):	glucose oxyhydrase; corylophyline; penatin; glucose aerodehydrogenase; microcid; β -D-glucose oxidase; D-glucose oxidase; D-glucose-1-oxidase; β -D-glucose:quinone oxidoreductase; glucose oxyhydrase; deoxin-1; GOD
Systematic name:	β -D-glucose:oxygen 1-oxidoreductase
Comments:	A flavoprotein (FAD).
References:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bentley, R. Glucose oxidase. In: Boyer, P.D., Lardy, H. and Myrbäck, K. (Eds.), <i>The Enzymes</i>, 2nd edn, vol. 7, Academic Press, New York, 1963, pp. 567-586. 2. Coulthard, C.E., Michaelis, R., Short, W.F., Sykes, G., Skrimshire, G.E.H., Standfast, A.F.B., Birkinshaw, J.H. and Raistick, H. Notatin: an anti-bacterial glucose-aerodehydrogenase from <i>Penicillium notatum</i> Westling and <i>Penicillium resticulosum</i> sp. nov. <i>Biochem. J.</i> 39 (1945) 24-36. [PMID: 16747849] 3. Keilin, D. and Hartree, E.F. Properties of glucose oxidase (notatin). <i>Biochem. J.</i> 42 (1948) 221-229. [PMID: 16748271] 4. Keilin, D. and Hartree, E.F. Specificity of glucose oxidase (notatin). <i>Biochem. J.</i> 50 (1952) 331-341. [PMID: 14915954]

[EC 1.1.3.4 created 1961]



Figur 2. Til venstre: 31-årige Detlev Müller i sit KVL-laboratorium 1931 [7]. Til venstre pressen til udpresning af GOx-holdig saft fra svampeprøverne, i midten glasbeholderen med kviksølvmanometer til at følge O₂-optagelse. Bagved morter og pistil til at støde svampeprøverne med sand og kiselgur inden udpresningen.

Til højre: Fra venstre til højre: Detlev Müller; rektor for Københavns Universitet, Erik Warburg; retsmediciner Knud Sand; og atomfysiker Niels Bohr. Fra mindefest i anledning af genetikeren Wilhelm Johannsens 100-års-dag den 3.2.1957 [8].

arbejde i *Biochemische Zeitschrift* [9], at enzymet var selektivt. Tilsætning af mannose, galactose, fructose, arabinose eller xylose i stedet for glucose gav langsommere eller intet O₂-trykfald. Optimal pH for hurtigst O₂-forbrug var pH 5,5-6,5. O₂-forbrugshastigheden voksede med stigende temperatur mellem 0°C og 30°C, for derefter at falde til nul ved 73°C. I samme arbejde beskrev Detlev Müller isolering af GOx-holdigt filtrat fra gærsvampen *Penicillium glaucum*.

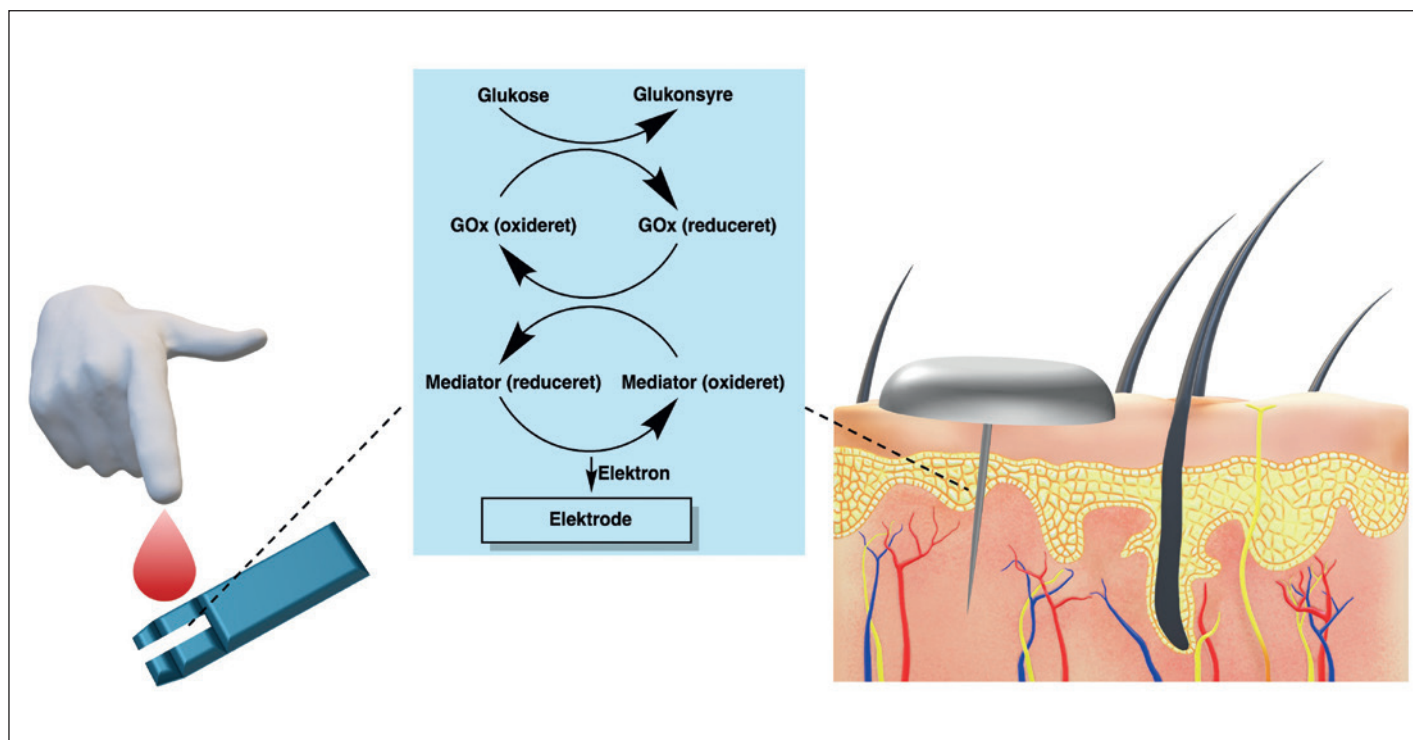
Detlev Müller havde gennem flere år "fingrene helt nede" i sine enzympræparater. Der kan ikke være tvivl om, at han har bemærket, at farven på hans pulvere og opløsninger var gul, men som botaniker har han måske ikke tillagt den gule farve tilstrækkelig betydning til at rapportere det. Som nævnt gik anerkendelsen af opdagelsen af det første "gule enzym" i stedet til Otto Warburg og Walter Christian [10-14]. Alle involverede mente, at det først rapporterede flavoenzym var "det gamle gule enzym" glucose-6-phosphat-dehydrogenase [14], som Hugo Theorell havde vist var et flavoenzym [12,13].

Detlev Müller fortsatte sit arbejde, blandt andet med opdagelse af enzymerne mannitoldehydrogenase og alkoholdehydrogenase. Han blev medicinsk æresdoktor ved Københavns Universitet i 1991 kort før sin død i en alder af 94 år i 1993 [15]. Kun få har været bekendt med, at det var Detlev Müller, der opdagede GOx som blot 26-årig og med ganske simpelt udstyr til rådighed.

Glucoseoxidases anvendelse i diabeteskontrol og andre glucoseassays

En "benchtop" elektrokemisk glucose-analysator blev første gang beskrevet i 1950'erne af L.C. Clark [16], som placerede GOx mellem en membran og en platinelektrode, der registrerer koncentrationen af dioxygen, og fandt, at glucosekoncentrationen er korreleret med forbrug af dioxygen, jf. ligning (1). Clark fulgte op med et benchtop-system, der registrerede koncentrationen af det producerede hydrogenperoxid. Dette instrument, markedsført af Yellow Spring Instruments, blev standardmetode i klinisk glucosekemi. Alle hospitaler, kliniske laboratorier og mange lægeklinikker i dag er udstyret med benchtop-glucoseanalysatorer baseret på venøst blod udtaget med nål og sprøjte.

Ambulante GOx-systemer indført i 1960'erne er nu den bredeste GOx-anvendelse, brugt af hundreder af millioner diabetespatienter verden over. De første systemer var ikke bærbare, men



Figur 3. Elektrokemisk måling af GOx-niveau. Til venstre GOx-stripelektrode; i midten skema for mediatorstyret glucoseoxidation; til højre subkutan indsat GOx-modificeret mikronål.

fysisk små nok til hjemmebrug. Glucose-koncentrationen i en bloddråbe bestemtes fotometrisk ved at følge oxidationen af et leucofarvestof med det frigjorte hydrogenperoxid, jf. ligning (1) [14,18].

