

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Peperiksaan Semester Kedua
Sidang Akademik 2004/2005

Mac 2005

IMG 208 – Bioteknologi Makanan
[Food Biotechnology]

Masa : 3 jam
[Duration: 3 hours]

Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi DUA PULUH TIGA (23) muka surat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.

Please check that the examination paper consists of TWENTY THREE (23) pages of printed material before you begin this examination.

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 **SATU (1)** soalan Bahagian B.
5. Jawab **DUA (2)** soalan Bahagian C dan **SATU (1)** soalan Bahagian D.

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 only **ONE (1)** question in part B.
5. Answer **TWO (2)** questions from part C and **ONE (1)** question from part D.

...2/-

Bahagian A. 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.

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

1. Kaedah yang mana digunakan dalam penulenan β -galaktosidase untuk mengekalkan kestabilan protein.
 - A. menambahkan ditiotritol dalam larutan tampan semasa penulenan.
 - B. menyimpan semua larutan protein dalam ais atau peti sejuk sepanjang masa.
 - C. mengekalkan protein dan larutan tampan pada pH 4.0.
 - D. kedua-dua jawapan A dan B.

Which of the following methods are used during the purification of β -galactosidase to maintain protein stability.

- A. *including dithiothreitol in purification buffers.*
 - B. *keeping all protein containing solutions on ice or in the refrigerator at all times.*
 - C. *maintaining the protein and its buffers at pH 4.0.*
 - D. *both A and B above.*

2. Pemisahan protein daripada protei lain berdasarkan saiz molekular boleh dicapai dengan kaedah:
 - A. Elektroforesis gel poliakrilamida mengandungi natrium dodesil sulfat (SDS).
 - B. Penumpuan isoelektrik.
 - C. Kromatografi penukaran ion.
 - D. Elektroforesis gel.

Separation of one protein from other proteins on the basis of molecular size can be achieved by:

- A. *Elektroforesis atas gel-gel poliakrilamida mengandung natrium dodesil sulfat (SDS).*
- B. *Isoelectric focusing.*
- C. *ion-exchange chromatography.*
- D. *gel electrophoresis.*

3. Enzim yang diguna untuk pembuatan keju ialah:

- A. glukosa isomerase.
- B. galactosidase.
- C. chymosin.
- D. lipase.

The enzyme used in cheese making is :

- A. *glucose isomerase.*
- B. *galactosidase.*
- C. *chymosin.*
- D. *lipase.*

4. Penambahan pelarut organik ke dalam larutan protein mungkin menyebabkan semua yang berikut KECUALI

- A. pengumpulan.
- B. penyhaslian.
- C. gangguan ke atas interaksi elektrostatik.
- D. pemecahan ikatan kovalen.

Adding of 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 hydrophobic bonds.*

5. Dalam penulenan protein, dialisis adalah berguna bagi tujuan berikut:

- A. melakukan protein *salting-out*.
- B. penyahgaraman larutan mengandungi protein.
- C. untuk menukar larutan tampan yang melarutkan protein.
- D. kedua-dua jawapan C dan D.

In protein purification, dialysis is useful for the following purpose

- A. *salting out of proteins.*
- B. *desalting of protein containing solutions.*
- C. *to exchange buffer solution in which the protein sample is dissolved.*
- D. *both C and D above.*

6. Yang manakah bukan vektor pengklonan?

- A. Plasmid
- B. DNA bakteriofaj
- C. Kosmid
- D. Sel bakteria

Which of the following is not a cloning vector?.

- A. *Plasmid*
- B. *Bacteriophage*
- C. *Cosmid*
- D. *Bacterial cell*

7. 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. Bakteria dikultur dan kemudian 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

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 cellular extract is treated to remove all components except the DNA.*
 - iii. Bacteria is cultured 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*

8. Pilih pasangan yang salah
- A. Pengukuran kepekatan DNA – spektrofotometer pada jarak gelombang 260 nm.
 - B. Penentuan ketulenan larutan DNA - nisbah absorbans $A_{260} : A_{280}$
 - C. Enzim yang membuat salinan molekul – polimerase.
 - D. Enzim yang mampu memutuskan ikatan dalaman fosfodiester dalam molekul DNA – eksonuklease.

