

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Peperiksaan Semester Kedua
Sidang Akademik 2003/2004

Februari/Mac 2004

IMG 208 – BIOTEKNOLOGI MAKANAN

Masa : 3 jam

(BAHAGIAN A)

Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi TUJUH mukasurat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.

Jawab LIMA dari lapan soalan. Semua soalan mesti dijawab dalam Bahasa Malaysia.

Sila baca arahan berikut:

1. Kertas peperiksaan ini mengandungi 4 bahagian (Bahagian A,B,C dan D).
2. Jawab SEMUA soalan Bahagian A dengan menggunakan borang OMR.
Borang OMR dan soalan Bahagian A akan dipungut selepas 1 jam peperiksaan bermula.
3. Jawab SATU (1) soalan Bahagian B.
4. Jawab DUA (2) soalan Bahagian C dan SATU (1) soalan Bahagian D.

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 Pilih pernyataan yang benar

- A. Rekombinan ialah sel yang mengandungi molekul DNA rekombinan dan sel perumah
- B. Pemindahan Southern (*Southern transfer*) merujuk kepada pemindahan protein daripada gel agarosa kepada membran
- C. Satu contoh gen penanda ialah gen kerintangan terhadap antibiotik
- D. Perpustakaan gen (*gene library*) ialah himpunan klon-klon yang mempunyai satu jenis fragmen DNA

1.2 Pilih pasangan yang benar

- A. Fragmen Klenow – enzim polimerase II
- B. Lisozim – protein pada permukaan dinding sel bakteria
- C. Polimerase – enzim yang menyambung dua molekul DNA
- D. Etidium bromida – bahan kimia berfluoresen yang digunakan dalam pengesanan DNA

- 1.3 Susunkan turutan langkah-langkah eksperimen pengklonan gen
- Manipulasi molekul DNA
 - Pengenalpastian sel-sel yang mengandungi molekul DNA rekombinan
 - Penyediaan sampel DNA tulen
 - Pemindahan molekul DNA rekombinan ke dalam sel perumah
- A. i, ii, iii dan iv
B. i, iii, iv dan ii
C. iii, iv, i dan ii
D. iii, i, iv dan ii
- 1.4 Semua yang berikut adalah benar kecuali
- Pemetaan gen ialah menentukan posisi secara relatif gen-gen berlainan di dalam molekul DNA
 - Proba gen merujuk kepada fragmen DNA yang berlabel untuk mengesan jujukan DNA yang homologus
 - Pemindahan Northern (*Northern transfer*) merujuk kepada pemindahan RNA daripada gel agarosa kepada membran
 - Plasmid (vektor pengklonan) tidak mampu mengreplikat secara independen di dalam sel perumah
- 1.5 Semua yang berikut mengenai *Polimerase Chain Reaction (PCR)* adalah benar kecuali
- Tindakbalas amplifikasi semua kawasan dalam molekul DNA
 - Tindakbalas memerlukan dua oligonukleotida pendek yang melekat pada hujung setiap satu bebenang DNA
 - Enzim yang membantu tindakbalas ini ialah *Taq* polimerase
 - Tindakbalas amplifikasi ini menghasilkan gandaan eksponential DNA

- 1.6 Semua pernyataan berikut berkenaan Faktor Del adalah benar kecuali
- Faktor Del dikenali juga sebagai faktor Nabla
 - Faktor Del adalah ukuran pengurangan pecahan (*fractional reduction*) organisma viabel yang dikenakan sesuatu rejim suhu-masa
 - Faktor Del boleh ditulis sebagai $\ln N/N_0$
 - Faktor Del adalah kriteria rekabentuk pensterilan
- 1.7 Semua pernyataan berikut adalah benar kecuali
- K_s adalah pemalar penepuan.
 - Nilai K_s sama dengan nilai kepekatan substrat apabila nilai μ adalah μ_{maks} .
 - Nilai K_s yang rendah menunjukkan afiniti yang tinggi terhadap substrat
 - Bagi mikroorganisma yang mempunyai nilai K_s yang tinggi, fasa *deceleration* antara fasa eksponential dan fasa pegun adalah panjang.
- 1.8 Enzim pektik terdiri daripada enzim-enzim berikut kecuali
- pektinase
 - pektin esterase
 - pektin liase
 - pektin sintase
- 1.9 Semua pernyataan berikut adalah benar kecuali
- Enzim amilase yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* adalah enzim yang dihasilkan di dalam sel tetapi dirembes ke luar sel
 - Kebanyakan daripada enzim yang lazim dihasilkan secara komersial adalah enzim ekstrasel.
 - α - Amilase juga boleh dihasilkan oleh *Aspergillus niger*.
 - Kaedah Folin-Ciocalteau/Lowry untuk penentuan kandungan protein menghasilkan tindakbalas berwarna perang yang boleh diukur warnanya pada 600nm.