Fra 1980'erne blev de farvebaserede assays erstattet af amperometriske assays, baseret på måling af elektrokemisk genereret strøm [14]. Fotometeret (vægt ca. 1 kg) kunne nu undværes, blodprøverne reduceres til mellem 3 og 10 μL , og systemet blev bekvemt bærbart i patienternes lommer. GOx's FADH_2 -reduktion af glucose ændredes fra to-elektronreduktion af O_2 til to konsekutive én-elektronoverførsler mellem enzymet og elektroden via såkaldte mediatorer, for eksempel derivater af ferrocen [bis(η^5 -cyclopentadienyl)jern] [17]. I 2000 var blodprøverne nede på 300 nL eller en ottendedel af en mygs blodindtag ved et myggestik. I et nyt assay ændredes amperometri, hvor glucose opbruges og strømmen ændres under målingen, til måling af elektrisk ladning proportional med totalmængden af glucose.

Et slags plaster til hudpåsætning med en subkutan planteret elektrokemisk enhed til kontinuert glucoseovervågning (CGM) (figur 3) blev indført i 2003. De første CGM-systemer var amperometriske, baseret på ligning (1), og krævede periodisk blodassay-kalibrering. FreeStyle Libre Flash fra Abbott Diabetes Care fra 2014 var det første blodfri fabrikskalibrerede system. Nutidige

CGM-systemer bevarer deres kalibrering i to uger efter implantering. Hudplasterets miniatursensor transmitterer den subkutane glucosekoncentration til patientens smartphone. FreeStyle Libre er verdens mest udbredte CGM-system, i 2024 anvendt af syv millioner diabetikere i 60 lande med en årlig stigning på mere end én million, i brugerantal det mest betydningsfulde medicinske hjælpemiddel nogensinde. I systemet indgår nye kemiske begreber [18], især GOx- FADH_2 -centrenes elektroniske kontakt ("wiring") til elektroden gennem en elektrisk ledende osmium($2+/3+$)-baseret hydrogel. Adskillelse af GOx fra den elektrisk ledende osmium-polymer forebygges ved elektrostatisk stabilisering, idet GOx er en polyanion ved fysiologisk pH og hydrogelens krydsknittede polymer er polykationisk.

De subkutane kontinuert glucoseovervågende sensorers brugervenlighed og prisvenlighed er under udbredelse, også til raske ikke-diabetiske mennesker, der kan have ønske om at kontrollere deres blodsukkerniveau (glykæmi) for at følge deres fysiske aktivitet, diæt, eller blot fordi de interesserer sig for helbredseffekter ved deres kost. Mobiltelefonforbundne hudplastre som Lingo og Abbott Diabetes Care markedsføres nu receptfrit i USA.

Glucoseoxidase i videnskab og undervisning
GOx indtager en høj status i videnska-

belig forskning og undervisning, ikke mindst afspejlet i antallet af videnskabelige publikationer omhandlende enzymet. Ifølge Scifinder Scholars database er der 16. februar 2025 registreret 9545 publikationer, patenter og andre dokumenter med "glucose oxidase" i titlen og ikke færre end 2 829 537 millioner dokumenter med nøgleordet "glucose oxidase". Samme dato viser Google Scholar-databasen 7040 artikler foruden patenter med "glucose oxidase" i titlen, og omkring 605000 artikler, der medtager citationer med disse søgeord.

Til trods for GOx's eksklusive status i ren og anvendt bioelektrokemi frembyder enzymet dog stadig udfordringer. Mediatorfri direkte elektronoverførsel (DET) mellem enzymets katalytiske center og elektroden ville være et stort skridt videre mod et "ideelt" enzym, men GOx's flavincentre, som skal forbindes direkte med elektrodeoverfladen, ligger alt for dybt inde i en proteinskal, til at elektroner kan tunnelleres igennem skallen. Der *er* rapporter om GOx-DET, men de skyldes formentlig mistolkede signaler fra frie FAD-grupper i utilstrækkeligt oprenset GOx. Det kan imidlertid ikke udelukkes, at bioteknologiens hurtige fremskridt, måske med brug af nye værktøjer som AI i proteindesign og -foldning, kan give håb om, at *enzyme engineering* snart kan frembringe et superideelt glucoseoxiderende enzym eller eventuelt et

mindre, men effektivt, GOx-lignende katalysatormolekyle.

Andre anvendelser af glucoseoxidase

Da glucoseoxidase katalyserer dannelsen af hydrogenperoxid fra glucose og dioxygen, er det naturligt at spørge, om enzymet kan nyttiggøres i processer, hvor der er luftadgang og behov for hydrogenperoxid. Siden forrige århundrede skifte har man tilsat forbindelser til tøjvaskemidler, som frigiver hydrogenperoxid under vaskeprocessen (natriumperborat og natriumpercarbonat [19-21]). På det tyske marked kom *Persil*, indeholdende *perborat* og *silicat*. Ved højt pH og høj temperatur virker hydrogenperoxid og (måske især) dets korroderende base blegende på en række af de farvede besmudsninger, der forekommer på vasketøj (for eksempel frugt- og bærfarver, rødvin, karry, kaffe og te). Kunne man spare tilsætningen af hydrogenperoxidkilden ved i stedet at tilsætte en oxidase og et substrat og udnytte luftens dioxygen til dannelse af hydrogenperoxid? Et grønt alternativ?

Der viste sig at være vanskeligheder: Som sagt var højt pH nødvendigt for tilfredsstillende peroxidblegning, men glucoseoxidases pH-optimum lå for lavt. Glucose var desuden ikke et vægteffektivt substrat; for at opnå de nødvendige cirka 10 mM hydrogenperoxid i vaskevæsken måtte bruges op mod 2 g glucose/L vaskevæske (10 mmol glucose = 1802 mg). De nævnte persalte var omtrent dobbelt så vægteffektive og meget billigere end et dyrt enzym, fremstillet ved en sofistikeret proces, hvor det også skulle undgås, at produktionsorganismen samtidig producerede catalase (hvilket den typisk ville gøre

for at beskytte sig selv). Det korte af en lang historie med mange industrielle forsøg på at få glucoseoxidase og andre oxidaser til at fungere i vaskeprocesser er, at det ikke er lykkedes i kommerciel skala. Detaljerne er diskuteret i [22]. Om anvendelse af andre oxidative enzymer til tekstilblegning, se [20].

Glucoseoxidasesystemet har til gengæld fundet en vis anvendelse i vin- og fødevarerindustrierne, hvor reaktionsbetingelserne er gunstigere. Et eksempel er forstærkning af gluten (ved oxidation med dannet hydrogenperoxid) i bageriindustrien [21,23], hvorved anvendelse af traditionelle kemikalier som bromat kan undgås. En fordel her har været, at substratet var naturligt til stede i dejmatricen. Andre områder er produktion af vin og saft, ost, og fødevarer til diabetikere. Interessant er det, at alle aspekter af den katalyserede reaktion finder anvendelse: fjernelse af dioxygen (uønsket ved oxidationsfølsomme fødevarer - her er det vigtigt også at fjerne den dannede hydrogenperoxid, typisk med catalase); eller netop udnyttelse af dannet hydrogenperoxids antimikrobielle effekt; fjernelse af glucose; og endelig udnyttelse af dannet gluconsyre (som har flere mulige funktioner, for eksempel surhedsregulering og kompleksdannelse). Se videre i [23].

En meget speciel, men særdeles raffineret proces, kan nævnes. Tandpasta af mærket *Zendium* indeholder et komplekst antimikrobielt system bestående af enzymerne amyloglycosidase, glucoseoxidase og lactoperoxidase, der virker sammen med substraterne amylose og thiocyanat. Amylose kan være tilsat tandpastaen eller hidrøre fra stivelsesrester i tænderne og spaltes af amyloglycosidase til glucose. Glucoseoxidase sørger så for dannelse af hydrogenperoxid, som under katalyse fra lactoperoxidase oxiderer thiocyanat (SCN^-) til det aktive antimikrobielle hypothiocyanit (OSCN^-), alt i alt en forstærkning af det naturligt forekommende antibakterielle system i spytt.

