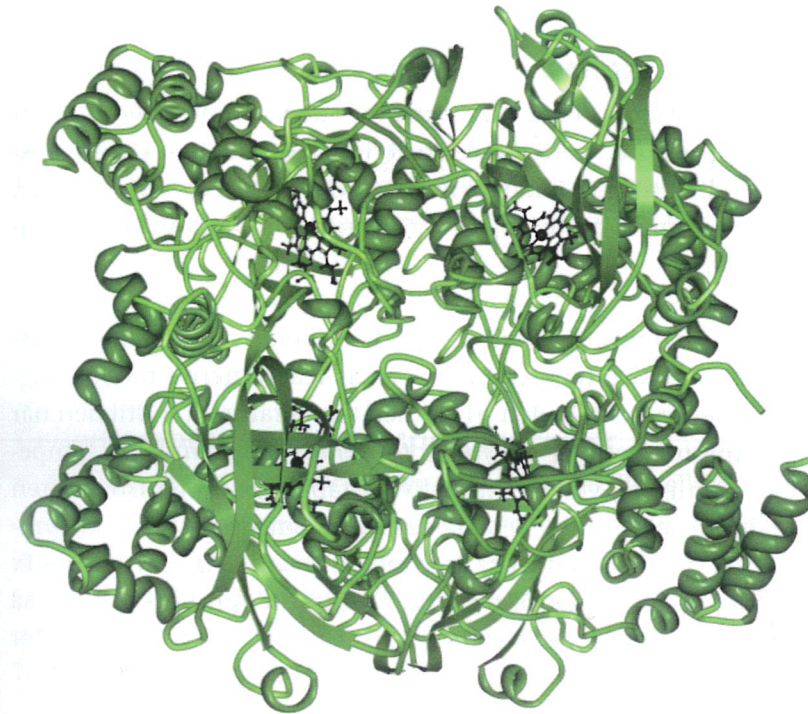


Enzymer

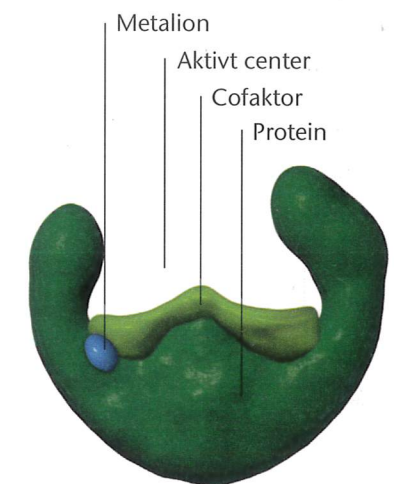
Alle levende celler indeholder *enzymer*. Enzymer er nødvendige for de kemiske processer der foregår i kroppen. Når maden skal fordøjes, sker det vha. enzymer. Når glucosemolekyler skal bindes sammen til stivelse, eller cellen skal danne nye proteiner, kan det også kun ske vha. enzymer. Et eksempel på et enzym er *katalase* der ses på figur 19.



Enzymet bruges når cellerne under særlige omstændigheder danner hydrogenperoxid, H_2O_2 (brintoverilte). Hydrogenperoxid er meget reaktivt og dermed skadeligt for cellerne. I de fleste celler findes derfor katalase som kan nedbryde hydrogenperoxid. Katalase er naturens mest effektive enzym, det kan uskadeliggøre 40 millioner hydrogenperoxidmolekyler i sekundet.

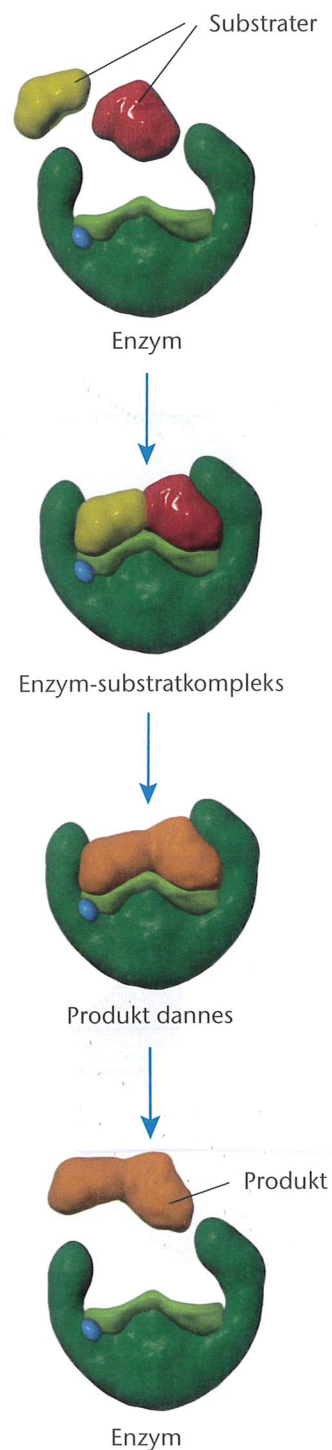
Enzymer er opbygget af store proteinkæder der er foldet, så de får en bestemt rumlig struktur som er specifik for det pågældende enzym. Der er ofte knyttet en metalion og en organisk cofaktor til enzymet, se figur 20. Når enzymet er specifikt, betyder det at dets rumlige struktur passer lige præcis sammen med det eller de molekyler, som det skal virke på.

Figur 19. Enzymet katalase indeholder fire aktive centre hvor hydrogenperoxid bindes og nedbrydes.



Figur 20. Enzymer er store komplekse molekyler opbygget af proteiner. De indeholder ofte også en metalion og en cofaktor som fx kan være et vitamin.

Figur 21. To substratmolekyler bindes sammen af et enzym gennem to processer. Først bindes de to molekyler til enzymet. Derefter bindes de sammen. Der dannes et produkt som så frigøres fra enzymet.

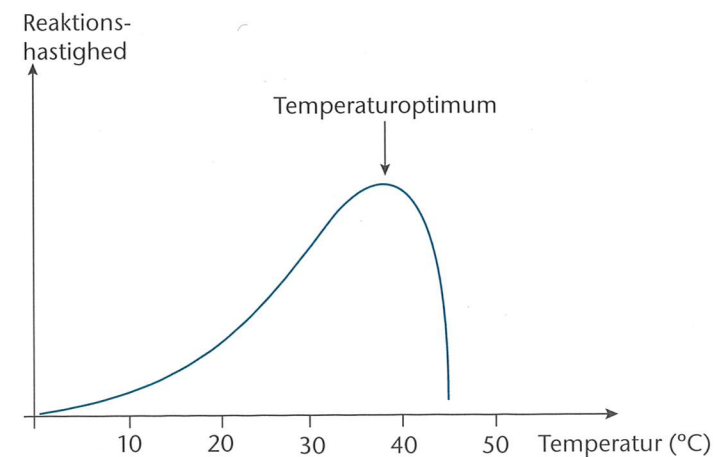


Figur 21 viser hvordan et enzym først binder to stoffer, *substrater*, og derefter medvirker til at danne en binding imellem dem. Resultatet er et nyt molekyle, også kaldet produktet. Herefter frigøres produktet fra enzymet der så er klar til at omdanne nyt substrat. Enzymer kan altså binde molekyler sammen som i eksemplet med stivelse. Desuden kan de ofte reagere begge veje, dvs. at de både medvirker til at opbygge og nedbryde bindinger.

Reaktionshastighed

Enzyms aktivitet måles i hvor mange substratmolekyler der omdannes pr. sekund. Dette kaldes reaktionshastigheden. Denne hastighed er afhængig af mængden af substrat og antallet af enzymer. Desuden er temperaturen og pH afgørende for hvor effektivt et enzym virker.

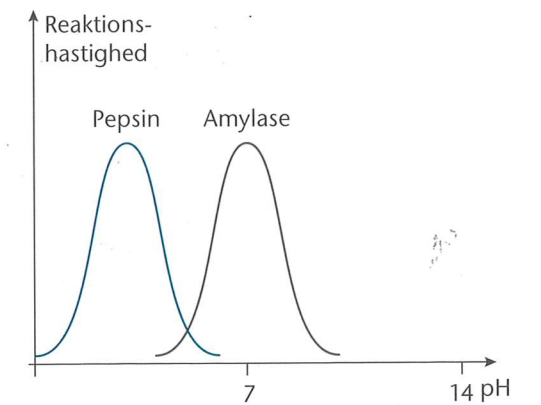
Figur 22 viser hvilken betydning temperaturen har for reaktionshastigheden. Ved lave temperaturer foregår reaktionerne meget langsomt hvorefter hastigheden stiger med temperaturen, indtil den når et maksimum. Dette er enzymets *temperaturoptimum*. Øges temperaturen yderligere, vil enzymet blive ustabilt, og proteinstrukturen begynder at ændre sig. Ved meget høje temperaturer vil enzymstrukturen blive helt ødelagt. Enzymet er *denatureret*. Det kendes fx fra bagning hvor gæren ofte udrøres i lunkent vand eller mælk, så gærenzymerne hurtigt kan få brødet til at hæve. Er væsken blevet for varm når man tilsætter gæret, vil brødet slet ikke hæve.