Choose the incorrect pair

- A. Measurement of DNA concentration – spectrophotometer at wavelength of 260 nm.
- B. Determination of the DNA purity – ratio of $A_{260}:A_{280}$
- C. Enzyme that make copies of molecule – polymerase.
- D. Enzyme which is able to break the internal phosphodiester bonds within a DNA molecule – exonuclease.

9. Apakah yang sepatutnya terkandung di dalam campuran tindakbalas penghadaman terbatas DNA?

- i. Endonuklease pembatasan
 - ii. Larutan tampan endonuklease pembatasan
 - iii. Sampel DNA
 - iv. EDTA
- A. semua di atas
 - B. i, ii dan iii sahaja
 - C. i dan ii sahaja
 - D. i, iii dan iv sahaja

What should be in the reaction mixture of DNA restriction digest?

- i. Restriction endonuclease
 - ii. Restriction endonuclease buffer
 - iii. DNA sample
 - iv. EDTA
- A. all of the above
 - B. i, ii and iii only
 - C. i and ii only
 - D. i, iii and iv only

10. Pilih pernyataan yang benar.
- A. Keputusan pemutusan DNA oleh endonuklease pembatasan boleh dianalisa dengan pewarnaan etidium bromida.
 - B. Autoradiografi ialah satu kaedah sensitif pengesanan jumlah DNA yang sedikit.
 - C. Pengukuran saiz fragmen DNA yang lebih tepat di dalam gel agarosa boleh diperolehi menerusi pemerhatian oleh mata.
 - D. Hujung bebenang dubel molekul DNA yang mana kedua-dua hujung berhenti pada posisi nukleotida yang sama tanpa bebenang tunggal bebas dinamakan hujung melekit (*sticky end*).

Choose the correct statement.

- A. *The result of restriction endonuclease cleavage can be analysed by ethidium bromide staining.*
- B. *Autoradiography is a sensitive detection method for small amounts of DNA.*
- C. *More accurate measurement of DNA fragment size in agarose gel can be obtained by visual observation.*
- D. *The end of a double-stranded DNA molecule at which both strands terminate at the same nucleotide position with no single-stranded extension is called a sticky end.*

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.

All the following statements concerning the 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 treated with a temperature-time regime.*
- C. *Del Factor can be written as $\ln N_t/N_0$*
- D. *Del Factor is the sterilization design criteria.*

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.

All the following statements are true except

- A. *K_s is a saturation constant.*
- B. *The value of K_s is the same as the value of the substrate concentration when μ is μ_{max}*
- C. *A small K_s value shows a high affinity for the substrate.*
- D. *For microorganisms with a high K_s value, the deceleration phase between the exponential and stationary phase is long.*

13. Semua pernyataan berikut adalah benar berkenaan penganggaran K_{La} dalam bioreaktor kecuali

- A. r_x adalah nilai kecerunan garis lurus setelah udara dihentikan.
- B. Nilai D.O. (oksigen terlarut) dengan perubahan masa dicatat dan diplot.
- C. Aras kritikal D.O. adalah mencukupi untuk penyelenggaraan sel.
- D. Bekalan udara dihentikan sehingga nilai D.O. adalah sifar sebelum disambung semula.

All the following statements are true concerning the estimation of K_{La} in a bioreactor except

- A. r_x is the value of the gradient of the straight line obtained after the air supply is stopped.*
- B. The dissolved oxygen (D.O) levels with changing time are noted and plotted.*
- C. The critical D.O. level is sufficient for cell maintenance.*
- D. The air supply is stopped until the D.O. value is zero before resuming again.*

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.

