
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Peperiksaan Semester Kedua
Sidang Akademik 2005/2006

April/Mei 2006

IMG 208 – Bioteknologi Makanan
[Food Biotechnology]

Masa: 3 jam
[Duration: 3 hours]

Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi TUJUH BELAS (17) muka surat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.

Arahan:

1. Jawab **LIMA (5)** daripada lapan soalan.
2. Kertas peperiksaan ini mengandungi 4 bahagian (Bahagian A, B, C dan D).
3. Jawab **SEMUA** soalan Bahagian A. Soalan Bahagian A mesti diserahkan bersama skrip jawapan selepas 1 jam peperiksaan bermula.
4. Jawab **DUA (2)** soalan Bahagian B.
5. Jawab **SATU (1)** soalan Bahagian C dan **SATU (1)** soalan Bahagian D.

Please check that the examination paper consists of SEVENTEEN (17) pages of printed material before you begin this examination.

Instructions:

1. Answer **FIVE (5)** questions out of eight questions.
2. This examination paper contains 4 parts (Parts A, B, C and D).
3. Answer **ALL** questions in Part A. Questions from Part A must be handed in together with the answer scripts after 1 hour examination begins.
4. Answer **TWO (2)** question in Part B.
5. Answer only **ONE (1)** question in Part C and **ONE (1)** question in Part D.

...2/-

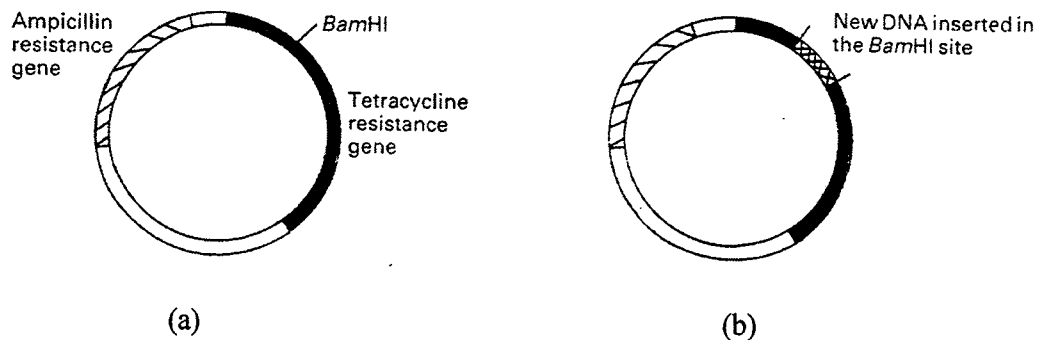
BAHAGIAN A

Arahan. Jawab semua soalan dalam bahagian ini di atas kertas OMR. Setiap soalan membawa 1 markah. Markah tidak akan ditolak untuk jawapan yang salah. **Kertas soalan ini perlu diserahkan kembali.**

- 1.1 Pengklonan gen memerlukan vektor untuk membolehkan gen dimasukkan ke dalam sel perumah. Apakah satu daripada ciri-ciri yang perlu ada pada sesuatu vektor?
- A. Mampu mereplikat secara bebas di dalam sel perumah
 - B. Semua molekul DNA boleh menjadi vektor
 - C. Bersifat seperti sel perumah
 - D. Mempunyai ketulenan yang tinggi
- 1.2 Susunkan aturan yang betul untuk penyediaan DNA total daripada kultur bakteria.
- i. Sel-sel dipecahkan untuk mengeluarkan kandungan ekstraknya
 - ii. Ekstrak sel dirawat untuk menyingkirkan semua komponen kecuali DNA
 - iii. Kultur bakteria ditumbuhkan dan dituai
 - iv. Larutan DNA terhasil dipekatkan
- A. i, ii, iii dan iv
 - B. I, ii, iv dan iii
 - C. iii, i, ii dan iv
 - D. iii, i, iv dan ii
- 1.3 Enzim yang manakah tidak terlibat dalam eksperimen pengklonan gen?
- A. Endonuklease pembatasan
 - B. Fragmen Klenow
 - C. 'Reverse transcriptase'
 - D. Amiloglukosidase
- 1.4 Pilih pernyataan yang SALAH.
- A. Molekul DNA di dalam elektroforesis gel agarosa boleh dilihat selepas pewarnaan dengan etidium bromida.
 - B. Saiz fragmen DNA di dalam gel agarosa boleh dianggarkan daripada kurva piawai DNA λ -faj yang dihadamkan dengan *HindIII*.
 - C. Penyambungan semula (*ligation*) antara vektor dan DNA yang ingin diklon memerlukan enzim polimerase.
 - D. Hujung melekat (*sticky*) meningkatkan peluang penyambungan semula molekul-molekul DNA berbanding hujung tumpul (*blunt*).