Figur 22. Enzyms reaktionshastighed afhænger af temperaturen. Reaktionshastigheden angiver hvor mange molekyler enzymet kan omdanne pr. tidsenhed, fx i sekundet.

I menneskekroppen har enzymerne ofte et temperaturoptimum der ligger på ca. 37 °C, mens det i andre organismer der er tilpasset kolde eller varme omgivelser, kan være helt anderledes. Fx kan bakterier der lever i varme kilder, have et temperaturoptimum nær kogepunktet.

Figur 23 viser to enzyms reaktionshastigheder ved forskellige pH-værdier. Også her er der tale om en bestemt pH-værdi hvor reaktionshastigheden er maksimal, det kaldes *pH-optimum*. Pepsin har fx et pH-optimum der ligger langt under amylases. Det er tilpasset den pH der er i mavesækken, mens amylase virker bedst ved neutral pH.



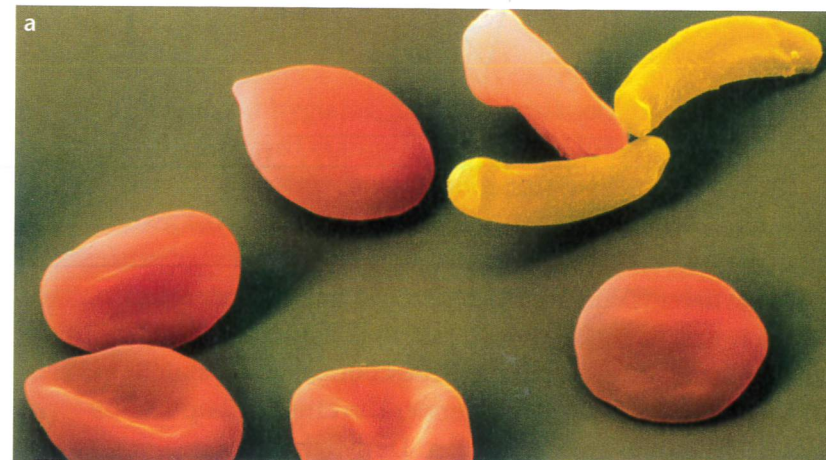
Figur 23. Enzyms reaktionshastighed afhænger af pH-værdien. Forskellige enzymer er tilpasset til at fungere ved forskellige pH-værdier.

Enzymer findes ikke kun i kroppens celler, de anvendes også i industrien til en lang række processer ved fremstilling af fx øl, vin brød og medicin. Enzymer kendes også fra vaskepulver. Her skal enzymerne både kunne fungere ved høj temperatur og ved vaskepulverets høje pH.

Mikrobiologi

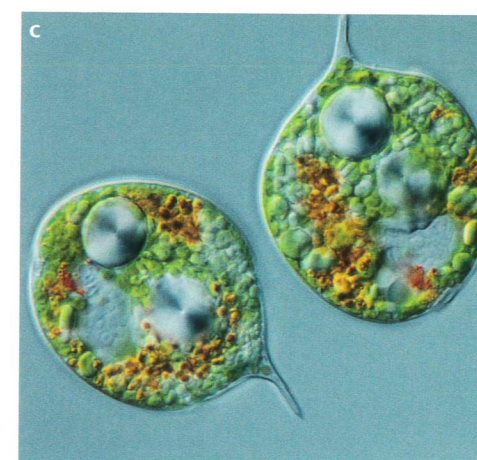
Virus, bakterier og andre organismer der er for små til at kunne ses med det blotte øje, kaldes for mikroorganismer. Den gren af biologien der beskæftiger sig med dem, kaldes for mikrobiologi. Alle prokaryoter er mikroorganismer, men der findes også mange forskellige slags eukaryote mikroorganismer som fx gærsvampe, encellede dyr (*protozoer*) og mikroskopiske alger, se figur 40. Mikrobiologer arbejder bl.a. med at kortlægge jordens mangfoldighed af mikroorganismer samt deres funktion og komplekse samspil med andre organismer og deres omgivelser.

Mikroorganismer er afgørende for omsætning af organisk stof i jordens økosystemer fx som en uundværlig del af nedbryderfødekæder, men de udfylder også mange andre niches i naturen. Mikroskopiske alger og *cyanobakterier* laver fotosyntese og indgår som primærproducent i græsningsfødekæderne. Nogle encellede dyr lever som parasitter og kan ved infektion af en værtsorganisme, ligesom mange bakterier og virus, forårsage forskellige sygdomme.



Figur 40.

- a. Sygdommen malaria opstår når de røde blodceller inficeres med protozoen *Plasmodium falciparum*, som her er vist med gult.
- b. Gærceller dyrket på agar i petriskål.
- c. Euglena er en encellet mikroorganisme der kan lave fotosyntese.



Mikroorganismer kan forårsage sygdom

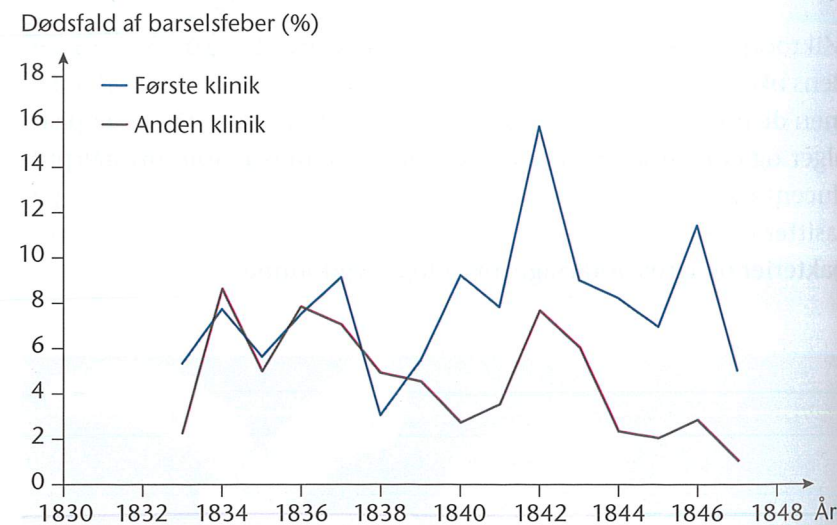
Nogle mikroorganismer kan forårsage sygdom hos mennesker. Sådanne sygdomme kaldes med et fælles begreb for *infektionssygdomme*, og de sygdomsfremkaldende mikroorganismer betegnes som *patogene*. Erkendelsen af mikroorganismers rolle ved nogle former for sygdom opstod gradvist igennem 1800-tallet, og det medførte bl.a. en forståelse af vigtigheden af god hygiejne.

Barselsfeber og håndhygiejne

En af de første der arbejdede videnskabeligt med effekten af håndhygiejne, var den Ungarske læge Ignaz Semmelweis der var ansat på et hospital i Wien fra 1846-1849. Semmelweis var optaget af at forstå årsagerne til sygdommen *barselsfeber* der hvert år kostede mange mødre livet kort tid efter fødslen.