In the equation for the destruction of microorganism by moist heat, $-dN/dt = kN$. 'k' is

- A. the specific sterilization constant.*
- B. increased with an increase in sterilization temperature.*
- C. high for the more heat resistant microorganism.*
- D. not influenced by the microorganism species.*

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 diguna untuk pengeluaran asetaldehid.

Choose the correct statement

- A. *Corn steep liquor is found to contain precursor for the production of Penicillin G.*
 - B. *Phenylacetic acid is a side chain precursor for the production of 6-APA (aminopenicillanic acid).*
 - C. *Maltose is an inducer for the production of the enzyme glucoamylase.*
 - D. *Sodium bisulphate is an example of an inhibitor used in the production of acetaldehyde.*
16. 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 menggunakan kromatografi penurasan gel adalah berdasarkan saiz dan bentuk molekul.

All the following statements regarding the downstream process are true except

- A. *It is a process for recovery of products or biomass from the fermentation process.*
- B. *The first step in the downstream process for intracellular products is cell disruption.*
- C. *Separation of the solid component from the liquid component can be carried out using the filtration or centrifugation methods.*
- D. *Separation using the gel filtration chromatography is based on size and shape of molecules.*

17. Masa mastautin untuk kultur selanjat 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

The residence time for a continuous culture of 4 litres with a medium flow rate of 0.5 litre/hr is

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

18. 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 $50-300 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$. 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).

This centrifuge is useful for the separation of crystalline compounds or mycelium. It is normally used with a perforated bowl that is lined with a filter bag of nylon, cotton and others. It is normally operated at the speed of 4000 rpm for a feed rate of $50-300 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$. The centrifuge discussed is

- A. Basket centrifuge
- B. Multichamber centrifuge
- C. Disc-bowl centrifuge
- D. Tubular bowl centrifuge

19. Semua bioreaktor dibawah direkabentuk dengan nisbah tinggi:garis pusat (H:D) bernilai lebih daripada 10, kecuali
- A. fermenter *bubble column*
 - B. fermenter angkut-udara (airlift)
 - C. fermenter Waldof
 - D. fermenter *packed bed*

All the bioreactors below are designed with the height: diameter ratio (H:D) values of greater than 10, except the

- A. *bubble column fermenter*
 - B. *airlift fermenter*
 - C. *Waldof fermenter*
 - D. *Packed bed reactor*
20. Pilih pasangan yang salah berkenaan pengukuran pembolehubah proses fermentasi.
- A. suhu – *thermistor*
 - B. Kadar pengadukan – *tachometer*
 - C. Tekanan – *piezo electric transducer*
 - D. Aliran – *Diaphragm gauge*

Choose the incorrect pairs concerning the measurement of the fermentation process variables

- A. *temperature – thermistor*
- B. *Agitation rate – tachometer*
- C. *Tekanan – piezo electric transducer*
- D. *Flow – Diaphragm gauge*

Bahagian B. Pilih dan jawab hanya SATU soalan sahaja.***Part B. Choose and answer 1 question only.***

1. Anda sedang menyediakan satu prosedur penulenan enzim (protokol A). Kemudian protokol A telah dimodifikasikan dan dua prosedur lain telah disediakan iaitu protokol B dan C bagi penulenan enzim tersebut. Berikut adalah 3 prosedur penulenan enzim.

Protokol A: Langkah pertama melibatkan pemendakkan dengan 40% larutan tepu $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Protein yang telah mendak ditulenan seterusnya dengan kromatografi penukaran anion (dengan DEAE). Larutan tampan awal yang diguna ialah pH 7.0 dan protein tidak terikat kepada turus. Fraksi yang elut dari turus (= fraksi yang tidak terikat kepada turus) telah dilakukan penumpuan isoelektrik keatasnya dalam julat pH 8-10. Fraksi pada pH 9.7 mengandungi enzim tersebut.

Protokol B: Protokol A telah diubahsuai dimana kromatografi dengan DEAE dijalankan pada pH 9.0 dan fraksi yang elut daripada turus dikumpulkan.