- 1.10 Semua pernyataan berikut adalah benar berkenaan penganggaran K_{La} dalam bioreaktor kecuali
- rx adalah nilai kecerunan garis lurus setelah udara dihentikan dan disambung semula
 - Nilai D.O. (oksigen terlarut) dengan perubahan masa dicatat dan diplot
 - Aras kritikal D.O. adalah mencukupi untuk penyelenggaraan sel.
 - Bekalan udara dihentikan sehingga nilai D.O. adalah sifar sebelum disambung semula
- 1.11 Dalam persamaan pemusnahan mikroorganisma oleh haba lembap, $- dN/dt = k N$. 'k' adalah
- pemalar pensterilan spesifik
 - meningkat dengan meningkatnya suhu pensterilan
 - bernilai besar bagi mikroorganisma yang lebih rintang haba
 - tidak dipengaruhi oleh spesies mikroorganisma.
- 1.12 Pilih pernyataan yang benar.
- Air rendaman jagung (*Corn steep liquor*) didapati mengandungi prekursor untuk penghasilan Penisillin G
 - Asid fenil asetik adalah prekursor rantai sisi untuk penghasilan 6-APA (aminopenicillanic acid)
 - Maltosa merupakan bahan aruh untuk penghasilan enzim glukoamilase
 - Natrium bisulfat adalah contoh perencat untuk pengeluaran asetaldehid

1.13 Regulasi aktiviti enzim dicapai melalui

- A. Perencatan suapbalik (Feedback inhibition)
- B. Represi suapbalik (Feedback repression)
- C. Induksi
- D. Atenuasi transkripsi

1.14 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.

1.15 Masa mastautin untuk kultur selanjar berisipadu 4 liter, dengan aliran medium masuk sebanyak 0.5 liter/jam adalah

- A. 0.13 jam
- B. 0.50 jam
- C. 2.00 jam
- D. 8.00 jam

- 1.16 Pengempar ini berguna untuk memisahkan sebatian berhablur atau miselium. Ia biasanya diguna dengan mangkuk yang berlubang-lubang (perforated bowl) yang dialas dengan beg penuras daripada nilon, kapas dan lain-lain. Ia biasa dioperasi pada kelajuan 4000 rpm untuk kadar suapan $50\text{-}300\text{dm}^3\text{min}^{-1}$. Pengempar yang dimaksudkan ialah
- Pengempar bakul (Basket centrifuge)
 - Pengempar multikamar (Multichamber centrifuge)
 - Pengempar mangkuk –cakera (Disc-bowl centrifuge)
 - Pengempar mangkuk bertiub (Tubular bowl centrifuge)
- 1.17 Faktor-faktor berikut mempengaruhi nilai K_{La} dalam bejana fermentasi kecuali
- kadar cepat aliran udara
 - darjah agitasi
 - kehadiran agen antibusa
 - isipadu fermenter
- 1.18 Semua bioreaktor dibawah direkabentuk dengan nisbah tinggi:garis pusat(H:D) bernilai lebih daripada 10, kecuali
- fermenter *bubble column*
 - fermenter angkut-udara (airlift)
 - fermenter Waldo
 - fermenter *packed bed*
- 1.19 Penulenan enzim menggunakan kaedah – kaedah berikut bergantung pada ciri-ciri ionik enzim, kecuali :
- Elektroforesis
 - Kromatografi affiniti
 - Pemendakan
 - Kromatografi penukar ion
- 1.20 Pilih pasangan yang salah berkenaan pengukuran pembolehubah proses fermentasi.
- suhu – *thermistor*
 - Kadar pengadukan – *tachometer*
 - Tekanan – *piezo electric transducer*
 - Aliran – *Diaphragm gauge*

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Peperiksaan Semester Kedua
Sidang Akademik 2003/2004

Februari/Mac 2004

IMG 208 – BIOTEKNOLOGI MAKANAN

Masa : 3 jam

(BAHAGIAN B, C DAN D)

Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi TUJUH (7) mukasurat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.