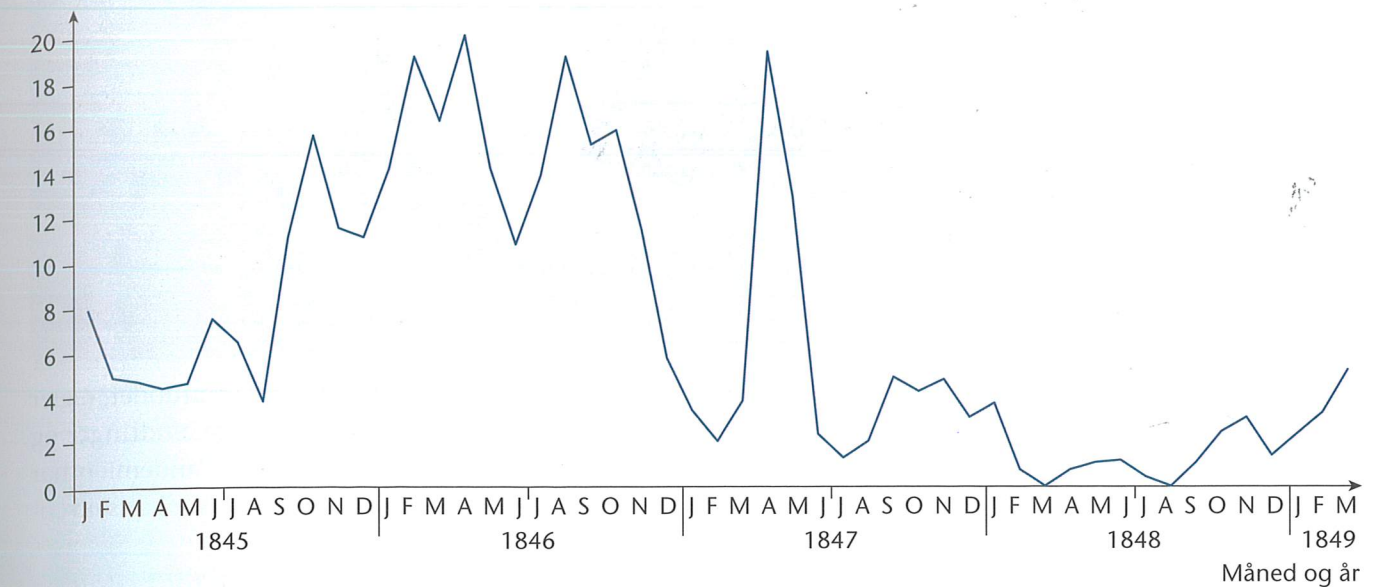
Hospitalet i Wien hvor Semmelweis arbejdede, havde siden 1833 haft to forskellige fødeafdelinger. I starten blev de to fødeafdelinger drevet på samme måde, men fra 1841 blev den første afdeling primært passet af lægestuderende, mens den anden blev passet af jordemorstuderende. Semmelweis undersøgte bl.a. forskellen i dødelighed i de to forskellige klinikker, se figur 41.

Figur 41. Dødsfald pga. barselsfeber i % af antal fødsler på de to forskellige fødeklinikker.



Han opstillede en hypotese om at der blev overført sygdomsfremkaldende partikler via de lægestuderendes hænder fra de lig, de obducerede på hospitalet, til de kvinder de hjalp på fødeafdelingen. Derfor indførte Semmelweis i sommeren 1847 en regel om at de lægestuderende altid skulle vaske deres hænder i en chlorkalk-opløsning før de tilså kvinderne på fødeafdelingen. Dødeligheden i den første føde-

Dødsfald af barselsfeber (%)



klinik faldt umiddelbart derefter til et niveau svarende til den anden fødeklinik på hospitalet, se figur 42.

Figur 42. Dødsfald pga. barselsfeber på den første fødeklinik, angivet på månedsbasis.

Semmelweis' data ser ud til at vise en sammenhæng mellem indførsel af bedre håndhygiejne og risikoen for at kvinder dør af barselsfeber, og ser derfor ud til at understøtte hans hypotese. Hans ideer passede dog ikke med tidens gængse forståelse af sygdom. Da han ikke kunne fremvise det sygdomsfremkaldende stof, og derfor heller ikke redegøre tilfredsstillende for en mulig årsagssammenhæng, mødte hans ideer stor modstand blandt hans kollegaer. Vigtigheden af håndvask og hygiejne blev derfor ikke i første omgang alment accepteret. Først flere år senere, efter Semmelweis' død i 1865, blev mikroorganismers sygdomsfremkaldende rolle og hygiejnens vigtighed anerkendt af lægevidenskaben.

COVID-19 pandemien

I dag ved vi at god hygiejne mindsker risikoen for at blive smittet eller smitte andre med mange infektionssygdomme. Et eksempel er det relativt nyopdagede *coronavirus SARS-CoV-2* der kan forårsage sygdommen *COVID-19*. Indledende studier tyder på at SARS-CoV-2 muligvis er udviklet i flagermus, og at de første mennesker sandsynligvis blev smittet i anden halvdel af 2019. Hvorvidt smitten er sket direkte fra en flagermus eller gennem en anden dyrevært, er stadig uafklaret. Det nyopdagede coronavirus store smitsomhed blandt mennesker medførte en verdensomspændende epidemi (pandemi).

Figur 43. Mundbind og håndsprit blev hurtigt en del af dagligdagen under COVID-19 pandemien.



Pandemien medførte bl.a. nedlukninger af dele af samfundet, regler for forsamlings og opfordringer til adfærdsmæssige ændringer og forbedret hygiejne hos befolkningerne, se figur 43. Pandemien har medført store sundhedsmæssige, sociale og økonomiske konsekvenser i det meste af verden.

Pasteurisering

Louis Pasteur levede i 1800-tallet og var en af datidens største videnskabsmænd. Han var bl.a. medvirkende til at afkræfte teorien om spontan genese som beskrevet på side 12. Pasteur arbejdede også med forskellige gæringsprocesser og opfandt en metode til at behandle mad og drikkevarer så man mindsker risikoen for skadelig bakterievækst. Metoden kaldes i dag for *pasteurisering* og består i at man opvarmer fødevarer, typisk til mellem 60 og 80 °C i kortere eller længere tid. Derved dræbes de fleste skadelige mikroorganismer uden at fødevarens smag og ernæringsværdi forringes, hvilket typisk vil være tilfældet ved en kogning ved 100 °C. Pasteurisering er en væsentlig årsag til at mange typer mad og drikkevarer har en relativ lang holdbarhed, se figur 44.

Der er bakterier alle vegne

Da de fleste bakterier primært formerer sig ukønnet, er det biologiske artsbegreb som forklares på side 198, ikke særlig godt til at definere hvornår to bakterier tilhører samme art. Desuden kan meget forskellige bakterier i nogle tilfælde udveksle gener med hinanden fx ved hjælp af overførsel af plasmider. Det ser man bl.a. ved udvikling af antibiotikaresistens som er beskrevet nærmere på side 208. Bakteriearter er derfor i stedet typisk bestemt ud fra fysiologiske egenskaber, og hvor stor genetisk lighed deres genomer har.

Bakterier er ekstremt talrige på jorden. Typisk kræves det at man er i stand til at isolere og dyrke en bakterie i en renkultur, før man kan

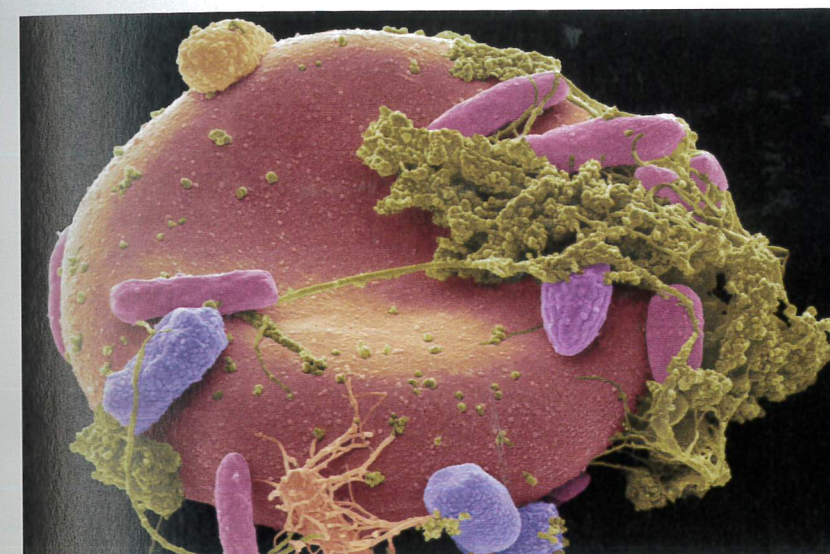


Figur 44. Øl og mælk er eksempler på drikkevarer der ofte er pasteuriseret.

beskrive den videnskabeligt på tilfredsstillende vis. Der findes mere end 30.000 navngivne bakteriearter, men man ved at der findes mange flere. Der er mange bakterier, man endnu ikke har fundet ud af at dyrke i renkultur og derfor kendes deres eksistens kun ud fra fund af deres DNA. DNA-studier af jordprøver har vist at der findes mellem få hundrede og måske op til flere hundrede tusinde forskellige bakteriearter pr. gram jord, men tallene er meget usikre.