Oplysning om interesser: AH er Ernest Cockrell Sr. Chair Emeritus of Engineering, University of Texas at Austin. Sammen med sin søn Ephraim grundlagde han i 1996 virksomheden TheraSense, der blev overtaget af Abbott Laboratories 2004 og nu udgør hovedparten af Abbott Diabetes Care. Han er i dag konsulent for Abbott Diabetes Care.

E-mail:
Jens Ulstrup: ju@kemi.dtu.dk

Faktaboks 3

Detlev Müller (født 1899) blev mag. scient. i botanik og plantefysiologi 1923 og dr.phil. 1928 (disputats: *Et nyt Enzym - Glykose-oxydase - fra Skimmelsvampe*). Tidligt foretog han studierejser, til Bonn 1920 og Paris 1926, senere til mere eksotiske steder: Grønland 1927 og Cote d'Ivoire (Elfenbenskystens) tropiske regnskove (planters fotosyntese og respiration) i 1954, 1955 og 1957. Han var assistent ved Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole (KVL) 1923-26 og KVL's Plantefysiologiske Institut 1927-35, siden professor i plantefysiologi ved KVL 1935-1949 og Københavns Universitet 1949-1969. Han arbejdede desuden i sit lange virke i faglige bestyrelser, som lærebogsforfatter, redaktør af større videnskabelige værker m.m.

Referencer

1. Diamond, J. *Guns, Germs and Steel* 1997 [Vintage Publ., London].
2. Sun, H.; Saeedi, P.; Karuranga, S.; Pinkepank, M.; Ogurtsova, K.; Duncan, B.B.; Stein, C.; Basit, A.; Chan, J.C.N.; Mbanya, J.C.; et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2022**, *183*, 109119.
3. Wilson, R.; Turner A.P.F. Glucose oxidase: an ideal enzyme. *Biosensors and Bioelectronics*, **1992**, *7*, 165-185.
4. Heller, A.; Ulstrup, J. Detlev Müller's Discovery of Glucose Oxidase in 1925. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 7148-7149.
5. Müller, D. A new enzyme, glucoseoxidase, from *Aspergillus niger*. *Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles Aarskrift* (Copenhagen) **1925**, 329-31.
6. Müller, D. Studies on the new enzyme glucoseoxidase. I. *Biochem. Z.* **1928**, *199*, 136-70.
7. *Københavns Universitet 1479-1979*, vol. XIII (2), side 509-510 [Gad 1983]. Fotografiet stillet til rådighed af videnskabshistoriker Morten Fink-Jensen og naturvidenskabelig bibliotekar Christian Knudsen, begge Københavns Universitet. Fotografiet publiceret i 1979 ved universitetets 500-års jubilæum.
8. Detlev Müller: i: *Den Store Danske Encyklopædi*. Downloadet 25. februar 2025 fra: https://denstoredanske.lex.dk/Detlev_Müller. Fotograf: Christian Brandt.
9. Müller, D. A new enzyme, glucoxidase. II. *Biochem. Z.* **1929**, *205*, 111-43.
10. Warburg, O.; Christian, W. The yellow oxidizing enzyme. *Biochem. Z.* **1933**, *258*, 496-498.
11. Stott, K.; Saito, K.; Thiele, D.J.; Massey, V. Old Yellow Enzyme. The discovery of multiple isozymes and a family of related proteins. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268* (9), 6097-6106.
12. Theorell, H., Purification of the yellow respiratory enzyme and its reversible

Faktaboks 2

En biosensor består af en biologisk føler (sensor), der reagerer på et biologisk materiale og omsætter reaktionen til for eksempel et elektrisk signal. Selve den biologiske del af sensoren kan være enzymer, DNA, antistoffer eller hele mikroorganismer. De bedst kendte biosensorer er til elektrokemisk måling af glucose i blodet hos diabetikere. Den biologiske føler er her enzymet glucoseoxidase adsorberet på en elektrodeoverflade, hvor en redox-proces mellem enzym og glucose konverteres til elektrisk strøm, jf. figur 1 og 3.

- decomposition. *Biochem. Z.* **1934**, 272, 155-156.
13. Theorell, H. Quantitative irradiation experiments with the yellow enzyme, flavin phosphate and lactoflavin. *Biochem. Z.* **1935**, 279, 186-200.
14. Heller, A.; Feldman, B., Electrochemical Glucose Sensors and Their Applications in Diabetes Management. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2482-2505.
15. Schjørring, J.K. Detlev Müller i: *Den Store Danske Encyklopædi* lex.dk. Downloadet 25. februar 2025 fra https://denstoredanske.lex.dk/Detlev_Müller.
16. Clark, L.C. Monitor and Control of Blood and Tissue Oxygen Tensions. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **1956**, 2, 41-48.
17. Cass, A.E.G.; Davis, G.; Francis, G.D.; Hill, H.A.O.; Aston, W.J.; Higgins, I.J.; Plotkin, E.V.; Scott, L.D.L.; Turner, A.P.F. Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose, *Anal. Chem.* **1984**, 56, 667-671.
18. Heller, A.; Feldman, B. Electrochemistry in Diabetes Management. *Acc. Chem. Res.* **2010**, 43 (7), 963-973.
19. Damhus, T. Blegesystemer i vaskemidler, *Dansk Kemi* **2005**, 86 (10) 9-12.
20. Damhus, T. Fra vaskefiasko til tekstilsucces – en overraskende udvikling med en industriel oxidoreductase, *Kemi og klæ'r – Tekstilkemi i historisk perspektiv* **2011**, nr. 20 i serien Historisk-kemiske skrifter (Dansk Selskab for Historisk Kemi), side 167-176.
21. Lobedanz, S.; Damhus, T.; Borchert, T.V.; Hansen, T.T.; Lund, H.; Lai, W.; Lin, M.; Leclerc, M.; Kirk, O. Enzymes in Industrial Biotechnology. In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* **2016** [John Wiley & Sons, Inc]. <https://doi.org/10.1002/0471238961.0914042114090512.a01.pub3>.
22. Gormsen, E.; Marcussen, E.; Damhus, T. *Enzymes*, i M.S. Showell (Ed.): *Powdered Detergents, Surfactant Science Series* **1997**, 71 [Marcel Dekker], pp. 137-163.
23. Bauer, J.A.; Zámocká, M.; Majtán, J.; Vladena Bauerová-Hlinková, V. Glucose Oxidase, an Enzyme "Ferrari": Its Structure, Function, Production and Properties in the Light of Various Industrial and Biotechnological Applications. *Biomolecules* **2022**, 12 (3), 472-496. doi: 10.3390/biom12030472.
24. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology: ExplorEnz – the Enzyme Database*, <https://www.enzyme-database.org>.

Det gyldne mikrobiom: Tarmbakterier som kilde til det essentielle B-vitamin riboflavin

Riboflavin er et essentielt vitamin, der spiller en nøglerolle for vores sundhed samt for at opretholde et sundt tarmmikrobiom.



Figur 1. Det Gyldne Mikrobiom. På billedet ses kulturer med riboflavin-producerende *L. lactis*-bakterier, som lyser op i UV-lys på grund af riboflavin, som er fluorescerende.

Af Emmelie Joe Freudenberg Rasmussen, Christian Solem og Peter Ruhdal Jensen, DTU Fødevareinstituttet

Vores tarmmikrobiom består af billioner af mikroorganismer, som spiller en afgørende rolle for vores helbred. De hjælper os med at fordøje den mad, vi spiser, forhindrer sygdomsfremkaldende bakterier i at gøre os syge, og holder vores immunforsvar i form [1]. Tidligere blev bakterier ofte set som skadelige, men i dag ved vi, at de fleste af dem er gavnlige og nødvendige for vores sundhed. Nogle er for eksempel i stand til at producere det livsnødvendige vitamin riboflavin (vitamin B₂), noget som vi mennesker ikke selv er i stand til [2].

Riboflavin, som først blev opdaget i mælk i 1930 [3], findes i de fleste fødevarer, dog ikke altid i tilstrækkelige mængder. Riboflavin bruges til at lave de essentielle cofaktorer flavin-mono-nukleotid (FMN) og flavin-adenin-dinukleotid (FAD), som er nødvendige for, at vores metabolisme kan fungere [4], herunder omsætningen af kulhydrater, fedtstoffer og proteiner, samt for at vores celler kan håndtere oxidativt stress [5]. Derudover er riboflavin nødvendigt for, at levende organismer kan fremstille andre vigtige vitaminer, såsom B₃, B₆, B₉ [6] og B₁₂ [7].