Protokol C: Protokol A diubahsuai kepada kromatografi penukaran kation menggunakan selulosa karboksil metil, CM. Enzim terikat kepada turus CM dan elut keluar dengan penambahan larutan NaCl dengan gradien kepekatan 0 - 0.5 M.

Dalam kedua protokol B dan C, teknik penumpuan isoelektrik tidak digunakan. Keputusan skema penulenan diberikan dalam Jadual I berikut. Lengkapkan jadual tersebut dan jawab semua soalan berikut.

- (i) Kira aktiviti spesifik, tahap penulenan dan % hasil (yield) enzim tersebut pada setiap langkah dan lengkapkan jadual tersebut.
- (ii) Didapati protokol B & C adalah lebih baik daripada protokol A. Apakah faktor-faktor yang harus difikirkan apabila hendak memilih protokol B atau C?

- (iii) Apakah maklumat di dalam prosedur penulenan anda yang menyebabkan protokol B berubah dan menggunakan kromatografi penukaran kation?
- (iv) Kenapa dengan mengubah kepada pH 7.0 ke pH 9.0 dalam protokol B memberikan tahap penulenan lebih baik pada peringkat kromatografi DEAE?
- (v) Jika protein tersebut adalah 0.1% daripada ekstrak kasar, apakah peratusan daripada protein total di dalam langkah akhir adalah protein yang dikehendaki iaitu apakah tahap ketulenan protein yang anda dapati? Bagaimana anda boleh tentukan ini?
- (vi) Terangkan prinsip pemendakan amonium sulfat berperingkat .
(20 markah)

Jadual I

Langkah anda (Protokol A)	Protein (mg)	Enzim (unit)	Aktiviti Spesifik	Tahap Ketulenan	% Hasil
Ekstrak sel kasar	511	4200	8.2	--	--
Pemendakkan dengan larutan tepu 40% (NH ₄) ₂ SO ₄	181	3991			
Fraksi yang dielut daripada teknik turus DEAE, pH 7.0	67.6	3787			
Penumpuan Isoelektrik (pH 9.7)	3.8	2949			

Langkah Protokol B	Protein (mg)	Enzim (unit)	Aktiviti Spesifik	Tahap Ketulenan	% Hasil
Ekstrak sel kasar	714	5880		--	--
Pemendakkan dengan larutan tepu 40% (NH ₄) ₂ SO ₄	253	5584			
Fraksi yang dielut daripada teknik turus DEAE, pH 7.0	5.1	5174			

Langkah Protokol C	Protein (mg)	Enzim (unit)	Aktiviti Spesifik	Tahap Ketulenan	% Hasil
Ekstrak sel kasar	410	3360		--	--
Pemendakkan dengan larutan tepu 40% (NH ₄) ₂ SO ₄	146	3192			
CM, pH 7.0, gradien NaCl	1.9	2516			

You are developing a purification scheme for an enzyme (**protocol A**). Later, protocol A was modified and two other procedures, **Protocol B** and **C** were used for the enzyme purification.. These 3 different purification schemes for the enzyme purification is shown below :

Protocol A: The first step is a 40% saturated $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ precipitation. The precipitated protein is subsequently subjected to anion exchange chromatography (using DEAE). The starting buffer is pH 7.0 and the protein does not bind to the column. The flow through fraction (= the fraction that does not bind) was then subjected to preparative isoelectric focusing using pH range of 8-10. The fraction at pH 9.7 contained the enzyme.

Protocol B: Protocol A was modified whereby, DEAE column was run at pH 9.0 instead, and the collected flow through fraction was collected.

Protocol C: Protocol A was modified whereby cation exchange chromatography using carboxyl methyl cellulose, CM was performed instead. The enzyme bound to the CM column and was eluted with 0 – 0.5 M NaCl gradient.

In both protocols B and C, isoelectric focusing was not performed. The results of the purification schemes are given in the Table I below. Complete the tables and answer all these questions.