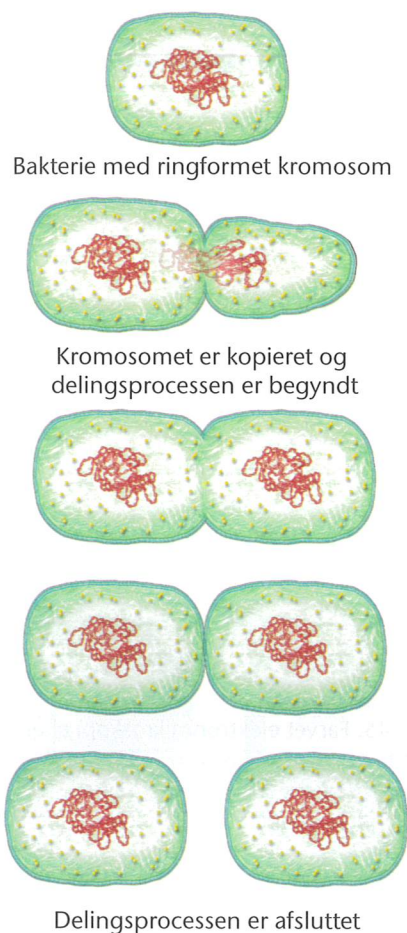
Bakterier er vigtige for vores helbred

Nogle bakterier kan medføre sygdomme, mens andre bakterier er gavnlige for helbredet. En gennemsnitlig menneskekrop indeholder ca. 10 gange så mange bakterier som menneskeceller. Bakterierne findes normalt på kroppens indre og ydre overflader, heraf langt de fleste i fordøjelsessystemet, se figur 45. Der findes også mange bakterier på huden og slimhinderne. Finder man bakterier i blod eller væv, er der tale om en infektion hvor bakterierne har gennembrudt kroppens ydre forsvarsbarriere. Dem vil immunforsvaret forsøge at bekæmpe da de normalt vil medføre sygdom og kan være livstruende.



Figur 45. Farvet elektronmikroskopi af en rød blodcelle med fækalier og forskellige tarmbakterier. Prøven er fra en patient med blod i afføringen.

Der forskes meget i hvordan bakterier påvirker helbredet. Der findes fx firmaer der tilbyder at lave DNA-analyser af den bakterielle mangfoldighed i ens afføring. De senere år er flere læger begyndt at eksperimentere med at udføre *fæcestransplantationer*. Her overføres tarmbakterier fra en rask til en syg person der fx lider af kronisk tarmbetændelse, i håbet om at bakterierne fra den raske persons tarmsystem kan have en gavnlig effekt på den syge. Flere forsøg har vist lovende resultater, men der er stadig mange uafklarede spørgsmål inden for dette forskningsområde.



Figur 46. Bakteriers celledeling.

Mikrobiel vækst

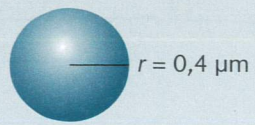
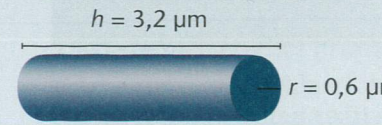
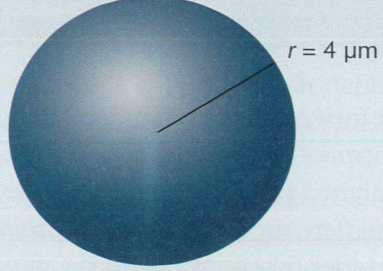
Når bakterier under de rette omstændigheder deler sig ukønnet, bliver de til to genetisk identiske bakterier der så hver især igen kan dele sig. Bakterier har kun ét kromosom. Inden bakterien deler sig, laves der en kopi af kromosomet hvorefter de to identiske kromosomer bevæger sig til hver sin ende af cellen. Celledelingen afsluttes ved at cellen deles på midten så der derved dannes to nye bakterier, se figur 46.

Vækstfaktorer

Hvor hurtigt en mikroorganisme kan dele sig, afhænger af mange forskellige faktorer som fx temperatur, pH og koncentrationen af nødvendige næringsstoffer. Forskellige mikroorganismer har ved optimale vækstbetingelser meget forskellige væksthastigheder. Den afhænger bl.a. af deres evne til at producere nødvendige enzymer og optage næringsstoffer fra det vækstmedie, de lever i.

Da optagelsen af næringsstoffer normalt foregår igennem cellemembranen, har størrelsen og formen af mikroorganismen stor betydning. Mindre celler har normalt en større overflade i forhold til deres volumen end store celler. Formen er dog også vigtig for overflade/volumen-forholdet af en celle, se figur 47.

Et større overflade/volumen-forhold muliggør en mere effektiv næringsstofoptagelse igennem cellemembranen. Det er en af grundene til at bakterier som *Escherichia coli* normalt har væsentlig højere vækstrater end fx eukaryote gærceller, der er meget større.

Prokaryoter		Eukaryoter
Kugleformede bakterier (kokker) fx: <i>Staphylococcus aureus</i>	Stavformede bakterier fx: <i>Escherichia coli</i>	Gærceller fx: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
 $r = 0,4 \mu\text{m}$	 $h = 3,2 \mu\text{m}$ $r = 0,6 \mu\text{m}$	 $r = 4 \mu\text{m}$
$O: 4\pi r^2 = 2,01 \mu\text{m}^2$ $V: \frac{4}{3}\pi r^3 = 0,268 \mu\text{m}^3$ $O/V = 7,5 \mu\text{m}^{-1}$	$O: 2\pi r^2 + 2\pi rh = 14,3 \mu\text{m}^2$ $V: \pi r^2 h = 3,62 \mu\text{m}^3$ $O/V = 12 \mu\text{m}^{-1}$	$O: 4\pi r^2 = 201 \mu\text{m}^2$ $V: \frac{4}{3}\pi r^3 = 268 \mu\text{m}^3$ $O/V = 0,75 \mu\text{m}^{-1}$

Figur 47. Eksempler på overflade/volumen-forhold hos forskellige typer mikroorganismer.

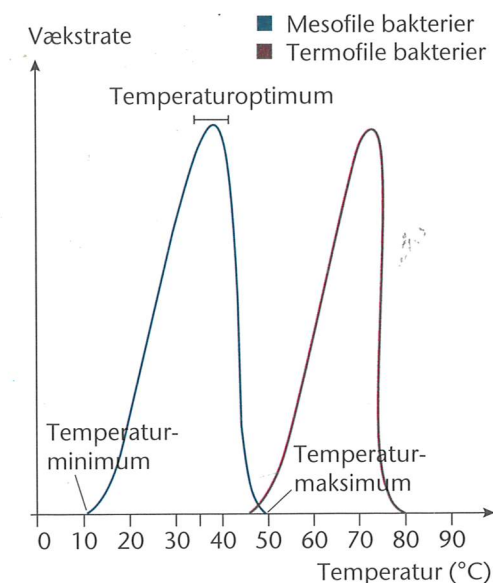
Temperaturen påvirker væksthastigheden

Optagelseshastigheden af næringsstoffer og hastigheden af cellens biokemiske reaktioner afhænger direkte af temperaturen. Ved højere temperaturer bevæger molekyler sig hurtigere og derfor sker diffusionen også hurtigere. Hastigheden på enzymatiske reaktioner afhænger bl.a. af hvor hurtigt substrat og enzym mødes og binder til hinanden, og denne hastighed afhænger bl.a. af molekylernes bevægelseshastighed. Det betyder at mikroorganismernes væksthastighed øges med stigende temperatur, dog kun til et vist punkt. Alle mikroorganismer har et temperaturoptimum hvor deres væksthastighed er højest. Ved højere temperatur denaturerer mikroorganismernes enzymer, og derved dør mikroorganismene. Forskellige mikroorganismer er tilpasset et liv i forskellige miljøer og dermed også forskellige temperaturer. Mange bakterier har et relativt snævert temperaturinterval hvori de kan overleve og formere sig.

