

Forsøgsvejledning – Øvelse 6: Vækstforsøg med gær

Ølbrygning

ØVELSE 6: VÆKSTFORSØG MED GÆR

Materialer

- Spektrofotometer
- Pipetter (kapacitet på 1 ml)
- En kuvette
- Konisk kolbe (500 ml)
- Vandbad med omrystning
- Glukose-sticks
- Gær

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Medie (YPD-baseret)<ul style="list-style-type: none">○ Gærekstrakt 20 g/L○ Pepton 10 g/L○ Glukose 20 g/L |
|--|

Bestemmelse af celletal vha. spektrofotometer

For encellede organismer er optisk densitet (OD) proportional med antallet af celler. Derfor kan man bruge "uklarheden" af opløsningen som et alternativ til direkte at tælle antallet af celler. Når man måler OD på gærvækst i YDP-medie, måles der ved 600 nm (orange). Proportionaliteten gælder kun indenfor et begrænset område, derfor kan det være nødvendigt at fortynde prøverne. Som en tommelfingerregel siger man at hvis OD er over 1,0 skal prøven fortyndes.

Vækstmediet bruges som reference (blank), dvs. at OD for rent vækstmedie sættes til 0.

Fremgangsmåde

Fremstilling af YPD-medie

- 1) De tre stoffer opløses i deioniseret vand. Brug eventuelt en magnetomrører da det kan tage tid. Glukosen købes ofte som glukose monohydrate (dvs. $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$), hvis dette er tilfældet, skal der tilsættes 22 g/L (så det passer med 20 g/L glukose)
- 2) For at undgå kontaminering autoklaveres mediet inden det bruges i vækstforsøget
 - a. Til vækstforsøget tilsættes 100 ml medie til en kolbe, der lukkes med en hætte (evt. en vatprop), før de autoklaveres
 - b. Lav en liter medie ad gangen, enten fordelt på 10 kolber eller autoklavér resten i en glas-beholder med skruelåg og opbevar mediet i køleskab (husk når der autoklaveres, skal låget IKKE skrues helt på flasker med skruelåg, ellers ender du med at have medie i hele autoklaven)

Vækstforsøget

- 3) Inokulér en kolbe med gærkulturen vha. en podenål om aftenen (så sent som muligt) kulturen skal vokse under omrystning ved $30^{\circ}C$
- 4) Dagen efter udtages en prøve hhv. kl. 8, kl 10 og derefter én gang timen
- 5) OD samt glukosekoncentration måles med det samme. Husk at måle glukosekoncentration på den ufortyndede prøve. Notér det præcise klokkeslæt for prøveudtagningen

Efterbehandling

- Plot OD og glukosekoncentrationen som funktion af tiden
- Beregn fordoblingstiden for gærcellernes vækst