Riboflavin i relation til tarmsygdomme

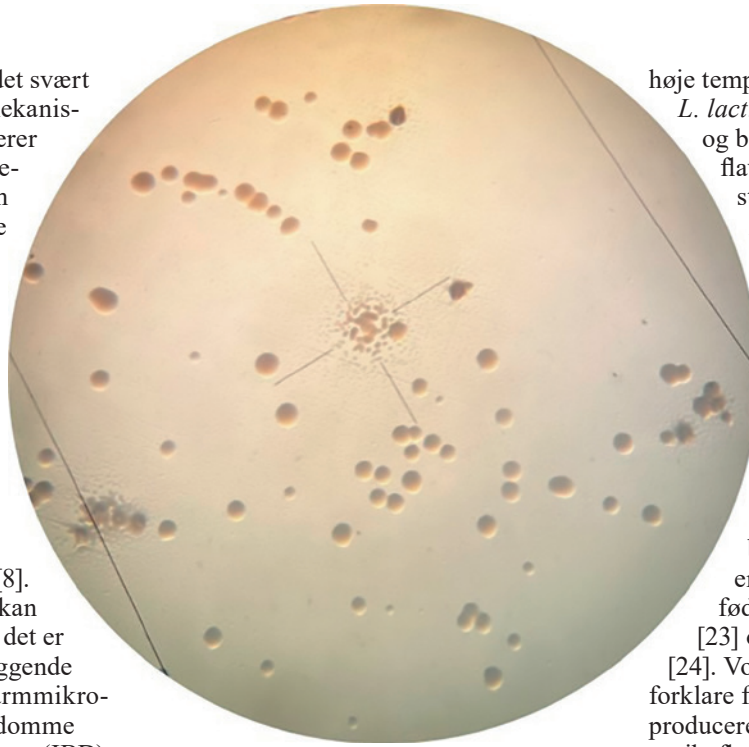
Kompleksiteten og diversiteten af det

humane tarmmikrobiom gør det svært at studere de underliggende mekanismer og interaktioner, der dikterer et sundt tarmmikrobiom. Generelt opfattes et tarmmikrobiom som sundt, hvis det kan hjælpe til med at fordøje den føde, vi indtager; deriblandt svært nedbrydelige plantefibre, og derigennem producere næringsstoffer til tarmens epitelceller og kroppen generelt. Derudover kan et sundt tarmmikrobiom hæmme uønsket vækst af sygdomsfremkaldende bakterier samt stimulere immunsystemet på en gavnlig måde [8]. Ubalance i tarmmikrobiomet kan have mange konsekvenser, og det er endnu uklart, hvad de underliggende årsager er [9]. En ubalance i tarmmikrobiomet er blevet koblet til sygdomme som inflammatorisk tarmsygdom (IBD) og irritabel tyktarm (IBS). I Danmark lever 58.000 med IBD [10], hvilket er det dobbelte af antallet af folk med type-1 diabetes. Omkring 1 million danskere lider af IBS [11].

Som led i udviklingen af behandlingsformer mod IBD er det blevet undersøgt, om riboflavin kunne have en gavnlig effekt. Forskning har vist, at et tilskud af riboflavin kan reducere betændelsestilstanden, som opstår i forbindelse med IBD [12,13]. Yderligere har man også set, at riboflavin-producerende mælkesyrebakterier kan forhindre tarmbeskadigelse i forbindelse med colitis, en form af IBD [14]. I forbindelse med diagnosticering af IBD-patienter har forskning også vist, at det kan påvirke sammensætningen af tarmmikrobiomet. Den essentielle antiinflammatoriske tarmbakterie *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*), der normalt udgør helt op til 15 procent af den totale bakteriepopulation i menneskets tarm, er reduceret betydeligt i IBD-patienter [15,16]. *F. prausnitzii* kan benytte riboflavin som en såkaldt elektrontransportør, der gavner dens metabolisme og øger dens tolerance overfor ilt [17], hvilket er vigtigt for dens trivsel i tarmen. Riboflavin er således nødvendig for, at *F. prausnitzii* kan trives i tarmen, hvilket delvist kan forklare den positive effekt, som riboflavin har på tarmens tilstand [18].

Mælkesyrebakterien *Lactococcus lactis* kan producere riboflavin effektivt

Mikrobiomforskning er i rivende udvikling, og der er særligt fokus på at øge



Figur 2. Screening efter riboflavin-producerende bakterier. Riboflavin-producerende bakterier blev identificeret på agarplader uden riboflavin tilsat. Overfladen af agarpladen er dækket med en såkaldt indikatorbakterie, der kun kan vokse i tilstedeværelse af riboflavin. Krydset indikerer en riboflavin-udskillende bakterie, som stimulerer væksten af indikatorbakterien.

forståelsen mellem mikrobiomet og forekomsten af forskellige sygdomme. Et af de væsentligste mål er at finde løsninger, der kan helbrede forskellige tarmrelaterede sygdomme. I dag er det muligt at undersøge tarmbakteriers DNA og delvist forudsige, hvordan de fungerer og hvilke nyttige og unyttige metabolitter, de i princippet kan producere. Det er dog på nuværende tidspunkt ikke en 100 procent præcis videnskab, og det er nødvendigt at lave opfølgende forsøg for at afklare, hvordan det forholder sig i praksis [19]. En bedre forståelse på dette område vil hjælpe med at klarlægge, hvordan bakterier overlever og tilpasser sig skiftende miljøforhold, da miljøet i tarmen varierer meget [20].

Tæt på tarmvæggen er der en smule ilt til stede, som kan være en udfordring for nogle tarmbakterier, som generelt er iltfølsomme.

Vi har tidligere fundet, at mælkesyrebakterien *Lactococcus lactis* (*L. lactis*), som også forekommer i tarmen, bliver følsom overfor ilt ved høje temperaturer. Da *L. lactis* er en velstuderet bakterie, som vokser fint i laboratoriet [21], besluttede vi at benytte denne som modelorganisme for at studere effekten af ilt på bakteriernes metabolisme. Ved

høje temperaturer observerede vi, at *L. lactis* muterede med høj frekvens og begyndte at producere riboflavin. Denne overproduktion viste, at riboflavin kunne beskytte *L. lactis* imod varmeinduceret oxidativt stress.

Opdagelsen fremhæver, at riboflavin har et potentiale til at forbedre bakteriens tilpasningsevne og modstandsdygtighed under forskellige stressforhold. Naturligt forekommende riboflavin-overproducerende mælkesyrebakterier er blevet beskrevet tidligere, hvor nogle er isoleret fra fermenterede fødevarer [22], andre fra tarmen [23] og det vaginale mikrobiom [24]. Vores forskning kan således forklare forekomsten af disse riboflavin-producerende bakterier, og indikerer, at riboflavin-producerende mikroorganismer kunne spille en vigtig rolle i komplekse miljøer som tarmen.

Da riboflavin er et essentielt vitamin for mennesker, giver det god mening at berige fødevarer, der har et lavt naturligt forekommende riboflavin-indhold med dette vitamin. Det er tidligere vist, at man kan få mælkesyrebakterier til at producere riboflavin ved genetisk modifikation (GMO). GMO-mikroorganismer er dog ikke fødevareregodkendte. Situationen er helt anderledes for mælkesyrebakterier, der er blevet ændret ved hjælp af en varmepåvirkning. Disse anses for at være naturlige og er derfor godkendte til brug i fødevarer. Derfor har vi undersøgt, om de riboflavin-producerende *L. lactis* som vi har isoleret, kan anvendes til netop dette formål. Vores forsøg viste, at de effektivt kunne berige forskellige fødevarer med riboflavin, for eksempel forskellige plantebaserede drikke, som i dag tilsættes oprenset riboflavin produceret af mikroorganismer, som ikke er fødevareregodkendte.

Bakteriebaserede terapier – er det fremtiden?

Tarmsygdomme er desværre på en opadgående kurve og kandidater til at blive en folkesygdom med alvorlige implikationer for folkesundheden. Kronisk inflammation og ubalance i kroppen kan være dødelig på sigt. Vi ved dog, at en høj biodiversitet i tarmmikrobiomet giver os bedre muligheder for at bekæmpe sygdomme, da vi har flere forskellige mikroorganismer at gøre godt med. Bakterierne i vores tarme fungerer som en form for ekstra organ, der kan producere en masse gavnlig nærings-

stoffer. Sammensætningen af mikrobiomet varierer dog fra person til person og derved også effektiviteten af dette organ. Her er det især vigtigt, at mikrobiomet kan producere tilstrækkelige mængder af de essentielle vitaminer, som vores krop har brug for.