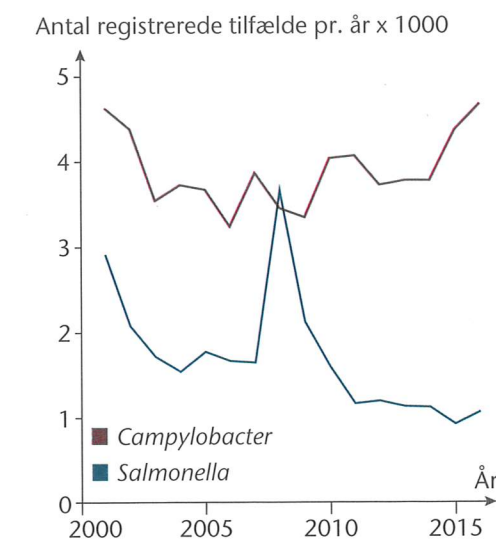
Mikroorganismer der er tilknyttet mennesket, har typisk et temperaturoptimum ved 37 °C eller lidt derover. Sådanne bakterier kaldes for *mesofile bakterier*. De kan som regel dyrkes i et varmeskab ved ca. 37 °C. Bakterier der trives i høje temperaturer, kaldes for *termofile bakterier*. Figur 48 viser hvordan væksthastigheden af to forskellige typer bakterier afhænger af temperaturen.

Mad og drikkevarer er hyppige kilder til bakterielle infektioner og dermed til sygdom hos mennesker. Derfor er det vigtigt at man kender til god køkkenhygiejne, og behandler og opbevarer fødevarer på hensigtsmæssige måder. Der er bakterier alle vegne, også på vores hænder, og det er meget let at komme til at overføre bakterier til en madvare under tilberedning. Hvis bakterierne i disse madvarer efterfølgende får gode vækstbetingelser, fx hvis den opbevares for varmt, så kan få bakterier i løbet af nogle timer bliver til mange og forårsage alvorlig sygdom.

Bakterievækstens afhængighed af temperaturen forklarer hvorfor det er hensigtsmæssigt at opbevare mange typer fødevarer på køl, da det begrænser væksten af uønskede bakterier. Ligeledes findes her forklaringen på hvorfor det er vigtigt at fx fersk kyllingekød opvarmes så alt kødet opnår en temperatur på 75 °C under tilberedningen. De høje temperaturer vil dræbe mange patogene bakterier som fx salmonella- og campylobacter-bakterier hvis de skulle være til stede, se figur 49.



Figur 48. Væksthastigheden hos bakterier afhænger bl.a. af temperaturen.



Figur 49. Antal danskere diagnosticeret med salmonella- eller campylobacterinfektion i perioden fra 2001-2016.

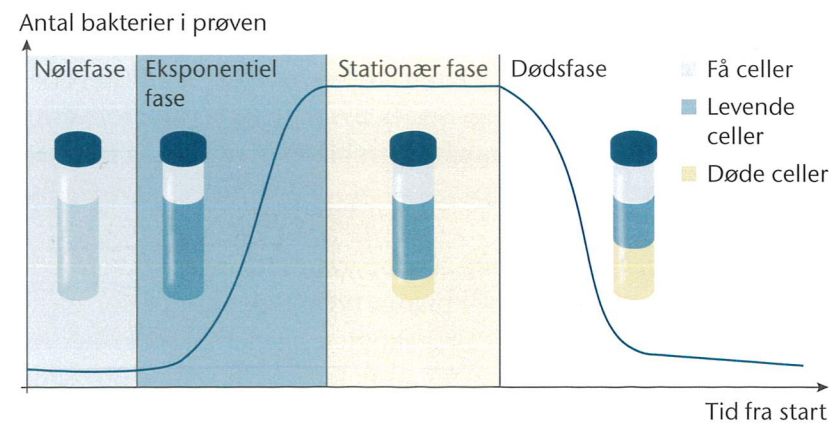
Gærceller foretrækker et surere miljø end bakterier

Mens de fleste bakterier foretrækker en surhedsgrad tæt på 7, lever mange gærsvampe bedre ved en lidt lavere pH, se figur 367 side 257. Det udnytter man bl.a. ved syltning hvor pH sænkes for at undgå uønsket bakterievækst. Der findes dog også bakterier hvis pH-optimum er markant forskellig fra 7. Det kan fx være bakterier der er tilpasset livet under basiske forhold. De har udviklet fordøjelses-enzymmer der fungerer bedst ved en pH højere end 7. Denne type fordøjelsesenzymmer med et højt pH-optimum anvendes bl.a. industrielt i vaskemidler hvor sæbestofferne normalt gør opløsninger basiske. Enzymerne der anvendes i vaskemidlerne produceres i dag som oftest i store gæringstanke vha. genmodificerede mikroorganismer. Læs mere på side 48 om hvordan man kan skabe en genmodificeret mikroorganisme.

Den mikrobielle vækstkurve

Væksten af bakterier følger typisk det forløb der er vist i figur 50. Dette forløb kaldes for den *mikrobielle vækstkurve* og består af fire faser. Den første fase kaldes for *nølefasen* hvor bakterierne bl.a. danner de nødvendige enzymer og tilpasser deres livsprocesser til det givne miljø. Nølefasen kan vare kortere eller længere tid og er generelt kendetegnet ved at antallet af bakterier er nogenlunde konstant. På et tidspunkt begynder bakterierne at vokse i antal, og populationen befinder sig nu i den eksponentielle fase.

Figur 50. Den mikrobielle vækstkurves fire faser.



I den *eksponentielle fase* deler bakterierne sig hurtigere, og der dannes flere nye bakterier end der dør. Vækstraten i denne periode er normalt nogenlunde konstant. Antallet af bakterier følger derfor i en eksponentiel vækstfunktion indtil væksten bliver begrænset. Væksten begrænses typisk af mangel på resurser eller plads.

Efter en periode med eksponentiel vækst begynder væksten at aftage indtil antallet af bakterier i en periode forbliver konstant. Denne fase kaldes for den *stationære fase*, og den er kendetegnet ved at antallet af nydannede bakterier svarer til antallet af bakterier der dør. I denne fase opbruger bakterierne typisk de sidste næringsstoffer og udskiller forskellige affaldsstoffer. På et tidspunkt er forholdene ikke længere gode nok til at bakterierne kan opretholde deres nødvendige livsprocesser, og populationen bevæger sig derefter over i den sidste fase hvor populationen falder i størrelse. *Dødsfasen* er karakteriseret ved at antallet af bakterier der dør, overstiger antallet af nye. Nogle typer bakterier er dog i stand til at gå i en slags dvaletilstand i stedet for at dø og kan forblive i denne tilstand i meget lang tid indtil miljøforholdene eventuelt igen bliver gunstige.

Afhængigt af dyrkningsforholdene kan man påvirke hvor længe bakterierne vil befinde sig i de forskellige faser. Hvis man ser på kolonier på en agarplade, følger bakterierne i hver koloni den mikrobielle vækstkurve. Ved at tage bakterier fra en koloni og udplade dem på nye agarplader kan man genstarte en ny nølefase efterfulgt af de andre faser. Ved dyrkning af bakterier i særlige gæringstanke er det muligt løbende at regulere på forskellige faktorer, fx ved at tilføre næringsstoffer og fjerne affaldsstoffer fra næringsmediet, se figur 51. Derved kan man opretholde en population af mikroorganismer i en stationær fase i meget lang tid. Dette kan være nyttigt hvis mikroorganismen i denne fase producerer stoffer man ønsker som fx enzymer eller hormonet insulin.



Figur 51. Mikroorganismer kan dyrkes i store gæringstanke.

Ekspontentiell vækst

Under de rette omstændigheder kan en bakterie som *E. coli* dele sig ca. hvert tyvende minut. Det betyder at antallet af bakterier i en prøve potentielt kan fordobles hvert tyvende minut. Selvom der i begyndelsen kun er én enkelt bakterie, kan der i løbet af 7-8 timer ende med at være flere millioner. Den type udvikling hvor antallet af individer ændres med en fast faktor i en given tidsperiode, kaldes for en ekspontentiell udvikling eller ekspontentiell vækst. Generelt kan en ekspontentiell udvikling være både aftagende og voksende, men i forhold til bakteriel vækst er det primært relevant at tale om voksende ekspontentielle udviklinger. Ekspontentiell vækst af bakterier kan kun fortsætte indtil en abiotisk eller biotisk faktor begrænser væksten. En *abiotisk faktor* kan fx være konkurrence om plads, mens en *biotisk faktor* kan være mængden af næringsstoffer. For bakterier vil disse faktorer typisk være begrænsende efter nogle timer eller dage, afhængigt af omstændighederne. Ekspontentiell vækst hos bakterier kan beskrives med det matematisk udtryk der er vist i ligning (1):

$$(1) y = b \cdot a^x$$

I dette udtryk er y antallet af bakterier til tidspunktet x . Begyndelsesværdien b er antal bakterier fra start ($x = 0$), og a er en konstant der kaldes for fremskrivningsfaktoren. Fremskrivningsfaktoren viser hvor mange gange y stiger, hvis x stiger med 1. Bemærk at fordi der er tale om et voksende antal bakterier, er $b > 0$ og $a > 1$.