1.5 Berdasarkan Rajah 1, apakah ciri-ciri yang dimiliki oleh molekul rekombinan pBR322 selepas DNA molekul yang baru diselitkan pada tapak *Bam*HI?

- A. $amp^R tet^R$
- B. $amp^S tet^S$
- C. $amp^S tet^R$
- D. $amp^R tet^S$



Rajah 1: Vektor pengklonan pBR322. (a) Molekul vektor normal. (b) Molekul rekombinan.

1.6 _____ adalah daya utama yang memberi kestabilan konformasi protein globular.

- A. Ikatan hydrogen
- B. Interaksi hidrofobik
- C. Interaksi ionik
- D. Ikatan disulfida

1.7 Dialisis adalah satu proses yang :

- A. bergantung kepada hanya bentuk molekul.
- B. sesuai untuk pemisahan protein yang bergantung kepada hanya perbezaan cas.
- C. membenarkan perubahan besar berlaku bagi kepekatan garam sesuatu larutan protein tanpa berlakunya perubahan besar dalam isipadu larutan protein.
- D. terhad kerana hanya kuantiti mikrogram protein boleh diproseskan.

1.8 Penambahan pelarut organik kepada larutan protein mungkin menyebabkan semua yang berikut KECUALI

- A. agregasi
- B. degradasi
- C. perubahan dalam interaksi elektrostatik
- D. terputus ikatan kovalen

- 1.9 Apakah kaedah paling mudah yang dapat menentukan berat molekul protein monomerik kecil tetapi tidak dapat memisahkan protein asli?
- A. Penumpuan isoelektrik
 - B. SDS-PAGE
 - C. Kromatografi afiniti
 - D. Kromatografi penurasan gel
- 1.10 Enzim yang tidak digunakan dalam penyediaan sirup fruktosa tinggi daripada kanji jagung ialah:
- A. selulase
 - B. amilase
 - C. glukosa isomerase
 - D. amiloglucosidase
- 1.11 Semua pernyataan berikut berkenaan Faktor Del adalah benar kecuali
- A. Faktor Del dikenali juga sebagai faktor Nabla
 - B. Faktor Del adalah ukuran pengurangan pecahan (*fractional reduction*) organisma viabel yang dikenakan sesuatu rejim suhu-masa
 - C. Faktor Del boleh ditulis sebagai $\ln N_t/N_0$
 - D. Faktor Del adalah kriteria rekabentuk pensterilan kelompok
- 1.12 Semua pernyataan berikut adalah benar kecuali
- A. K_s adalah pemalar penepuan.
 - B. nilai K_s sama dengan nilai kepekatan substrat apabila nilai μ adalah μ_{maks} .
 - C. nilai K_s yang rendah menunjukkan afiniti yang tinggi terhadap substrat
 - D. bagi mikroorganisma yang mempunyai nilai K_s yang tinggi, fasa *deceleration* antara fasa eksponential dan fasa pegun adalah panjang.
- 1.13 Dalam system fermentasi suap kelompok isipadu berubah, isipadu kultur (V), kadarcepat pencairan (D) dan kepekatan substrat (S) berubah berfungsi masa secara berikut.
- A. V, D dan S terus meningkat
 - B. V meningkat, D dan S malar
 - C. V malar, D dan S menurun
 - D. V meningkat, D menurun dan S malar.

