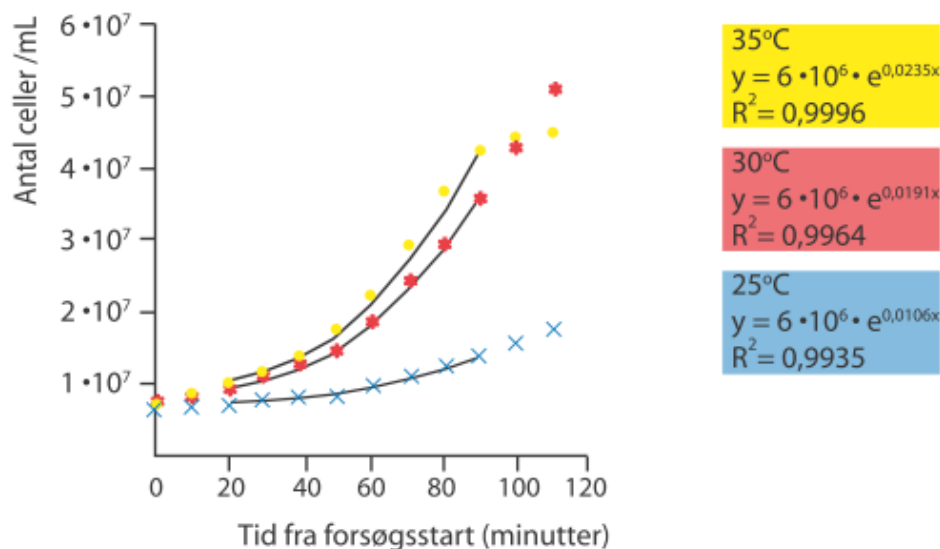


Opgave 3. *Vækstforsøg med bakteriekulturer*

For at kunne udnytte mikroorganismer til fermentering må man kunne styre deres vækst. Man kan ved laboratorieforsøg undersøge, hvordan en bakteriekulturs vækst afhænger af forskellige vækstfaktorer, som fx temperatur og surhedsgrad.

Den marine bakterie *Vibrio natriagens* forekommer hyppigt i mudder på tidevandsflader, hvor saltholdigheden varierer. Bakterien er heterotrof og kan både udføre respiration og gæring. *Vibrio natriagens* er karakteriseret ved meget høj vækstrate ved gode vækstbetingelser. Det skyldes først og fremmest, at bakterien har et stort antal gener for ribosomalt RNA. Disse gener har samtidig promotorer, som er lette at aktivere.

Et vækstforsøg med *Vibrio natriagens* blev udført ved tre forskellige temperaturer. Forsøget blev udført i kolber med 1,00 L flydende næringsmedie. Mediet, Lysogeny Broth (LB)-medium indeholdt trypton¹, gærekstrakt og havsalt. Indholdsstofferne blev opløst i demineraliseret vand til et totalt volumen på 1,00 L. Mediets pH blev justeret til 8,1, hvorefter det blev autoklaveret. Resultaterne af vækstforsøget ses i *figur 1*.

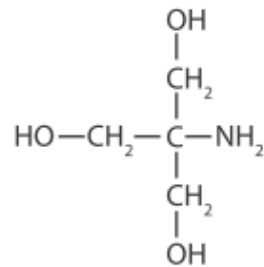


Figur 1.
Vækst af *Vibrio natriagens* ved forskellige temperaturer. Tendenskurverne er beregnede for tidsintervallet 20 til 80 minutter.

1. Gør rede for en metode til bestemmelse af antallet af bakterier i et vækstforsøg som ovennævnte.
2. Beregn ud fra tendenskurverne i *figur 1* bakteriekulturens fordoblingstid ved hver temperatur. Forklar resultaterne.

¹ Trypton er proteinet casein fordøjet med enzymet trypsin.

Næringsmediets pH blev ved forsøgets start justeret til 8,1 med pufferen TRIS (2-amin-2-(hydroxymethyl)propan-1,3-diol).



Figur 2.
Strukturformel for TRIS, pK_B 5,9 ved 25° C.

3. Angiv strukturen af den korresponderende syre til TRIS.

Ved vækstforsøget blev der tilsat 10,0 mL 0,00100 M TRIS til næringsmediet, og der blev i løbet af forsøget produceret $3,24 \cdot 10^{-7}$ mol oxonium i en af kolberne.

4. Beregn mediets pH-værdi ved forsøgets afslutning i den pågældende kolbe.
5. Forklar, hvordan bakteriers aktivitet kan føre til produktion af oxonium.
6. Forklar, hvordan det kan påvirke resultaterne, hvis der ikke tilsættes en puffer til mediet i det omtalte vækstforsøg.