Jawab LIMA dari lapan soalan. Semua soalan mesti dijawab dalam Bahasa Malaysia.

Sila baca arahan berikut:

1. Kertas peperiksaan ini mengandungi 4 bahagian (Bahagian A,B,C dan D).
2. Jawab SEMUA soalan Bahagian A dengan menggunakan borang OMR.
Borang OMR dan soalan Bahagian A akan dipungut selepas 1 jam peperiksaan bermula.
3. Jawab SATU (1) soalan Bahagian B.
4. Jawab DUA (2) soalan Bahagian C dan SATU (1) soalan Bahagian D.

[IMG 208]

- 2 -

BAHAGIAN B. Pilih dan jawab hanya SATU soalan sahaja

2. Jawab semua bahagian soalan ini.

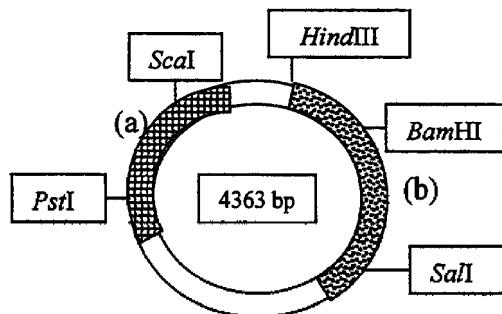
- (a) Nyatakan secara ringkas DNA rekombinan (5 markah)
- (b) Terangkan plasmid sebagai vektor pengklonan (5 markah)
- (c) Sampel DNA telah dihadam dengan enzim pembatasan *Bam*H1 dan menghasilkan 2 fragmen yang berlainan saiz. Tentukan saiz fragmen dan sampel DNA tersebut berdasarkan data dalam Jadual 1 yang diberikan.
(10 markah)

Jadual 1: Jarak pergerakan fragmen DNA dan anggaran saiz fragmen DNA

Jalur	DNA penanda		Sampel DNA	
	Jarak dari ‘well’ (mm)	Saiz fragmen sebenar (bp)	Jarak dari ‘well’ (mm)	Anggaran saiz fragmen (bp)
1	19.0	23 130	38.0	
2	31.5	9 416	49.5	
3	36.5	6 557		
4	43.0	4 361		
5	52.0	2 322		
6	54.5	2027		

3. Jawab semua bahagian soalan ini

- (a) Terangkan secara ringkas prinsip pengklonan gen. (5 markah)
- (b) Terangkan kaedah penulenan DNA bakteria. (5 markah)
- (c) Terangkan secara ringkas bagaimana pemilihan rekombinan yang spesifik dapat dilakukan sekiranya menggunakan pBR322 sebagai vektor pengklonan (Rajah 1) dan fragmen DNA dimasukkan pada tapak *Bam*H1.
(10 markah)



Rajah 1: Peta gen pBR322 menunjukkan posisi (a) gen rintang amficilin, amp^R , (b) gen rintang tetrasiiklin, tet^R dan beberapa tapak pemotongan DNA yang utama.

BAHAGIAN C – Jawab DUA soalan sahaja

4. Tuliskan catatan-catatan ringkas bagi yang berikut.

- (a) Fermentasi suap kelompok
- (b) Fermentor angkut udara
- (c) Fermentasi keadaan pepejal
- (d) Penambahan perencat kepada medium fermentasi

(20 markah)

5. Jawab kedua-dua bahagian soalan ini.

- (a) Bincangkan aplikasi enzim dalam penghasilan produk bakeri.

(10 markah)

- (b) Bincangkan pengekstrakan enzim yang terikat kepada membran.

(10 markah)

6. Jawab semua bahagian soalan ini.

- (a) Jadual 2 menunjukkan nilai Del untuk spora *Bacillus stearothermophilus* semasa proses pemanasan untuk pensterilan. Andaikan kemasuhan spora hanya berlaku pada suhu melebihi 100°C dan kitaran proses pemanasan dan penyejukan adalah linear. Untuk medium yang diguna yang mengandungi bilangan sel sebanyak 10^{12} , nilai Del keseluruhan proses ialah 35.5. Kirakan masa pengekalan (holding time) pada suhu 121°C untuk satu proses pensterilan di mana media tersebut telah dipanaskan dari 100°C ke 121°C dalam masa 25 minit dan disejukkan dari 121°C ke 100°C dalam masa 15 minit.