- 1.14 Dalam persamaan pemusnahan mikroorganisma oleh haba lembap, $-dN/dt = kN$, 'k' adalah
- A. pemalar pensterilan spesifik
 - B. meningkat dengan meningkatnya suhu pensterilan
 - C. bernilai besar bagi mikroorganisma yang lebih rintang haba
 - D. tidak dipengaruhi oleh spesies mikroorganisma.
- 1.15 Pilih pernyataan yang benar.
- A. Air rendaman jagung (*Corn steep liquor*) didapati mengandungi prekursor untuk penghasilan Penisillin G
 - B. Asid fenil asetik adalah prekursor rantai sisi untuk penghasilan 6-APA (aminopenicillanic acid).
 - C. Maltosa merupakan bahan aruh untuk penghasilan enzim glukoamilase
 - D. Natrium bisulfat adalah contoh perencat yang diguna untuk pengeluaran asetaldehid
- 1.16 Regulasi aktiviti enzim dicapai melalui
- A. perencatan suapbalik (Feedback inhibition)
 - B. represi suapbalik (Feedback repression)
 - C. induksi
 - D. atenuasi transkripsi
- 1.17 Semua pernyataan berikut berkenaan proses hiliran adalah benar kecuali
- A. Ia adalah proses untuk memulihkan hasil atau biojisim daripada proses fermentasi
 - B. Langkah pertama proses hiliran untuk produk intrasel ialah pemecahan sel
 - C. Pemisahan komponen pepejal daripada komponen cecair boleh dilakukan menggunakan kaedah penurasan atau pengemparan
 - D. Pemisahan untuk kromatografi penurasan gel adalah berdasarkan saiz dan bentuk molekul.
- 1.18 Pengempar ini berguna untuk memisahkan sebatian berhablur atau miselium kulapuk. Ia biasanya diguna dengan mangkuk yang berlubang-lubang (perforated bowl) yang dialas dengan beg penuras daripada nilon, kapas dan lain-lain. Ia biasa dioperasikan sehingga kelajuan 4000 rpm untuk kadar suapan $50-300 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$. Pengempar yang dimaksudkan ialah
- A. pengempar bakul (Basket centrifuge)
 - B. pengempar multikamar (Multichamber centrifuge)
 - C. pengempar mangkuk -cakera (Disc-bowl centrifuge)
 - D. pengempar mangkuk bertiub (Tubular bowl centrifuge)

PART A.

Answer all questions in this part on the OMR form. Each question is allotted 1 mark. Marks will not be deducted for the wrong answer. **These questions must be handed back.**

1.1 *Gene cloning requires a vector to enable insertion of a DNA into a host cell. What is one of the characteristics required in a vector?*

- A. *Able to replicate independently in the host cell*
- B. *All DNA molecules could be a vector*
- C. *Has similar characteristic with the host cell*
- D. *Has high purity*

1.2 *Arrange the correct order of total DNA preparation from a culture of bacterial cells.*

- i. *The cells are disrupted to release their contents*
- ii. *The cell extract is treated to remove all components except the DNA*
- iii. *A culture of bacteria is grown and then harvested*
- iv. *The resulting DNA solution is concentrated*

- A. *i, ii, iii and iv*
- B. *i, ii, iv and iii*
- C. *iii, i, ii and iv*
- D. *iii, i, iv and ii*

1.3 *Which enzyme is not involved in a gene cloning experiment?*

- A. *Restriction endonuclease*
- B. *Klenow fragment*
- C. *Reverse transcriptase*
- D. *Amyloglucosidase*

1.4 *Choose the incorrect statement.*

- A. *DNA molecule in an agarose gel electrophoresis could be visualized after staining with ethidium bromide.*
- B. *The size of DNA fragment in an agarose gel could be estimated from a standard curve of λ phage DNA digested with HindIII.*
- C. *Ligation of a vector and a DNA for cloning requires polymerase enzyme.*
- D. *A sticky end increases the chance of DNA molecules ligation compared to a blunt end.*

1.5 Referring to **Figure 1**, what is the characteristic of pBR322 recombinant molecule after a new DNA molecule is inserted into the *Bam*HI site?