Fremskrivningsfaktoren a kan også skrives som ligning (2):

$$(2) a = 1 + r$$

Vækstraten r angiver hvor stor en procentdel y vokser med, hvis x stiger med 1.

Nogle gange ses ligninger for ekspontentiell vækst på formen vist i ligning (3):

$$(3) y = b \cdot e^{(k \cdot x)}$$

Ved at sammenligne ovennævnte to ligninger med hinanden kan man ved hjælp af en potensregnerregel vise at fremskrivningsfaktoren a i ligning (1) er lig med e^k i ligning (3).

Antal bakterier fordobles i hver generation

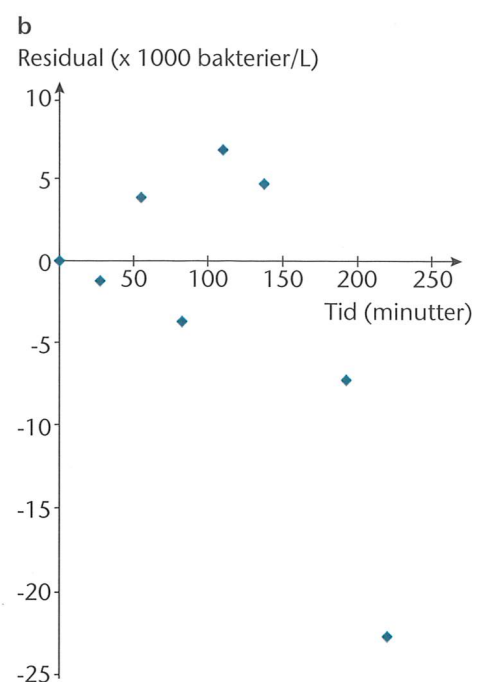
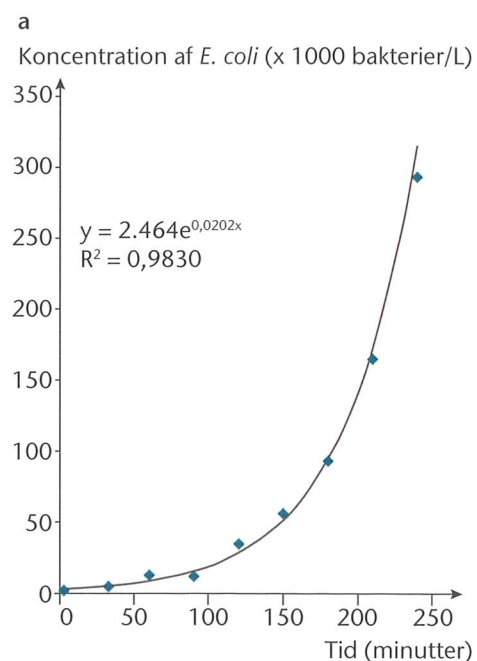
Hvis *generationstiden* for en bakterie kendes, og det antages at alle bakterier deler sig samtidigt, kan udtrykket i ligning (1) omskrives til et udtryk som funktion af antal generationer. Ved ubegrænset vækst deler bakterierne sig med en konstant rate og derfor fordobles antallet af bakterier i hver generation. Derfor må fremskrivningsfaktoren a være 2, når tiden regnes i antal generationer. Hvis antallet af bakterier i første generation kaldes for N_0 og antal generationer siden start for t , kan antallet af bakterier efter et bestemt antal generationer (N_t) ifølge den ekspontentielle vækstmodel bestemmes til at være som vist i ligning (4):

$$(4) N_t = N_0 \cdot 2^t$$

I dette tilfælde er det klart at fordoblingstiden er præcis én generation, da det jo var præmissen for udledningen af dette funktionsudtryk. Tabellen i figur 52 viser hvordan antallet af bakterier stiger i løbet af 20 generationer, hvis man starter med én enkelt bakterie i generation 0.

Generation	Antal bakterier
0	1
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
7	128
8	256
9	512
10	1.024
11	2.048
12	4.096
13	8.192
14	16.384
15	32.768
16	65.536
17	131.072
18	262.144
19	524.288
20	1.048.576

Figur 52. Ved ubegrænset vækst fordobles antallet af bakterier ved hver generation.



Figur 53. Data fra et vækstforsøg med *E. coli*-bakterier.

- a. Eksponentiel regressionsmodel.
b. Residualplot for den eksponentielle regressionsmodel. Kan der være en biologisk forklaring på at sidste målepunkt ser ud til at ligge væsentligt under den eksponentielle regressionsmodel?

Bakteriers generationstid

Hvis man ønsker at bestemme en bakteries generationstid ud fra forsøgsdata, kan det gøres med eksponentiel regression. Figur 53 viser et eksempel på regression udført på data fra et forsøg med *E. coli*-bakterier.

Det ses at regressionsligningen her er angivet på formen vist i ligning (3). Først beregnes fremskrivningsfaktoren a , ud fra regressionsligningen.

$$a = e^k = e^{0.0202} = 1,020405$$

Derefter beregnes vækstraten r ved hjælp af ligning (2).

$$r = a - 1 = 1,020405 - 1 = 0,020405 \approx 2 \%$$

Det vil sige at antallet af *E. coli*-bakterier i dette forsøg i gennemsnit er steget ca. 2% pr. minut.

En bakteries generationstid er det samme som fordoblingstiden, og det er kendt fra matematikken at man kan finde fordoblingstiden (T_2) for en eksponentiel udvikling vha. følgende udtryk:

$$(5) T_2 = \frac{\text{Log}(2)}{\text{Log}(a)}$$

Generationstiden måles i den enhed der er brugt i de konkrete data, så i dette eksempel måles den i minutter, og generationstiden for *E. coli*-bakterierne i det viste forsøg er således:

$$(6) T_2 = \frac{\text{Log}(2)}{\text{Log}(1,020405)} = 34,3 \text{ minutter}$$

som svarer til 34 minutter og 18 sekunder.

Som nævnt kan eksponentiel vækst ikke fortsætte evigt, og væksten af enhver population vil på et tidspunkt blive begrænset som beskrevet under afsnittet om den mikrobielle vækstkurve på side 40.

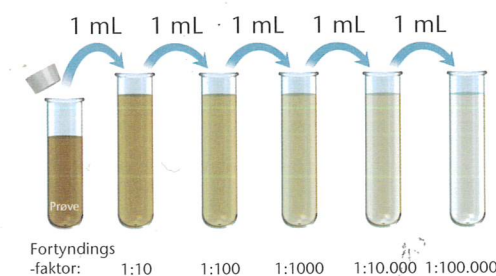
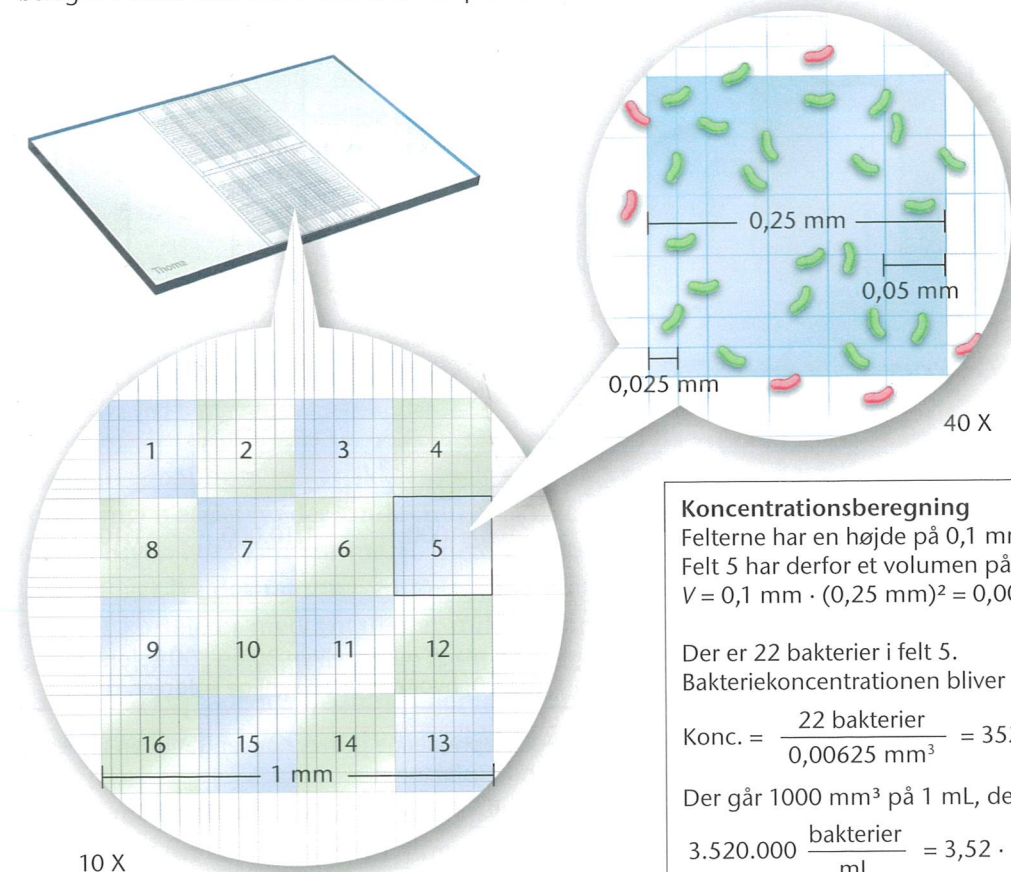
Koncentrationsbestemmelse af bakterier