(7 markah)

- (b) Sekiranya operasi tersebut dibesarkan daripada 1000 dm^3 kepada 10000 dm^3 dengan menggunakan medium yang sama, apakah nilai Del yang baru?

(3 markah)

- (c) Huraikan berkenaan pensterilan selanjur yang digunakan untuk pengolahan medium fermentasi.

(10 markah)

7. Dengan menggunakan contoh-contoh, bincangkan bagaimana prinsip-prinsip bioteknologi dapat meningkatkan industri makanan terfermen tempatan.

(20 markah)

Jadual 2 Nilai Del untuk spora *B. stearothermophilus* untuk masa pemanasan dalam julat 100° hingga 130°C , dengan mengandaikan kadar perubahan suhu 1°min^{-1} dan tiada pemusnahan spora pada suhu kurang daripada 100°C (Richards, 1968).

$T^{\circ}\text{C}$	$k \text{ min}^{-1}$	∇
100	0.019	—
101	0.025	0.044
102	0.032	0.076
103	0.040	0.116
104	0.051	0.168
105	0.065	0.233
106	0.083	0.316
107	0.105	0.420
108	0.133	0.553
109	0.168	0.720
110	0.212	0.932
111	0.267	1.199
112	0.336	1.535
113	0.423	1.957
114	0.531	2.488
115	0.666	3.154
116	0.835	3.989
117	1.045	5.034
118	1.307	6.341
119	1.633	7.973
120	2.037	10.010
121	2.538	12.549
122	3.160	15.708
123	3.929	19.638
124	4.881	24.518
125	6.056	30.574
126	7.506	38.080
127	9.293	47.373
128	11.494	58.867
129	14.200	73.067
130	17.524	90.591

BAHAGIAN D. Soalan wajib berkenaan amali

8. Jawab semua bahagian soalan ini.

- (a) Semasa eksperimen penghasilan dan pengekstrakan α -amilase daripada *B. subtilis*, nilai gula penurun yang didapati daripada tindakbalas DNS ke atas 1.0 ml sampel daripada tindakbalas hidrolisis adalah 0.16%. Kirakan aktiviti amilase dalam sampel asal berdasarkan maklumat-maklumat berikut:
- satu I.U. = satu mikromol hasil yang diperolehi dalam satu minit di bawah keadaan pH dan suhu seperti dinyatakan, per ml sampel.
 - Tindakbalas hidrolisis melibatkan penggunaan 0.5 ml sampel asal dalam sejumlah 4.5 ml campuran larutan kanji, penimbal dan garam, dan dieramkan pada 37°C selama 10 min.
 - Formula kimia untuk maltosa adalah $C_{12}H_{22}O_{11}$ dan untuk glukosa, $C_6H_{12}O_6$.

(6 markah)

- (b) Jadual 3 berikut menunjukkan keputusan eksperimen di atas. Lengkapkan jadual tersebut dengan menunjukkan contoh-contoh pengiraan anda. Berikan komen mengenai keputusan yang diperolehi.

(10 markah)

Jadual 3: Peringkat-peringkat penulenan enzim amilase

Peringkat	Isipadu (ml)	Aktiviti amilase (I.U/ml)	Kandungan protein (mg/ml)	Jumlah aktiviti (I.U)	Aktiviti spesifik	Perolehan semula (%)	Penulenan
Ekstrak bebas sel	65.0	34.0	0.40				
Ekstrak bebas asid nukleik	140.0	12.2	0.15				
Enzim pekat	40.0	64.0	0.50				

[IMG 208]

- 7 -

- (c) Keputusan untuk enzim pekat yang didapati oleh beberapa kumpulan lain adalah seperti berikut (Jadual 4). Kumpulan manakah yang mendapat hasil yang paling baik? Jelaskan jawapan anda.

(6 markah)

Jadual 4: Ringkasan keputusan penulenan enzim amilase untuk empat (4) kumpulan amali

Kumpulan	Isipadu enzim pekat (ml)	Aktiviti amilase (I.U/ml)	Kandungan protein (mg/ml)
A	40.0	64.0	0.5
B	50.0	50.0	0.3
C	60.0	48.0	0.2
D	40.0	64.0	1.0

ooo000ooo