- A. $amp^R tet^R$
- B. $amp^S tet^S$
- C. $amp^S tet^R$
- D. $amp^R tet^S$

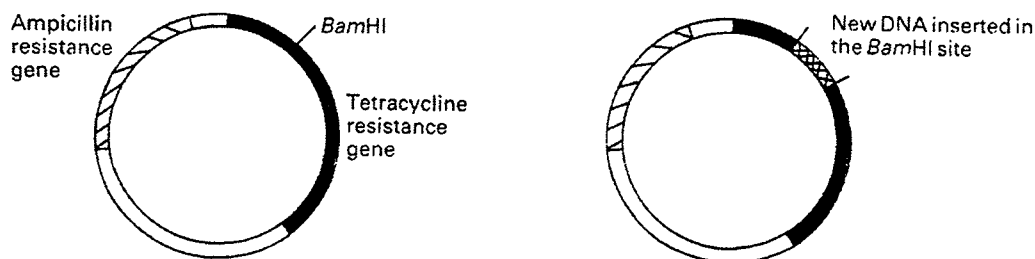


Figure 1: The cloning vector pBR322. (a) the normal vector molecule (b) the recombinant molecule.

1.6 _____ is considered to be the major force which leads to the conformational stability of globular proteins.

- A. Hydrogen bonding
- B. Hydrophobic interaction
- C. Ionic interaction
- D. Disulfide bonding

1.7 Dialysis is a process which:

- A. depends primarily on molecular shape
- B. is well adapted for protein separation which depends primarily on charge difference.
- C. permits large adjustments of the salt content of a protein solution without a large change in the volume of that protein solution.
- D. is limited because only microgram quantities of protein can be processed

1.8 Adding an organic solvent to a protein solution may cause all of the following EXCEPT

- A. aggregation
- B. denaturation
- C. alteration of electrostatic interactions
- D. rupture of covalent bonds

- 1.9 *What is the simplest method that is able to determine the molecular weight of a small monomeric protein but is not able to separate native proteins?*
- A. *isoelectric focusing*
 - B. *SDS-PAGE*
 - C. *affinity chromatography*
 - D. *gel filtration chromatography*
- 1.10 *The enzyme that is not used in the preparation of high fructose syrup from corn starch is:*
- A. *cellulose*
 - B. *amylase*
 - C. *glucose isomerase*
 - D. *amyloglucosidase*
- 1.11 *All the following statements concerning Del factor are true except*
- A. *Del factor is also known as the Nabla factor*
 - B. *Del factor is a measure of the fractional reduction of viable organisms that are treated with a certain temperature-time regime.*
 - C. *Del factor can be expressed as $\ln N_t/N_o$*
 - D. *Del factor is a criterion for the design of batch sterilization.*
- 1.12 *All the following statements are true except*
- A. *K_s is the saturation constant*
 - B. *The value of K_s is equal to the value of substrate concentration when μ is equal to μ_{max} .*
 - C. *A low K_s value indicates a high affinity towards the substrate.*
 - D. *For microorganisms having a high K_s value, the deceleration phase between the exponential phase and the stationary phase is long.*
- 1.13 *In a variable volume fed-batch fermentation system, the culture volume (V), dilution rate (D) and substrate concentration (S) changes as a function of time according to the following*
- A. *V, D and S continuously increase*
 - B. *V increases, D and S remain constant*
 - C. *V remains constant, D and S decrease*
 - D. *V increases, D decreases and S remains constant.*