Koncentrationen af bakterier i en prøve kan bestemmes på flere forskellige måder. I flere af metoderne er det en fordel først at lave en seriel fortyndingsrække af en prøve. Princippet i en *fortyndingsrække* er vist i figur 54. Tre nyttige, men meget forskellige metoder til koncentrationsbestemmelse er beskrevet i de efterfølgende afsnit.

Optælling i tællekammer

Et *tællekammer* er et objektglas til mikroskopi hvorpå der er indridset et meget præcist optællingsnet med felter med et kendt volumen. Efter at en prøve er tilført til tællekammeret, tælles antallet af bakterier i et bestemt antal felter. Hvis der er for mange eller få bakterier i tællekammeret til at der kan opnås et præcist mål, må der vælges en anden fortynding af prøven. Ud fra antal bakterier, det samlede volumen af de undersøgte felter og fortyndingsfaktoren kan den samlede koncentration af bakterier i prøven beregnes, se figur 55. Typisk laves flere forskellige tællinger hvorefter et gennemsnit af målingerne beregnes.

Figur 55. Et tællekammer kan anvendes til at beregne koncentrationen af bakterier i en prøve.



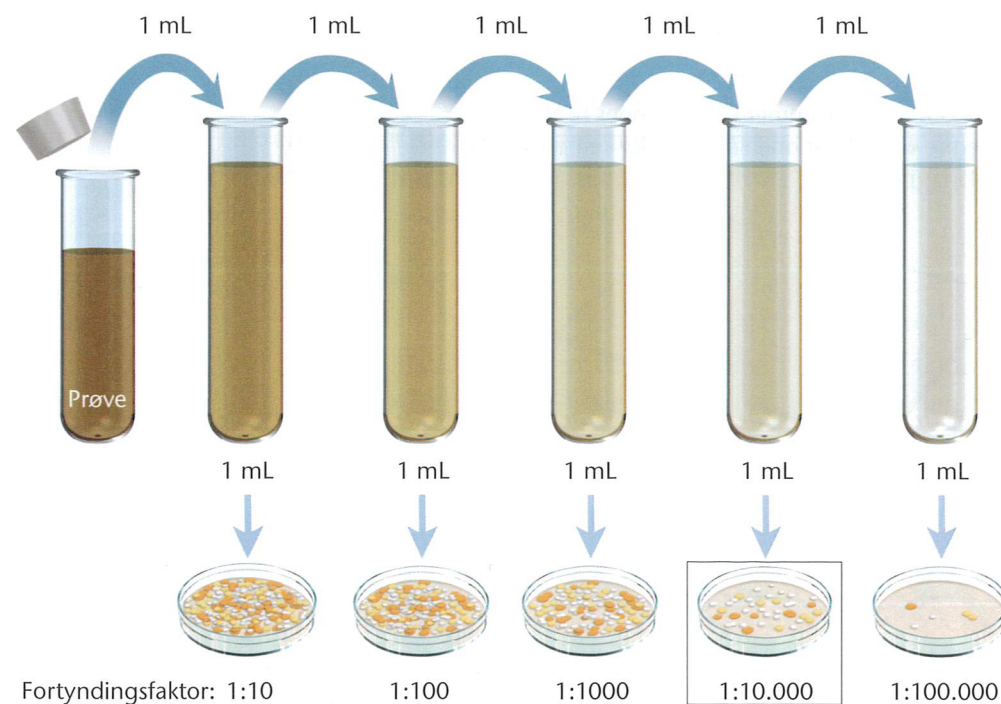
Figur 54. En faktor-10-fortyndingsrække laves ved hele tiden at overføre fx 1 mL af en opblandet prøve til 9 mL væske.

Antal kolonier ved pladeudspredning

Ved pladeudspredningsmetoden laves en *pladeudspredning* af flere forskellige fortyndinger af prøven indtil der findes en fortynding, der giver et antal kolonier der er let at tælle. Der må dog ikke være så få at det giver for stor usikkerhed på målingen. Hver koloni stammer fra én bakterie fra den påførte prøve. Når det tilførte volumen af prøven og fortyndingsfaktoren kendes, kan der derefter beregnes hvor mange bakterier der ca. er i prøven, se figur 56.

Som med tællekammermetoden laves der typisk flere forsøg hvorefter der tages et gennemsnit af resultaterne. Pladeudspredningsmetoden kan kun give brugbare målinger hvis bakterierne kan dyrkes på det valgte medie.

Figur 56. Pladeudspredning af en fortyndingsrække kan anvendes til at beregne koncentrationen af bakterier i en prøve.



Koncentrationsbestemmelse

For det mest præcise resultat vælges normalt en plade med mellem 30 og 300 kolonier. Her opnås dette ved fortyndingsfaktoren 1:10.000, hvor der er 38 synlige kolonier.

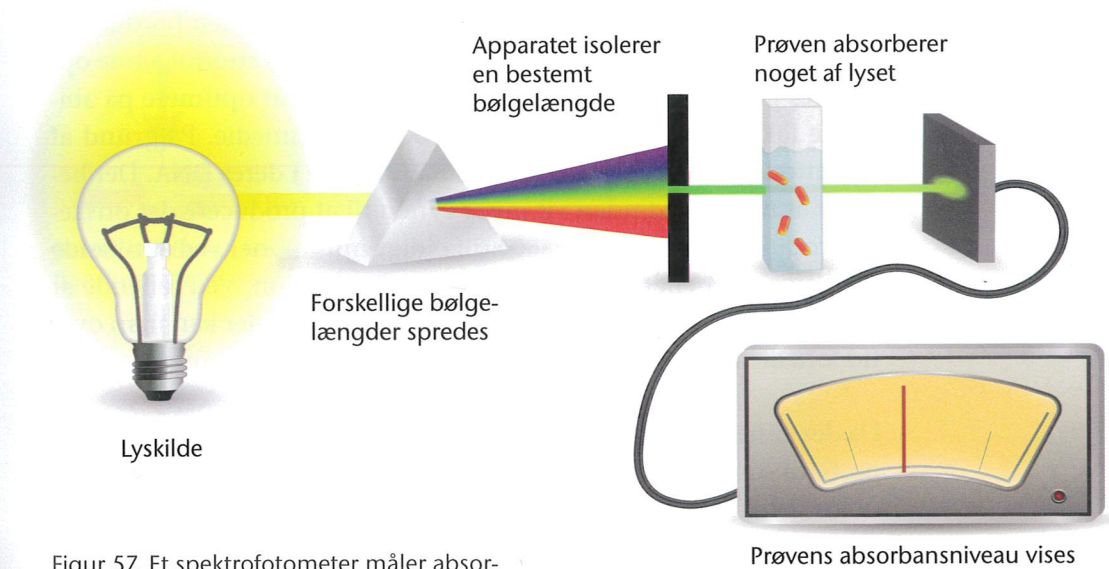
Husk at en koloni stammer fra en bakterie i den oprindelige prøve. Koncentrationen findes ved at dividere antallet af kolonier med fortyndingsfaktoren.

$$\text{Koncentration} = \frac{38 \text{ bakterier}}{1 \text{ mL}} = 380.000 \frac{\text{bakterier}}{\text{mL}}$$

Absorptions- og turbiditetsmålinger

Hvis man ønsker at følge væksten i en flydende kultur af mikroorganismer, kan der enten benyttes et *spektrofotometer* eller en *turbiditetsmåler*. Det grundlæggende princip i de to metoder er meget ens, men apparaterne der benyttes, er lidt forskellige og måler lidt forskellige ting.