Mikrobiomforskning er eksploderet siden 2010, hvor et af de første genkataloger af det humane mikrobiom blev lavet [25]. Sidenhen har studier verden over identificeret korrelationer mellem tarmmikrobiomets specifikke sammensætning og sygdomme som IBD. Her kom en stor forståelse for, at der findes et komplekst sammenspil mellem mikroorganismer i tarmen, som er essentielt for, at de gror og trives. Man har også fået en forståelse for, at man potentielt kan udvikle mikrobielle konsortier, der kan benyttes til at behandle forskellige sygdomme (bakteriebaserede terapier). Her er det vigtigt at kunne belyse årsagssammenhænge og nøje undersøge, hvordan interaktioner mellem mikroorganismer, og mellem mikroorganismer og værten påvirker sundhedstilstanden generelt.

I fremtiden er det sandsynligt, at man bliver i stand til at kunne forudsige disse interaktioner nøjagtigt ved at kigge på mikroorganismernes DNA og udføre mekanistiske eksperimenter. Derved vil man kunne forstå effekten af de konkrete miljøfaktorer, hvilket vil føre til, at man bedre kan kontrollere sammensætningen af mikrobiomet og derved opnå en bedre sundhedstilstand.

Denne forskning er støttet af Danmarks Frie Forskningsfond (DFF), Teknologi og Produktion [Bevillingsnummer 2035-00059B].

E-mail:

Christian Solem: chso@food.dtu.dk

Peter Ruhdal Jensen: perj@food.dtu.dk

Referencer

- Hou, K.; Wu, Z.X.; Chen, X.Y.; Wang, J.Q.; Zhang, D.; Xiao, C.; Zhu, D.; Koya, J.B.; Wei, L.; Li, J.; Chen, Z.S. Microbiota in Health and Diseases. *Signal Transduct Target Ther* **2022**, *7* (1). <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>.
- LeBlanc, J.G.; Milani, C.; de Giori, G.S.; Sesma, F.; van Sinderen, D.; Ventura, M. Bacteria as Vitamin Suppliers to Their Host: A Gut Microbiota Perspective. *Curr Opin Biotechnol* **2013**, *24* (2), 160-168. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.005>.
- Northrop-Clewes, C.A.; Thurnham, D.I. The Discovery and Characterization of Riboflavin. *Ann Nutr Metab* **2012**, *61* (3), 224-230. <https://doi.org/10.1159/000343111>.
- Leblanc, J.G.; Laiño, J.E.; del Valle, M.J.; Vannini, V.; van Sinderen, D.; Taranto, M.P.; de Valdez, G.F.; de Giori, G.S.; Sesma, F. B-Group Vitamin Production by Lactic Acid Bacteria - Current Knowledge and Potential Applications. *J Appl Microbiol* **2011**, *111* (6), 1297-1309. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05157.x>.
- Ashoori, M.; Saedisomeolia, A. Riboflavin (Vitamin B2) and Oxidative Stress: A Review. *British Journal of Nutrition* **2014**, *111* (11). <https://doi.org/10.1017/S0007114514000178>.
- Saedisomeolia, A.; Ashoori, M. Riboflavin in Human Health: A Review of Current Evidences. *Adv Food Nutr Res* **2018**, *83*, 81. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2017.11.002>.
- Powers, H.J. Riboflavin (Vitamin B-2) and Health. *American Journal of Clinical Nutrition* **2003**, *77* (6). <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.6.1352>.
- Dominguez-Bello, M.G.; Godoy-Vitorino, F.; Knight, R.; Blaser, M.J. Role of the Microbiome in Human Development. *Gut* **2019**, *68* (6), 1108-1114. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-317503>.
- Das, B.; Nair, G.B. Homeostasis and Dysbiosis of the Gut Microbiome in Health and Disease. *J Biosci* **2019**, *44* (5). <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9926-y>.
- Larsen, L.; Karachalia Sandri, A.; Fallingborg, J.; Jacobsen, B.A.; Jacobsen, H.A.; Bøgested, M.; Drewes, A.M.; Jess, T. Has the Incidence of Inflammatory Bowel Disease Peaked? Evidence from the Population-Based NordIBD Cohort 1978-2020. *American Journal of Gastroenterology* **2023**, *118* (3), 501-510. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000002187>.
- Burisch, J.; Knudsen, T.; Krogsgaard, L.R.; Møller, L.F.; Petersen, A.M.; Rosendal, M. *Op Mod 1 Million Danske Lever Kroniske Tarmsygdomme*.
- Von Martels, J.Z.H.; Bourgonje, A.R.; Klaassen, M.A.Y.; Alkhalifah, H.A.A.; Sadaghian Sadabad, M.; Vich Vila, A.; Gacesa, R.; Gabriëls, R.Y.; Steinert, R.E.; Jansen, B.H.; Bulthuis, M.L.C.; Van Dulleman, H.M.; Visschedijk, M.C.; Festen, E.A.M.; Weersma, R.K.; De Vos, P.; Van Goor, H.; Faber, K.N.; Harmsen, H.J.M.; Dijkstra, G. Riboflavin Supplementation in Patients with Crohn's Disease [the RISE-UP Study]. *J Crohns Colitis* **2020**, *14* (5), 595-607. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjz208>.
- Liu, L.; Sadaghian Sadabad, M.; Gabarrini, G.; Lisotto, P.; Von Martels, J.Z.H.; Wardill, H.R.; Dijkstra, G.; Steinert, R.E.; Harmsen, H.J.M. Riboflavin Supplementation Promotes Bifidobacterium Production in the Absence of Gross Compositional Changes in the Gut Microbiota. *Antioxid Redox Signal* **2023**, *38* (4), 282-297. <https://doi.org/10.1089/ars.2022.0033>.
- Levit, R.; Savoy de Giori, G.; de Moreno de LeBlanc, A.; LeBlanc, J.G. Effect of Riboflavin-Producing Bacteria against Chemically Induced Colitis in Mice. *J Appl Microbiol* **2018**, *124* (1), 232-240. <https://doi.org/10.1111/jam.13622>.
- Sokol, H.; né dicte Pigneur, B.; Watterlot, L.; Lakhdari, O.; Bermú dez-Humará, L.G.; Grataudoux, J.-J.; bastien Blugeon, S.; Bridonneau, C.; Furet, J.-P.; rard Corthier, G.; Grangette, C.; Vasquez, N.; Pochart, P.; Trugnan, G.; Thomas, G.; Blottière, H.M.; Doré, J.; Marteau, P.; Seksik, P.; Langella, P. Faecalibacterium Prausnitzii Is an Anti-Inflammatory Commensal Bacterium Identified by Gut Microbiota Analysis of Crohn Disease Patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2008**, *105* (43), 16731-16736. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804812105>.
- Fitzgerald, C.B.; Shkoporov, A.N.; Sutton, T.D.S.; Chaplin, A.V.; Velayudhan, V.; Ross, R.P.; Hill, C. Comparative Analysis of Faecalibacterium Prausnitzii Genomes Shows a High Level of Genome Plasticity and Warrants Separation into New Species-Level Taxa. *BMC Genomics* **2018**, *19* (1). <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5313-6>.
- Khan, M.T.; Browne, W.R.; Van Dijk, J.M.; Harmsen, H.J.M. How Can Faecalibacterium Prausnitzii Employ Riboflavin for Extracellular Electron Transfer? *Antioxid Redox Signal* **2012**, *17* (10), 1433-1440. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4701>.
- Khan, M.T.; Duncan, S.H.; Stams, A.J.M.; Van Dijk, J.M.; Flint, H.J.; Harmsen, H.J.M. The Gut Anaerobe Faecalibacterium Prausnitzii Uses an Extracellular Electron Shuttle to Grow at Oxic-Anoxic Interphases. *ISME Journal* **2012**, *6* (8), 1578-1585. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.5>.
- Walker, A.W.; Hoyle, L. Human Microbiome Myths and Misconceptions. *Nat Microbiol* **2023**, *8* (8), 1392-1396. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01426-7>.
- Sinha, A.K.; Laursen, M.F.; Licht, T.R. Regulation of Microbial Gene Expression: The Key to Understanding Our Gut Microbiome. *Trends Microbiol* **2024**. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2024.07.005>.
- Neves, A.R.; Pool, W.A.; Kok, J.; Kuipers, O.P.; Santos, H. Overview on Sugar Metabolism and Its Control in Lactococcus Lactis - The Input from in Vivo NMR. *FEMS Microbiology Reviews*. Elsevier **2005**, pp 531-554. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.005>.
- Ge, Y.Y.; Zhang, J.R.; Corke, H.; Gan, R.Y. Screening and Spontaneous Mutation of Pickle-Derived Lactobacillus Plantarum with Overproduction of Riboflavin, Related Mechanism, and Food Application. *Foods* **2020**, *9* (1). <https://doi.org/10.3390/foods9010088>.
- Solopova, A.; Bottacini, F.; Venturi degli Esposti, E.; Amaretti, A.; Raimondi, S.; Rossi, M.; van Sinderen, D. Riboflavin Biosynthesis and Overproduction by a Derivative of the Human Gut Commensal Bifidobacterium Longum Subsp. Infantis ATCC 15697. *Front Microbiol* **2020**, *11*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.573335>.
- Spacova, I.; Ahannach, S.; Breynaert, A.; Erreygers, I.; Wittouck, S.; Bron, P.A.; Van Beeck, W.; Eilers, T.; Alloul, A.; Blansaer, N.; Vlaeminck, S.E.; Hermans, N.; Lebeer, S. Spontaneous Riboflavin-Overproducing Limosilactobacillus Reuteri for Biofortification of Fermented Foods. *Front Nutr* **2022**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.916607>.
- Qin, J.; Li, R.; Raes, J.; Arumugam, M.; Burgdorf, K.S.; Manichanh, C.; Nielsen, T.; Pons, N.; Levenez, F.; Yamada, T.; Mende, D.R.; Li, J.; Xu, J.; Li, S.; Li, D.; Cao, J.; Wang, B.; Liang, H.; Zheng, H.; Xie, Y.; Tap, J.; Lepage, P.; Bertalan, M.; Batto, J.M.; Hansen, T.; Le Paslier, D.; Linneberg, A.; Nielsen, H.B.; Pelletier, E.; Renault, P.; Sicheritz-Ponten, T.; Turner, K.; Zhu, H.; Yu, C.; Li, S.; Jian, M.; Zhou, Y.; Li, Y.; Zhang, X.; Li, S.; Qin, N.; Yang, H.; Wang, J.; Brunak, S.; Doré, J.; Guarnier, F.; Kristiansen, K.; Pedersen, O.; Parkhill, J.; Weissenbach, J.; Bork, P.; Ehrlich, S.D.; Wang, J.; Antolin, M.; Artigunave, F.; Blottiere, H.; Borruel, N.; Bruls, T.; Casellas, F.; Chervaux, C.; Cultrone, A.; Delorme, C.; Denariar, G.; Dervyn, R.; Forte, M.; Friss, C.; Van De Guchte, M.; Guedon, E.; Haimet, F.; Jamet, A.; Juste, C.; Kaci, G.; Kleerebezem, M.; Knol, J.; Kristensen, M.; Layec, S.; Le Roux, K.; Leclerc, M.; Maguin, E.; Melo Minardi, R.; Oozeer, R.; Rescigno, M.; Sanchez, N.; Tims, S.; Torrejon, T.; Varela, E.; De Vos, W.; Winogradsky, Y.; Zoetendal, E. A Human Gut Microbial Gene Catalogue Established by Metagenomic Sequencing. *Nature* **2010**, *464* (7285), 59-65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>.