- (i) Calculate the specific activity, fold purification and the % yield for each step and fill in the values in the appropriate places on the 3 tables.
- (ii) You realize that the other two protocols B & C are improved methods. What factors would you consider in choosing between protocol B or protocol C.
- (iii) What information in protocol A prompted a modification to the procedure i.e. to switch to cation exchange chromatography as performed in protocol C?

- (iv) *Why did switching the pH from 7.0 to 9.0 in protocol B result in a better fold-purification at the DEAE chromatography step?*
- (v) *If your protein is approximately 0.1% of the initial starting material, what percentage of the total protein in the last step in protocol A is probably your protein. In other words, how pure is your protein? How could you assess this?*
- (vi) *Explain the principles of fractionation by precipitation with ammonium sulfate.*

(20 marks)

<i>Your steps (Protocol A)</i>	<i>Total recovery</i>		<i>Specific activity</i>	<i>Fold- purified</i>	<i>% Yield</i>
	<i>Protein (mg)</i>	<i>Enzyme (units)</i>			
<i>Crude extract</i>	511	4200	8.2	--	--
<i>40% (NH₄)₂SO₄ precipitation</i>	181	3991			
<i>DEAE flow through, pH 7.0</i>	67.6	3787			
<i>Isoelectric focusing (pH 9.7)</i>	3.8	2949			

<i>Protocol B</i>	<i>Total recovery</i>		<i>Specific activity</i>	<i>Fold- purified</i>	<i>% Yield</i>
	<i>Protein (mg)</i>	<i>Enzyme (units)</i>			
<i>Crude extract</i>	714	5880		--	--
<i>40% (NH₄)₂SO₄ precipitation</i>	253	5584			
<i>DEAE flow through, pH 7.0</i>	5.1	5174			

<i>Protocol C</i>	<i>Total recovery</i>		<i>Specific activity</i>	<i>Fold- purified</i>	<i>% Yield</i>
	<i>Protein (mg)</i>	<i>Enzyme (units)</i>			
<i>Crude extract</i>	410	3360		--	--
<i>40% (NH₄)₂SO₄ precipitation</i>	146	3192			
<i>CM, pH 7.0, NaCl gradient</i>	1.9	2516			

2. Jawab semua bahagian soalan ini.

- (a) Terangkan bagaimana faktor-faktor yang mempengaruhi sifat keterlarutan sesuatu protein globular dapat digunakan dalam langkah penulenan enzim
(8 markah)
- (b) Terangkan proses berenzim untuk penyediaan sirap jagung fruktosa tinggi (HFCS) daripada kanji.
(4 markah)
- (c) Terangkan dengan ringkas pemendakan protein dengan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.
(4 markah)
- (d) Terangkan bagaimana proses penjernihan jus buah epal berlaku berasaskan langkah-langkah penting dalam eskperimen yang dilakukan dalam makmal.
(4 markah)

Answer all parts in this question.

- (a) *Explain how factors that influence the solubility of a globular protein could be used in enzyme purification steps.*
(8 marks)
- (b) *Explain the enzymatic process for preparation of high fructose corn syrup from starch.*
(4 marks)
- (c) *Explain briefly protein precipitation with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.*
(4 marks)
- (d) *Explain the process of juice clarification based on the experimental procedures performed in the laboratory.*
(4 marks)

Bahagian C. Jawab DUA soalan sahaja.
Part C. Answer TWO questions only.

3. Tuliskan catatan-catatan ringkas bagi semua bahagian yang berikut.

- (a) Fermenter angkut udara
- (b) Agitasi semasa fermentasi
- (c) Fermentasi keadaan pepejal
- (d) Kultur selanjor

(20 markah)

Write short notes for all of the following parts.

- (a) *Airlift fermenters*
- (b) *Agitation during fermentation*
- (c) *Solid state fermentation*
- (d) *Continuous culture*

(20 marks)

4. Jawab kedua-dua bahagian soalan ini.

- (a) Salah satu cara untuk meningkatkan produktiviti ialah dengan pembaikan strain melalui mutasi. Berdasarkan Rajah 1 berkenaan kawalan biosintesis asid amino dalam *Corynebacterium glutamicum*, huraikan cara mendapatkan mutan yang dapat menghasilkan lisina yang berlebihan.