Et spektrofotometer måler absorbansen af lys ved en bestemt bølgelængde (λ). Da der er en sammenhæng mellem antallet af mikroorganismer i prøven og hvor meget lys der bliver absorberet, kan væksten i en flydende kultur måles ved løbende at udtage prøver, se figur 57. For at kalibrere målingerne kan der samtidig fx benyttes pladeudspredning eller tælling i tællekammer på enkelte målinger, og ud fra disse kan der konstrueres en standardkurve.



Figur 57. Et spektrofotometer måler absorbans af lys ved bestemte bølgelængder.

Turbiditetsmålinger måler ikke absorbansen af lys, men derimod spredningen af det lys der sendes ind i prøven. Jo flere mikroorganismer i prøven lyset kan ramme, jo mere spredes lyset, og ved at måle hvor meget lys der rammer en detektor i måleinstrumentet, fås et mål der korrelerer med antallet af mikroorganismer i prøven. Som ved spektrofotometermetoden er det nødvendigt at kalibrere målingerne med fx pladeudspredning eller tællekammermetoden hvis der ønskes en absolut koncentration og ikke blot relative målinger.

I begge metoder kan det være hensigtsmæssigt at benytte en fortyndingsrække for at få præcise målinger, og også her er det ofte en god idé at lave flere parallelle forsøg og så tage et gennemsnit.

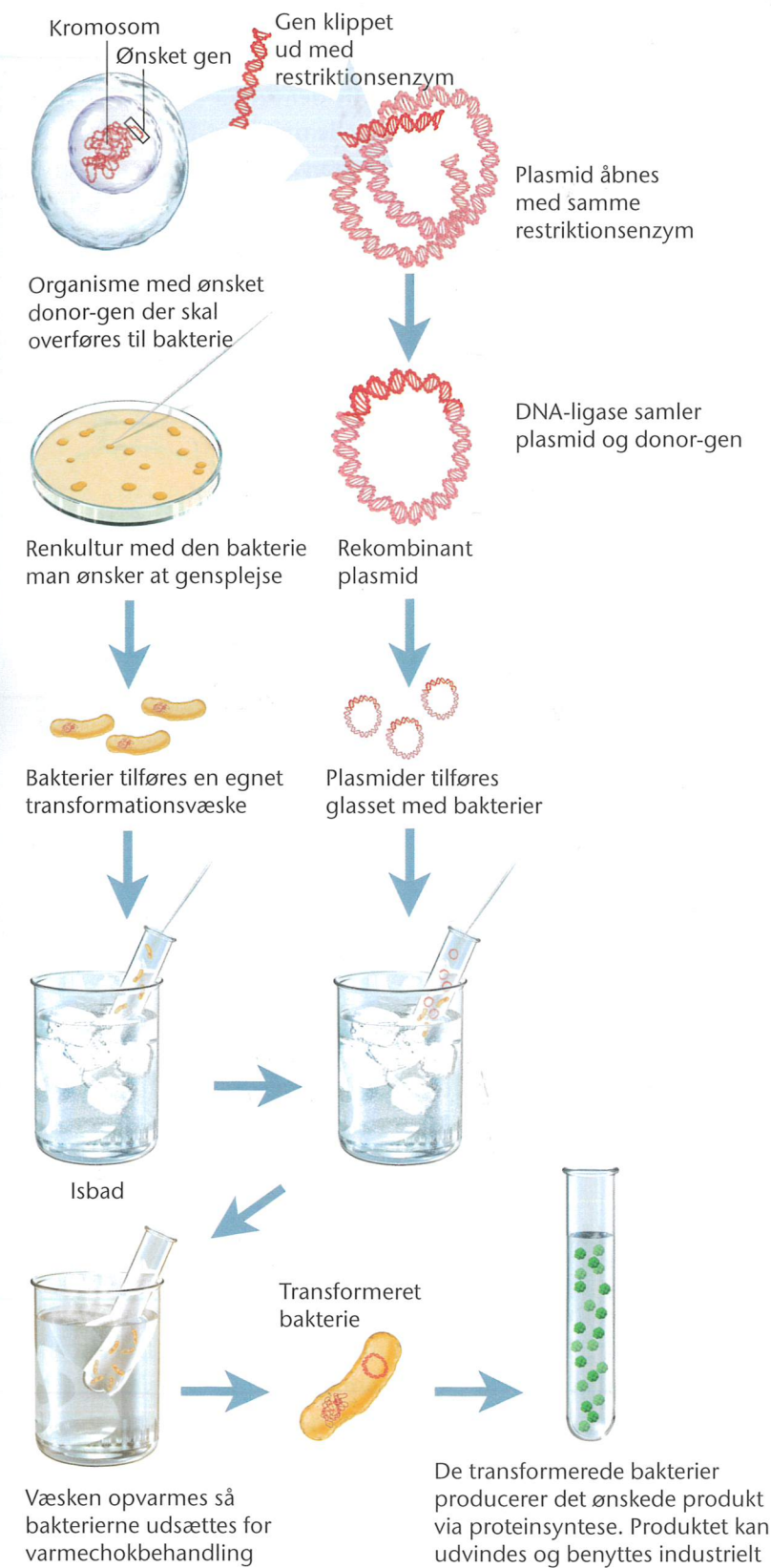
Industriel anvendelse af mikroorganismer

Mikroorganismer benyttes til mange formål i industrien. Mange forskellige enzymer produceres og udvindes fra gæringstanke med mikroorganismer. I nogle tilfælde er det enzymer som mikroorganismen naturligt producerer. Man anvender her ofte forædlede mikroorganismer der producerer større mængder af det ønskede enzym, end normalt. I nogle tilfælde er mikroorganismen også blevet genmodificeret. Det kan ske på flere forskellige måder. En mikroorganisme kan have fået indsat et eller flere gener fra en anden organisme. Det gør at den producerer et ønsket produkt, fx et enzym, den normalt ikke kan producere. Genmodificeringen kan udføres ved hjælp af *plasmidtransformation* med plasmider der indeholder det ønskede gen – såkaldte rekombinante plasmider. Figur 58 viser princippet i den metode.

Når en mikroorganisme er blevet genmodificeret så den producerer det ønskede produkt, skal produktionsprocesserne efterfølgende optimeres på forskellig vis. Det kan bl.a. være ved at optimere på abiotiske faktorer som temperatur, pH og næringsmedie. På grund af mutationer vil der løbende opstå små forskelle i deres DNA. Det betyder at nogle med tiden vil miste evnen til at producere det ønskede produkt, mens andre pga. de tilfældige mutationer ved et tilfælde kan få en øget eller på anden vis bedre produktion. Ved løbende at screene og udvælge de bedst egnede mikroorganismer kan man over tid forædle produktionsstammen og optimere produktionen.

Da der er flere forskelle på pro- og eukaryoters generelle genstruktur, proteinsyntese og efterfølgende bearbejdning af nye proteiner, er det nogle gange en fordel at producere de ønskede stoffer i en eukaryot organisme som fx gær. Hormonet insulin er et eksempel på dette. Folk der lider af type 1-diabetes, kan ikke selv producere det livsnødvendige hormon insulin i tilstrækkelige mængder og skal derfor have det tilført udefra

Da menneskets immunforsvar reagerer på fremmede proteiner, er det ikke uproblematisk at tilføre insulin fra fx svin eller køer som man ellers gjorde i store dele af det tyvende århundrede. Der kan også opstå problemer hvis man producerer human insulin i bakterier, så derfor produceres human insulin i dag som regel i genmodificerede gærceller. Den danske virksomhed Novo Nordisk er blandt verdens førende virksomheder til insulinproduktion.



Figur 58. Plasmidtransformation af bakterie.