Vælg bælg

Bælgfrugter kan blive en vigtig komponent i en mere plantebaseret kost, men vi har stadig begrænset viden om deres indhold af metabolitter.



Foto: Wikimedia

Af Hanne Christine Bertram¹,
Eva Brauner Sørensen² og
Margit Dall Aaslyng³

¹ Institut for Fødevarer, Aarhus Universitet

² SEGES Innovation

³ Professionshøjskolen Absalon

Foranlediget af den grønne omstilling har der i de seneste år været stigende fokus på at reducere indtaget af animalske fødevarer og erstatte dem med plantebaserede fødevarer. I denne omstilling til en mere plantebaseret kost lyder Fødevarestyrelsens anbefalinger, at vi bør øge vores indtag af bælgfrugter. Dette skyldes især, at bælgfrugter har et højt proteinindhold, og netop et tilstrækkeligt proteinindtag er en af de ernæringsmæssige udfordringer ved en mere plantebaseret kost.

Fordi det er sundt

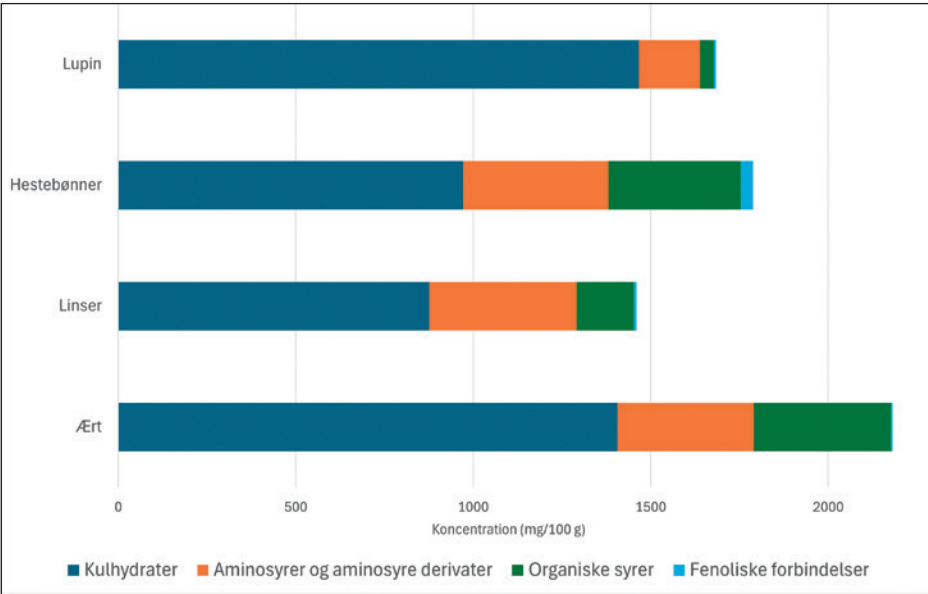
Udover at være gode proteinkilder, ser det også ud til, at indtag af bælgfrugter er forbundet med flere sundhedsgavnlige effekter. Epidemiologiske studier finder således en sammenhæng mellem et højt indtag af bælgfrugter og en reduktion af risikomarkører for hjerte-kar-sygdomme [1]. En stigning i indtaget af bælgfrugter fra 0 til 100 gram om dagen er blevet anslået til at kunne reducere dødeligheden [2] og øge den forventede levetid med cirka 1 år for voksne i alderen 30 til 50 år [3].

På trods af disse attraktive effekter i form af sundhedsmæssige fordele ved vi i øjeblikket forholdsvis lidt om, hvorvidt forskellige typer af bælgfrugter varierer i deres sundhedsfremmende potentiale. Inden for hver type

af bælgfrugt er der desuden genetisk forskellige sorter, som bringer yderligere kompleksitet i dechifreringsring af deres biofunktionalitet. Ud over at have et højt proteinindhold, tilfører bælgfrugter også komplekse kulhydrater, fibre og adskillige mikronæringsstoffer til kosten, og de er generelt lave i fedtindhold. Selvom disse egenskaber bidrager til at gøre bælgfrugter til nærende og attraktive fødevarer, skal deres sundhedsfremmende potentiale formentlig også tilskrives deres indhold af lavmolekylære metabolitter og bioaktive forbindelser [4]. Imidlertid er vores viden om indholdet af små forbindelser og metabolitter i forskellige typer af bælgplanter sparsom og begrænset.

