

## Microbial growth in homogeneous batch culture: Growth curves

Verfasserinnen: Ramel Christina, [s9971260@access.unizh.ch](mailto:s9971260@access.unizh.ch)  
Meier Karin, [s0070411@access.unizh.ch](mailto:s0070411@access.unizh.ch)

Tutorinnen: Hilzinger Karen, [s9890799@access.unizh.ch](mailto:s9890799@access.unizh.ch)  
Kägi Christina, [s9971163@access.unizh.ch](mailto:s9971163@access.unizh.ch)

---

### Einleitung:

Ziel des Experimentes war die Analyse von Wachstumskurven. Es wurde der Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von *E. coli* untersucht. Die Bakterienkulturen wurden dazu bei Raumtemperatur und bei 37°C gezüchtet.

Mit Hilfe der Turbidometrie wurde das Wachstum anhand der Trübung gemessen. Ein Teil des durchtretenden Lichts wird durch die Partikel gestreut. Der Streulichtverlust ist umso grösser, je höher die Zellkonzentration ist. Im Photometer wird der Streuverlust als Absorption bei einer Wellenlänge gemessen bei welcher keine effektiven Molekülabsorptionen auftreten. Je höher der Trübungsabsorptionswert, umso dichter ist die Zellsuspension. Mit den so erfassten Daten konnten Wachstumskurven gezeichnet werden.

### Theorie:

Betrachtet man die Wachstumskinetik von Bakterien, so können vier Phasen voneinander unterschieden werden:

1. **Lag Phase:** Hier findet ein „verzögertes Wachstum“ statt. Die Bakterien müssen sich erst an die neue Umwelt adaptieren und den Stoffwechsel auf Teilung einstellen, d.h. jene Zellkomponenten (Enzyme, Ribosomen etc.) synthetisieren, welche für die Zellvermehrung unerlässlich sind.
2. **Logarithmische Phase:** Hier findet optimales Teilungswachstum statt. Die Bakterienkultur wächst exponentiell. Alle für Zellvermehrung nötigen Stoffe sind in nicht beschränkenden Konzentrationen vorhanden.
3. **Stationäre Phase:** Die Teilungsrate nimmt ab, sie steht mit der Sterberate im Gleichgewicht.
4. **Abbauphase:** Die Anzahl der lebenden Keime nimmt ab, da viele von ihnen z.B. durch die Ausscheidungsprodukte abgetötet werden und lysieren.

Das Wachstum ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Beispiele sind:

- Temperatur (für unser Experiment relevant)
- Nährstoffe
- Licht (bei phototrophen Organismen)
- Sekundärstoffe (z.B. Botenstoffe)
- Abfallprodukte
- pH
- Wasserverfügbarkeit
- Sauerstoff

Der für das Wachstum optimale Temperaturbereich variiert von Organismus zu Organismus. Er liegt dort, wo die Enzyme am effizientesten arbeiten können. Für *E. coli* liegt er bei ca. 37°C. Minimale Temperatur: Faktoren, die die minimale Temperatur bestimmen, sind nicht genau bekannt. Ein begrenzender Faktor könnte die Fluidität der Cytoplasmamembran sein, die bei tiefer Temperatur weniger gewährleistet ist. Häufig funktionieren die Enzyme aber schon bei wenig tieferen Temperaturen nicht mehr. Maximale Temperatur: Oberhalb einer gewissen Temperatur werden bestimmte Proteine und Nukleinsäuren irreversibel geschädigt. Wachstum ist dann nicht mehr möglich.

### Durchführung:

Am Vorabend wurde eine Zellkultur bei Raumtemperatur angesetzt. Am Mittag des Versuchstages wurde eine Optische Dichte von 1.007 gemessen. Es wurden zwei Ansätze in nicht-limitierendem Medium hergestellt. Dabei wurde die Übernachtskultur 143-fach verdünnt. (Pro Ansatz 700 µl Kultur in 100 ml LB-Medium). Eine Kultur wurde bei Raumtemperatur (21° C), die andere bei 37° C gezüchtet.