(10 markah)

- (b) Huraikan kaedah pemencilan dan penyaringan yang akan anda lakukan untuk mendapatkan strain mikroorganisma yang menghasilkan lisina dalam kuantiti yang banyak.

(10 markah)

Answer both parts of this question.

- (a) *One of the ways to increase productivity is by strain improvement through mutation. Based on the diagram 1 on the regulation of amino acids biosynthesis in Corynebacterium glutamicum, describe how a lysine overproducing mutant can be obtained.*
(10 marks)
- (b) *Describe the isolation and screening methods that you would use to obtain the strain of microorganism which is a lysine overproducer.*
(10 marks)

5. Jawab semua bahagian soalan ini.

- (a) Fermentasi penghasilan cuka di tempat anda bekerja melibatkan proses aerobik dengan bekalan udara 1.0 vvm kepada fermenter tangki teraduk berukuran 50 m³ yang 70 % penuh dengan kaldu fermentasi. Fermentasi dijalankan secara berkelompok selama 100 jam dan bekalan udara adalah pada kelajuan linear optimum iaitu 0.2 ms⁻¹ untuk penuras yang diguna ($k=2.565 \text{ cm}^{-1}$). Udara di dalam loji mengandungi 250 mikroorganisma per meter³. Kirakan ukuran (kedalaman dan garispusat) penuras yang perlu diguna untuk mendapat kesterilan yang dihajati.
(8 markah)
- (b) Walau bagaimana pun, loji menghadapi masalah bekalan udara dan kelajuan linear berubah-ubah dari masa ke semasa untuk beberapa minit. Bagaimanakah kesan perubahan kelajuan linear udara kepada keberkesanan penurasan dan pencapaian kesterilan yang dihajati?
(2 markah)
- (c) Huraikan proses fermentasi dalam penghasilan kicap soya di Malaysia dan cara-cara untuk memajukan lagi industri tersebut di negara ini dari aspek bioteknologi.
(10 markah)

Answer all parts of this question.

- (a) *The fermentation process for the production of vinegar at your workplace involves an aerobic fermentation with an air supply of 1.0 vvm to the 50 m³ continuous stirred tank reactor filled up to 70% with fermentation broth. The batch fermentation is carried out for 100 hours and air supply is at the optimum linear velocity of 0.2 ms⁻¹ for the filter used ($k=2.565 \text{ cm}^{-1}$). The air in the plant contains 250 microorganisms per cubic meter. Calculate the dimension (depth and diameter) of the filter to be used to achieve the desired sterility.*
- (8 marks)*
- (b) *However, the plant faces problem of air supply and the linear velocity occasionally changes for a few minutes. How is the effect of the change in linear velocity of the air supply to the filtration efficiency and attainment of the desired sterility?*
- (2 marks)*
- (c) *Describe the fermentation processes in soya sauce production in Malaysia, and ways to further develop this industry from the biotechnological aspects.*
- (10 marks)*

Bahagian D. Jawab satu soalan sahaja.

Part D. Answer ONE question only.

6. Jawab kedua-dua bahagian soalan ini.
- (a) Apakah pengklonan gen?
 - (b) Jelaskan impak pengklonan gen terhadap penyelidikan dan bioteknologi.
- (20 markah)

Answer both parts of this question.

- (a) *What is gene cloning?*
- (b) *Explain the impact of gene cloning on research and biotechnology*
(20 marks)

7. Jawab kedua-dua bahagian soalan ini.
- (a) Mengapakah pengklonan gen itu penting?
 - (b) Bagaimanakah penghadaman terbatas di dalam makmal dilakukan?
- (20 markah)

Answer both parts of this question.

- (a) *Why is gene cloning important?*
- (b) *How is a restriction digest performed in the laboratory?*
(20 marks)