Art	Sort	Producent	Frøfarve
Ært (<i>Pisum sativum</i> L.)	Maplus	Nordic Seed	Brun marmoreret
	Octavia	Nordic seed	Grønlig
	Ingrid	Lantmännen SW Seed AB	Gul
	Orchestra	RAGT 2N	Gul
	NOS Impact	Nordic Seed	Gul
Linse (<i>Lens culinaris</i>)	Red Flash	Ukendt	Mørkerød
	Klaus	Ukendt	Grøn
	Anicia	Agri Obtentions SA	Mørkegrøn/sort
Hestebønne (<i>Vicia faba</i>)	Lynx	NPZ	Lys brun
	Notilus	Agri Obtentions	Brun
	Bolivia	NPZ	Brun
Smalbladet lupin (<i>Lupinus Angustifolius</i>)	SM Orion	Hodowla Rolin Smolice Sp. z o. o. IHAR Group	Lys grøn marmoreret
	Primadonna	Nordic Seed	Beige
	Primabella	Nordic Seed	Lys brun marmoreret

Tabel 1. Oversigt over arter og sorter af bælgfrugter inkluderet i studiet.



Figur 1. Samlede koncentrationer af de kemiske klasser bestående af kulhydrater, aminosyrer/aminosyrederivater, organiske syrer og fenoliske forbindelser i lupin, hestebønner, linser og ært bestemt ved proton NMR-spektroskopi.

Metabolomics
åbner den sorte boks

I projektet *Dansk Bælg*, støttet af GUDP, gennemførte vi derfor et studie med henblik på at karakterisere indholdet af metabolitter i forskellige typer af ærter, linser, hestebønner og lupiner [5]. Til dette formål introducerede vi metabolomics. Målet med metabolomics er i princippet at kortlægge samtlige metabolitter i en given prøve, men da ingen analytiske teknikker formår dette, indebærer metabolomics i realiteten at kortlægge en så bred skare af metabolitter som muligt.

En af de etablerede analytiske teknikker inden for metabolomics er kerne-magnetisk resonans (NMR) spektroskopi, der byder på høj reproducerbarhed. Derudover kan forskellige typer af NMR-eksperimenter facilitere en relativ nem identifikation af metabolitter. I komplekse, biologiske prøver gør proton NMR-spektroskopi det typisk muligt at detektere omkring 50-100 metabolitter i en enkelt prøve. Et væsentligt fortrin ved NMR-spektroskopiske analyser er, at de ofte eksekveres med minimal prøveforberedelse, hvorved risikoen for at ændre på prøvens egenskaber minime-

res. Desuden har NMR-spektroskopi den fordel, at det er en kvantitativ metode, der ikke kræver analytiske kalibreringskurver eller flere forskellige standarder, som mange andre analytiske metoder gør.

Endelig er proton NMR-spektroskopi en ikke-selektiv teknik, og i princippet vil alle lavmolekylære protonholdige metabolitter kunne detekteres. Dette er særlig nyttigt, når ens prøve udgør en "sort boks", dvs. at man ikke på forhånd har kendskab til, hvilke metabolitter man skal lede efter. Og det var nogenlunde situationen, da vi skulle analysere vores bælgfrugter.

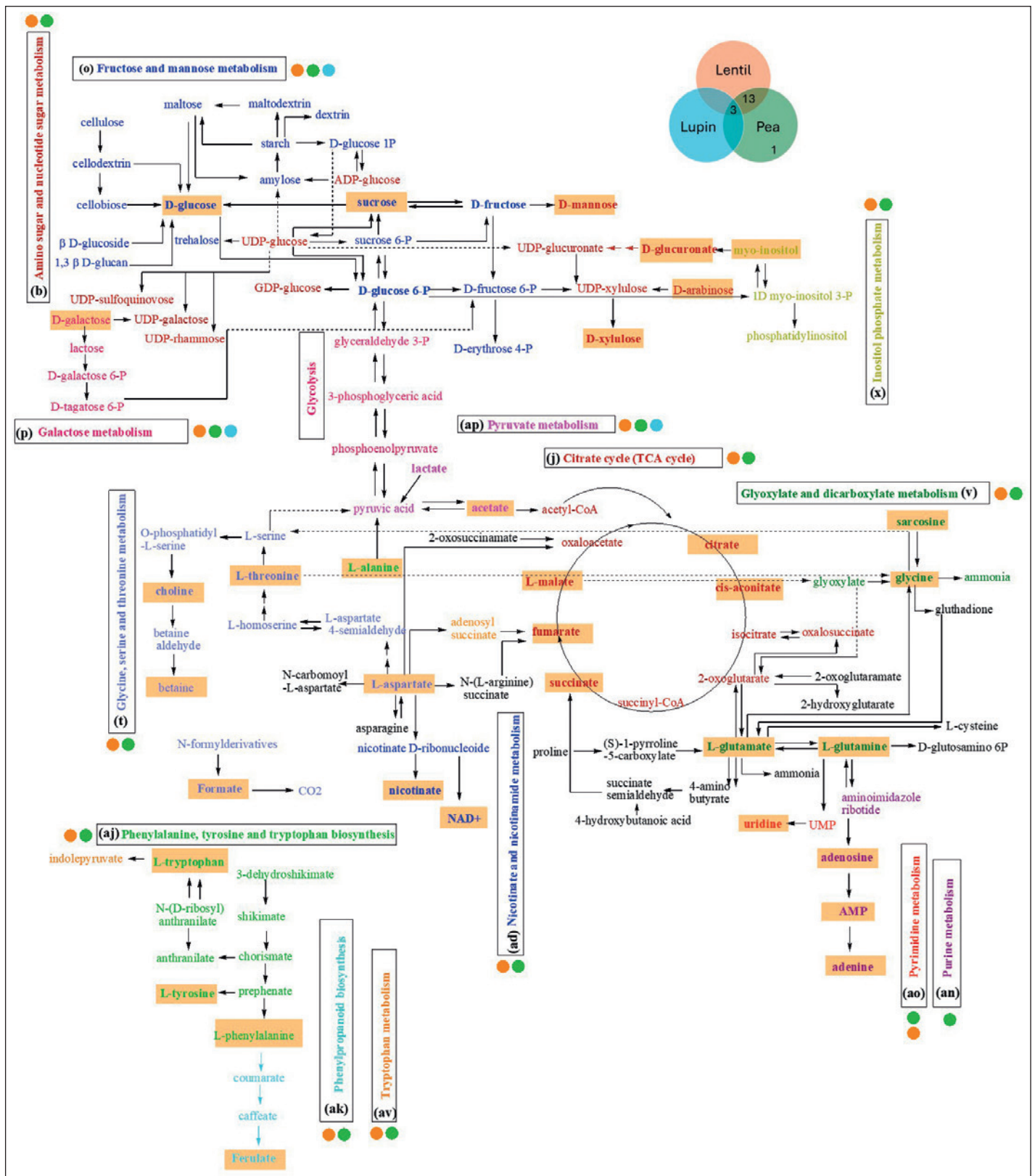
Udvalgte arter og
sorter af bælgplanter

Vores studie inkluderede i alt 14 sorter af bælgfrugter: ærter (i alt fem sorter), linser (i alt tre sorter), hestebønner (i alt tre sorter) og lupiner (i alt tre sorter) fra afgrødesæsonen 2023; en oversigt over sorterne er præsenteret i tabel 1. Prøverne af bælgfrugter til studiet blev doneret af Dava Foods A/S. Når vi udvalgte disse bælgplanter, hænger det sammen med, at ærter, hestebønner, lupiner og linser anses for at være de arter af bælgplanter, der egner sig bedst til dyrkning under danske forhold. Sorterne af hver art blev udvalgt baseret på deres markante forskelle i genotype såvel som fænotype, hvilket også giver variationer i de sensoriske og funktionelle egenskaber fra et gastronomisk synspunkt.

NMR-analyser med
minimal prøveforberedelse

For at undgå at ændre på prøvernes egenskaber, gennemførte vi analyserne under anvendelse af minimal prøveforberedelse. De tørrede frø fra bælgplanterne blev finmalet ved at anvende en laboratoriemølle (Retsch ZM 200 Retsch, Haan, Tyskland). Cirka

Nærværende studie blev gennemført som en del af projektet Dansk Bælg. Dansk Bælg er et treårigt projekt finansieret af GUDP (Grønne Udvikling- og Demonstrationsprojekter) under Fødevareministeriet. Følgende partnere deltager i projektet: Professionshøjskolen Absalon (projektleder), Københavns Universitet, Aarhus Universitet, SEGES Innovation P/S, Dava Foods A/S, Konsulentfirmaet Grønning og Kjærgaard samt Compass Group Danmark.