- 1.14 In the equation for the destruction of microorganisms by moist heat, $-dN/dt = kN$, 'k'
- A. is the specific sterilization constant
 - B. increases with increase in sterilization temperatures
 - C. has a larger value for microorganisms that are more heat resistant.
 - D. is not influenced by the species of the microorganism.
- 1.15 Choose the correct statement
- A. Corn steep liquor is found to contain the precursor for the production of Penicillin G
 - B. Phenyl acetic acid is the precursor of the side chain for the production of 6-APA (aminopenicillanic acid)
 - C. Maltose is an inducer for the production of the glucoamylase enzyme
 - D. Sodium bisulphate is an example of an inhibitor used in the production of acetaldehyde
- 1.16 Regulation of enzyme activity can be achieved through
- A. Feedback inhibition
 - B. Feedback repression
 - C. Induction
 - D. Attenuated transcription
- 1.17 All of the following statements regarding downstream process are true except
- A. It is a process to recover the product or biomass from a fermentation process.
 - B. The first step in a downstream process for intracellular products is cell disruption.
 - C. The separation of the solid components from the liquid components can be carried out using filtration or centrifugation methods.
 - D. Separation by gel filtration chromatography is based on size and the shape of the molecules.
- 1.18 This centrifuge is useful for the separation of crystalline compounds or mould mycelia. It is commonly used with a perforated bowl lined with a filter bag of nylon, cotton, etc. It is normally operated at speeds of up to 4000 rpm for feed rates of 50-300 dm³ min⁻¹. The centrifuge described is the
- A. Basket centrifuge
 - B. Multichamber centrifuge
 - C. Disc-bowl centrifuge
 - D. Tubular bowl centrifuge

BAHAGIAN B. Jawab DUA soalan sahaja.

2. Jawab kedua-dua bahagian soalan ini.
- (a) Dengan menggunakan contoh yang sesuai, huraikan proses fermentasi untuk penghasilan satu produk atau ingredien makanan .
(10 markah)
 - (b) Bincangkan cara-cara untuk meningkatkan produktivitinya.
(10 markah)
3. Tuliskan catatan-catatan ringkas bagi semua bahagian yang berikut.
- (a) Minuman beralkohol tempatan
 - (b) "Cell washout"
 - (c) K_{La}
 - (d) Pemecahan sel dalam proses hiliran hasil fermentasi
(20 markah)
4. Jawab kedua-dua bahagian soalan ini.
- (a) Bincangkan peranan penuras dalam pensterilan bekalan udara untuk fermentasi. Bagaimanakah steriliti yang dihayati tercapai?
(10 markah)
 - (b) Terangkan kaedah-kaedah yang telah diguna untuk penentuan biojisim mikrobial semasa kelas amali. Gariskan juga langkah-langkah berjaga yang perlu diambil untuk memastikan keputusan adalah persis dan jitu.
(10 markah)

BAHAGIAN C. Jawab SATU soalan sahaja

5. Jawab kedua-dua bahagian soalan ini.

- (a) Anda diminta menuliskan satu protein X-isomerase dengan mengguna protokol piawai makmal. Bermula dengan ekstrak enzim kasar (C1), anda lakukan langkah-langkah berikut (dan mendapatkan sampel untuk di'assay'):

Langkah 1. Pemendakan dengan amonium sulfat (mendapat sampel AS-P)

Langkah 2: Penyahgaraman diatas turus PD-10 (mendapat sampel DEAE-1)

Langkah 3: Turus DEAE (fraksi sampel yang elut dikumpul mendapat sampel DEAE- 2).

Langkah 4: Turus afiniti diikuti dengan penyahgaraman PD-10 (mendapat sampel AF-PD-10)

Kemudian anda *assay* setiap sampel untuk aktiviti X-isomerase dan keputusannya adalah seperti berikut:

Sampel	Isipadu (ml)	Kepekatan protein (mg/ml)	Protein total (mg)	Aktiviti (U)	Aktiviti spesifik	Tahap penulenan
C1	25	4	100	200000	a	f
AS-P	4	10	40	120000	b	g
DEAE-1	2	17.5	35	105000	c	h
DEAE-2	2	11	22	68200	d	i
AF-PD-10	1	3	3	60000	e	j

- (i) Isikan aktiviti spesifik dan tahap penulenan bagi setiap langkah dalam proses penulenan yang ditanda gelap (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j) dalam jadual di atas (beri unit dimana sesuai).
(5 markah)
- (ii) Langkah yang manakah dalam protokol tersebut memberi penulenan yang paling baik? Kenapa?
(2 markah)
- (iii) Jika anda diperlukan untuk menambahbaik protokol ini, langkah yang manakah akan anda pilih untuk disingkirkan? Kenapa?
(4 markah)
- (iv) Dengan ringkas terangkan bagaimana sulfat memendakkan protein.
(4 markah)