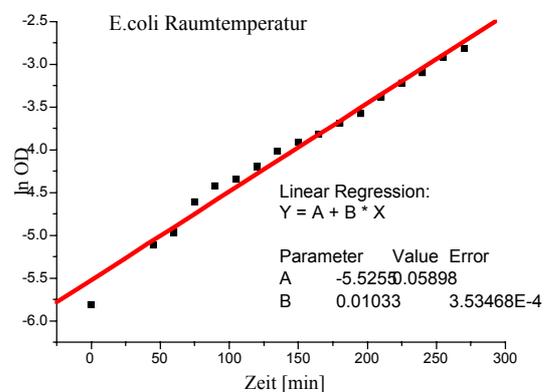
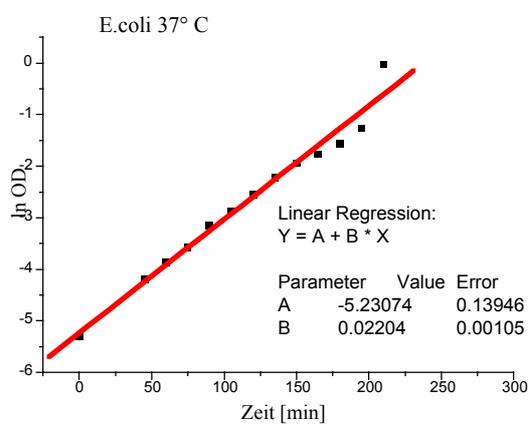
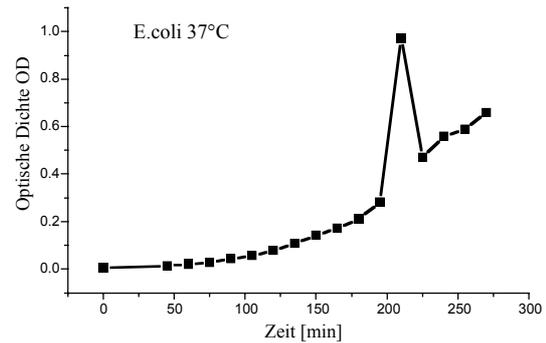
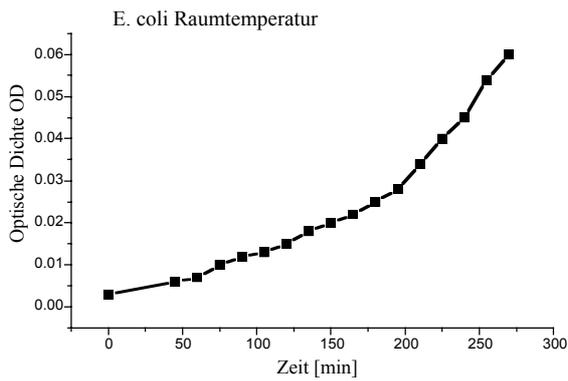
Es wurde alle 15 Minuten die Optische Dichte bei 600 nm gegen den Mediumblindwert gemessen. Bei einem OD-Wert über 0.2, wurde die Probe in der Küvette mit Medium quantitativ verdünnt.

### Ergebnisse:

Messdaten:

Zeit [min]	OD Kultur RT	OD Kultur 37°
0	0.003	0.005
45	0.006	0.015
60	0.007	0.021
75	0.010	0.028
90	0.012	0.043
105	0.013	0.057
120	0.015	0.078
135	0.018	0.109
150	0.020	0.143
165	0.022	0.172
180	0.025	0.211
195	0.028	0.282
210	0.034	0.972 ?
225	0.040	0.470
240	0.045	0.560
255	0.054	0.590
270	0.060	0.660

Der nach 210 Minuten gemessene Wert ist vermutlich auf einen Verdünnungsfehler zurückzuführen. Anhand der gemessenen Daten wurden lineare und halblogarithmische Wachstumskurven gezeichnet.



Für das exponentielle Wachstum gilt:

$$N(t) = N(0) * e^{\mu t}$$

Durch Logarithmieren (natürliche Logarithmen) erhält man eine Gerade mit der Steigung  $\mu$ . Diese entspricht der Wachstumsrate.

$$\ln N(t) = \ln N(0) + \mu t$$

Wenn der Logarithmus zur Basis e der OD gegen die Zeit (linear) aufgetragen wird, kann die Wachstumsrate  $\mu$  (Steigungen B der dargestellten Regressionsgeraden) aus der Grafik abgelesen werden.

$$\mu_{\text{Raumtemperatur}} = 0.01 \text{ min}^{-1}$$

$$\mu_{37^\circ \text{C}} = 0.02 \text{ min}^{-1}$$

### Diskussion:

Vergleicht man die beiden Kurven, fällt auf, dass die Kultur bei 37° C wie erwartet schneller gewachsen ist. Dies ist auch an den berechneten  $\mu$ -Werten ersichtlich.

Die Messungen wurden vorwiegend während der Log-Phase durchgeführt. Die Lag-Phase war nur kurz, weil die Zellen aus der Übernackkultur bereits gut für Wachstum konditioniert waren.

### Anhang:

Vergleiche: Experiment 17  
BBOM 10th: 6.3-6.6, pgs 142-149