Figur 2. Resultater fra metabolisk pathway-analyse. Skitsen viser forskelle for sortssammenligning inden for hver type bælg, herunder linser (orange), ærter (grøn) og lupin (blå). (Der blev ikke identificeret nogen signifikante pathways for hestebønne). Venn-diagrammet angiver mængden af fælles pathways blandt bælgfrugterne. Metabolitter med orange baggrund repræsenterer de kvantificerede metabolitter, der er relevante for de identificerede pathways. Figuren er gendtrykt fra Correia et al. 2025, Food Chemistry under CC 4.0 licens.

400 mg mel blev derefter ekstraheret med en blanding af metanol og vand (1:1, v/v), og efter centrifugering blev supernatant tørret under vakuum ved 40°C (SpeedVac-udstyr). Herefter blev

det tørre ekstrakt opløst i en deutereret bufferopløsning, og efter tilsætning af 3-(trimethylsilyl) propionsyre-2,2,3,3-natriumsalt (TSP), der fungerer som kemisk skift reference, blev proton

NMR-spektroskopiske analyser gennemført på et 600 MHz NMR-spektrometer. Proton NMR-spektroskopi resulterede i detektion og identifikation af 12 forskellige kemiske klasser, her-

under frie aminosyrer, organiske syrer, kulhydrater og fenoliske forbindelser fordelt i de kemiske klasser, der repræsenterer benzenoider, fenypropanoider og polyketider. I alt 72 forskellige metabolitter blev identificeret fra proton NMR-spektrene.

Variationer inden for arter og sorter

Kulhydrater var den kemiske klasse, der udgjorde den højeste samlede koncentration i alle arter af bælgplanterne (figur 1, side 28). I alt blev ni forskellige sukkerarter identificeret, hvoraf sukrose forekom i højeste koncentration i alle arter og sorter. En undersøgelse af, hvilke metabolitter der varierede mest blandt arterne, viste, at der var særligt markante forskelle i indholdet af frie aminosyrer, organiske syrer og fenoliske forbindelser. Generelt havde lupiner et lavere indhold af frie aminosyrer og organiske syrer end ært, hestebønner og linser. Især sås et markant lavere indhold af den organiske syre citronsyre i lupiner end i de øvrige bælgfrugter. Hestebønner skilte sig derimod ud ved at have et betydeligt højere indhold af fenoliske forbindelser sammenlignet med de øvrige arter af bælgplanter (figur 1).

Adskillige metabolitter blev fundet at være til stede i signifikant forskellige

koncentrationer, både mellem arter og mellem sorter inden for samme art. Med henblik på at belyse forskellene mellem sorterne inden for art nærmere, udførte vi en metabolisk pathway-analyse baseret på værdierne for de 72 detekterede metabolitter. Denne analyse afslørede, at de detekterede metabolitter kunne forbindes med 54 forskellige metaboliske pathways, og der var flest variationer mellem sorter inden for samme art af ært og linser. Modsat blev der ikke fundet signifikante forskelle i nogen metaboliske pathways for de forskellige sorter af hestebønner, afprøvet i dette studie. Figur 2, side 29, viser en oversigt over metaboliske pathways, hvor der blev fundet variationer mellem sorter med angivelse af inden for hvilken art, forskellene var signifikante.

Konklusion

En effektiv protokol med NMR-spektroskopi som det analytiske værktøj, og baseret på minimal prøveforberedelse til at karakterisere metabolitsammensætningen af frø fra en række bælgplanter blev udviklet i nærværende studie. Så vidt vi ved, er dette den første NMR-spektroskopiske undersøgelse udført på en række af forskellige arter og sorter af bælgplanter. Vi har formået at rapportere den proton NMR-spektrale tilordning af 72 polære lavmolekylære metabolit-

ter. Vores fremtidige aktiviteter i projektet *Dansk Bælg*, som nærværende studie er en del af, vil nu fokusere på at opnå viden om, hvilken betydning disse metabolitter har for bælgfrugternes smag, samt funktionelle og sundhedsmæssige egenskaber.

E-mail:

Hanne Christine Bertram:

hannec.bertram@food.au.dk

Referencer

1. Torheim, L.E. & Fadnes, L.T., 2024. Legumes and pulses - a scoping review for Nordic Nutrition Recommendations 2023. *Food Nutr Res*, Volume 68.
2. Schwingshackl, L. et al., 2017. Food groups and risk of all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr*, 105(6), pp. 1462-1473.
3. Fadnes, L.T., Økland, J.-M., Haaland, O.A. & Johansson, K.A., 2022. Estimating impact of food choices on life expectancy: A modeling study. *PLoS Med*, 19(2), e1003889.
4. Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G. & Oomah, B.D., 2010. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43(2), pp. 461-482.
5. Correia, B.S.B., Sørensen, E.B., Aaslyng, M.D., Bertram, H.C. 2025. Metabolome of different cultivars of peas, lentils, faba beans and lupins – An 1H NMR spectroscopic exploration of their sensory attributes and potential biofunctionality. *Food Chemistry*, 447, e143579.



HUSK

Dansk Kemi kan også læses online

Få besked hver gang en ny udgave er tilgængelig.

Tilmeld dig og læs bladet på TechMedia.dk

Nyttig viden fra TechMedia

Program for Kemisk Forenings Årsmøde 2025

Dato: 19. juni 2025

Sted: Mærsk Tårnet, Københavns Universitet (KU)

09.30-10.00

Registrering og velkomst

10.00-10.50

Plenary Lecture

Professor Sabine L. Flitsch

University of Manchester, UK

11.00-11.50

Plenary Lecture

Professor Sophie Beeren

DTU Kemi

12.00-12.45

Frokost og Poster Session

12.45-14.15 – Parallelsessioner

**Division for Organisk Kemi og Dansk Selskab
for Medicinalkemi og Kemisk Biologi**

12.45-13.15: **Craig Day, KU**

13.15-13.45: **Søren Kramer, DTU**

13.45-14.15: **Anders Bach, KU**

Dansk Selskab for Historisk Kemi

13.10-13.40: **Emeritus professor Helge Kragh,
Niels Bohr Institutet, KU**

*"Margrete Bose (f. Heiberg),
en kvinde i tidlig fysisk kemi"*

13.40-14.10: **Lektor Asbjørn Petersen,
Dansk Selskab for Historisk Kemi**

*"Dansk svovlsyreproduktion:
fra monopol til
kaos og tilbage til monopol"*

Division for Uorganisk Kemi

- program annonceres senere

Division for Teoretisk Kemi

- program annonceres senere

14.15-14.30 Kaffepause

14.30-16.30 – Session Lectures II

Division for Organisk Kemi

14.30-15.00: **Junjun Tan, KU**

15.00-15.30: **Changzhu Wu, SDU**

15.30-16.00: **Frederik Simonsen Bro, DTU**

16.00-16.30: **PhD Prize winner**

- annonceres senere

Dansk Selskab for Analytisk Kemi

14.30-15.10: **Lektor Fatima ALZahraa
Alatraktchi –(RUC):**

*"Electrochemical sensors
– in sickness and in health"*

15.10-15.50: **Professor Marianne Nissen Lund
(KU FOOD): "Quantitative analysis
of protein quality in foods"**

15.50-16.30: **Lektor Martin Hansen (DTU):**
*"Non-target chemical analysis
in environmental forensics"*

Dansk Forening for Molekylspektroskopi

- program annonceres senere

New Section Presentation – annonceres senere

16.30-17.00 Kaffepause

17.00-18.00

Prize Lecture – annonceres senere

18.30 Middag & Poster Awards



Quality Control in the Food & Beverage Industry with **FT-NIR** Spectroscopy



- **MPA II:**
Unrivalled flexibility for your daily QA/QC work as well as for sophisticated method development.



- **TANGO:**
The next generation FT-NIR spectrometer with touch screen operation and intuitive user interface.



- **MATRIX-F:**
On-line FT-NIR for direct measurements in continuous or batch processes, enabling a close production control.

FT-NIR is a powerful and effective technology for control of raw materials, intermediates and finished products. The major application areas of NIR spectroscopy include dairy and meat, beverages, edible oils, bakery ingredients and condiments as well as grains and oil seeds.

In contrast to most wet-chemical and other reference methods, FT-NIR technology is quick, cost-effective, non-destructive and safe, since it does not use chemicals, solvents or gases.

Bruker Optics has the industry's most comprehensive FT-NIR product-line; from the very intuitive FT-NIR spectrometer TANGO to the versatile Multi Purpose Analyzer MPA II and award-winning MATRIX systems for online measurements.

Contact us for more details:
info.bopt.nordic@bruker.com • www.food-analysis-nir.com