- (b) Terangkan bagaimana proses penjernihan jus buah dengan enzim pektinase berlaku. (5 markah)
6. Tulis catatan-catatan ringkas bagi perkara-perkara berikut:
- (a) Kaedah untuk pemisahan protein berasaskan cas protein (4 markah)
- (b) Penggunaan natrium dodesil sulfat (SDS) dan β -merkaptoetanol dalam penyahaslian protein. (4 markah)
- (c) Satu kaedah penulenan yang mengambil kira aktiviti biologi protein. (4 markah)
- (d) Kaedah untuk menentukan ketulenan protein. (4 markah)
- (e) Perubahan kandungan protein total dan aktiviti spesifik dalam proses penulenan (4 markah)

BAHAGIAN D. Jawab SATU soalan sahaja.

7. Berpandukan rajah-rajah yang sesuai, jelaskan langkah-langkah eksperimen yang terlibat dalam pengklonan gen. (20 markah)
8. Berpandukan rajah-rajah yang sesuai, jelaskan kepentingan pengklonan gen dan impaknya kepada industri. (20 markah)

PART B. Answer TWO questions only.

2. Answer both parts of this question

(a) Using an appropriate example, describe the fermentation process for the production of a food product or ingredient.

(10 marks)

(b) Discuss how its productivity can be increased.

(10 marks)

3. Write short notes for all of the following parts

(a) Local alcoholic drinks

(b) Cell washout

(c) K_{La}

(d) Disruption of cells in the downstream processing of fermentation products

(20 marks)

4. Answer both parts of this question

(a) Discuss the role of filters in the sterilization of air supply to a fermentation process. How is the desired sterility achieved?

(10 marks)

(b) Explain the methods used for the determination of microbial biomass during the practical classes. Outline the precautions to be taken to ensure precise and accurate results.

(10 marks)

PART C. Answer ONE question only.

5. Answer both parts of this question

- (a) You are asked to purify a well characterized protein, X-isomerase using the laboratory's standard protocol. Starting from a crude enzyme extract (C1), you performed the following steps (and produced these samples to be assayed):

Step 1. Precipitation by ammonium sulfate (yielding sample AS-P)

Step 2. Desalting on PD-10 column (yielding sample DEAE-1)

Step 3. DEAE column (eluted sample fractions pooled as sample DEAE-2)

Step 4. Affinity column followed by PD-10 desalting (yielding sample AF-PD-10)

You then assayed each sample for X-isomerase activity, and obtained the following results:

Sample	Volume (ml)	Protein concentration (mg/ml)	Total protein (mg)	Total activity (U)	Specific activity	Fold Purification
C1	25	4	100	200000	a	f
AS-P	4	10	40	120000	b	g
DEAE-1	2	17.5	35	105000	c	h
DEAE-2	2	11	22	68200	d	i
AF-PD-10	1	3	3	60000	e	j

- (i) Fill in the specific activity and fold purification for each step of the purification marked in bold letterings (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j) in the table above (include units where appropriate). (5 marks)
- (ii) Which step of the protocol gave the best purification? Why? (5 marks)
- (iii) If you are asked to improve this protocol, which step might you choose to eliminate? Why? (4 marks)
- (iv) Briefly describe how sulfate precipitates proteins. (4 marks)
- (b) Explain the process of juice clarification by pectinase enzymes. (5 marks)

6. Write short notes on the following:

(a) Method for the separation of proteins by charge.

(4 marks)

(b) The use of sodium dodecyl sulphate (SDS) and β -mercaptoethanol in protein denaturation.

(4 marks)

(c) A purification method that takes advantage of the enzyme's biological activity.

(4 marks)

(d) Method for determination of protein purity.

(4 marks)

(e) The changes in total protein content and the specific activity during the purification process.

(4 marks)

PART D. Answer ONE question only

7. Using appropriate diagrams, explain the experimental steps in gene cloning.

(20 marks)

8. Using appropriate diagrams, explain the importance of gene cloning and its impact on the industries.

(20 marks)