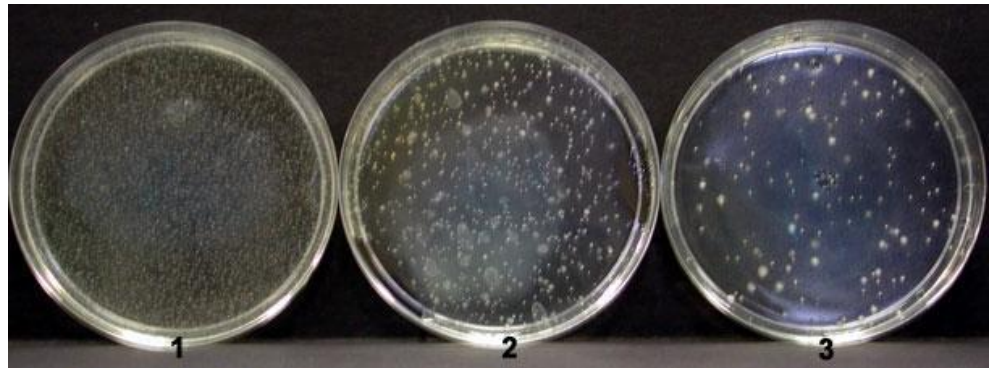


NOLA EBATZI MIKROBIOLOGIAREN GAINEKO ALDERDI PRAKTIKOAK

4. BAKTERIOEN HAZKUNTZAREKIN ERLAZIONATUTAKO PARAMETROEN KALKULUA



Inés Arana, Maite Orruño eta Isabel Barcina

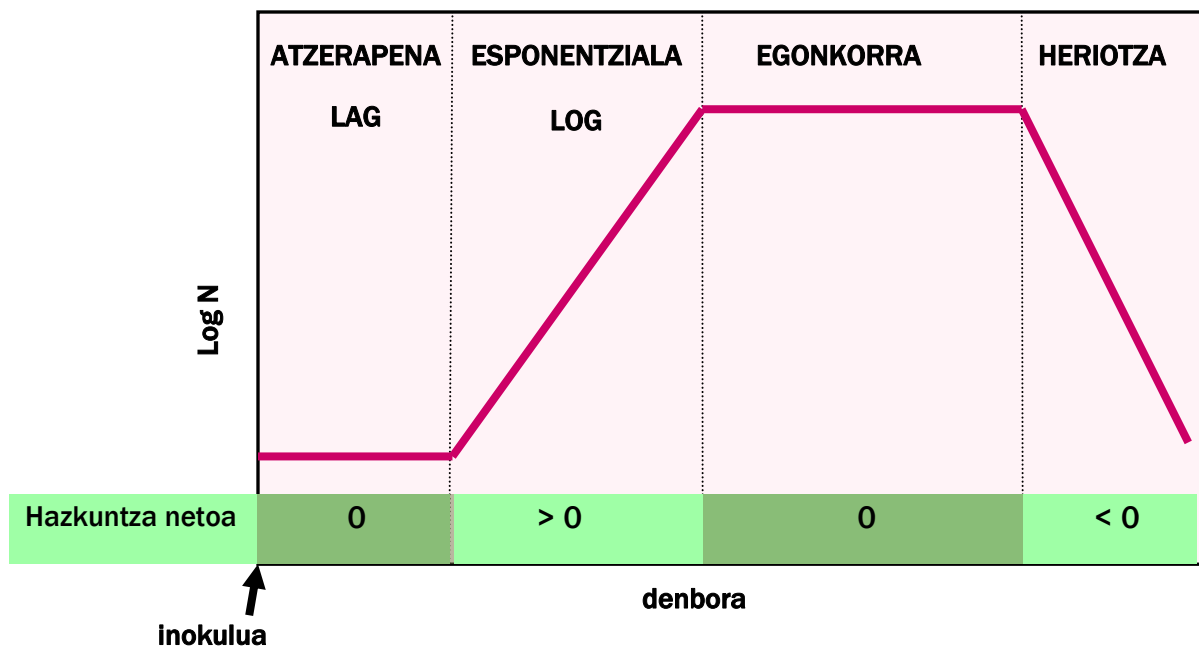
Immunologia, Microbiologia eta Parasitologia Saila

Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea

4. BAKTERIOEN HAZKUNTZAREKIN

ERLAZIONATUTAKO PARAMETROEN KALKULUA

Egoera kontrolatuetan, laborategian, sistema itxian gertatzen den mikroorganismoen hazkuntza jarraitu egin daiteke denboran zehar zelulak kontatuz. Zenbaketen emaitzak irudikatuz gero, hazkuntza-kurba lortuko dugu. Hazkuntza-kurbak 4 fase dauzka: LAG-fasea edo atzerapen-fasea, fase esponenzial edo logaritmikoa, fase egonkorra eta heriotza-fasea.



Mikroorganismoen hazkuntzarekin erlazionatuak dauden kontzeptuak eta parametroak mikrobiologiari buruzko edozein liburutan aurki daitezke (Brock Biology of Microorganisms, 2012; Prescott's Microbiology, 2011,...).

Fase esponenzial edo logaritmikoan hazkuntza-orekatua gertatzen da, zelulak abiadura konstantean zatitzen dira. Matematikoki irudikatuta:

$$dN/dt = \mu N$$

$$N = N_0 e^{\mu(t-t_0)}$$

transformazio logaritmikoa aplikatuz:

$$\boxed{\ln N - \ln N_0 = \mu (t - t_0)} \quad \text{edo} \quad \boxed{\log N - \log N_0 = \mu / 2,303 (t - t_0)}$$

μ = hazkuntza-abiaduraren konstante espezifikoa (orduak⁻¹), zelulen kopurua denbora-unitateko zenbat handitzen den.

Beste parametro batzuk erabil daitezke, adibidez, **belaunaldi-denbora** (g), populazioa bikoizteko behar den denbora.

$$g = 0,693/\mu$$

Belaunaldi-denboraren alderantzizko parametroa **hazkuntza-tasa** (K) da (belaunaldi/ordu).

$$K = 1/g$$

Mikroorganismo eta substratu jakin baterako hazkuntza abiadura maximoa (μ_{\max}) kalkula daiteke, Horretarako, substratuaren hainbat kontzentrazio erabiltzen dira eta μ balorea kalkulatu da kontzentrazio bakoitzerako.

$$\mu = \mu_{\max} S/(K_s + S)$$

K_s = saturazio-konstantea substratu horretarako, kontzentrazio honetan $\mu = 1/2 \mu_{\max}$

Ekuazioaren hurrengo transformazioa ere erabil daiteke:

$$1/\mu = 1/\mu_{\max} + (K_s/\mu_{\max}) (1/S)$$

Fase egonkorrean bi parametro interesgarri zehaztu daitezke: **uzta maximoa** eta **errendimendua**.

Uzta maximoa lortutako biomasa maximoa da. Kalkulatu da hurrengo ekuazioa erabiliz:

$$M = M_t - M_0$$

M_t = biomasa, t denboran; fase egonkorrean kalkulatu da, zelulen kopurua handiena denean.
 M_0 = inokuluaren biomasa. Emaitza gramotan edo kilogramotan adierazten da.

Errendimendua (Y) kalkulatzeko hurrengo ekuazioa erabiltzen da:

$$Y = \text{Ekoiztutako biomasa/kontsumitutako substratu} = (M_t - M_0)/(S_0 - S_t)$$

S_0 = hasierako substratuaren kopurua; S_t = substratuaren kopurua t denboran (zelulen kopurua handiena denean). Errendimenduaren unitateak: g zelula/g kontsumitutako substratu.

Orain arte teoria ikusi dugu baina, nola lan egiten da laborategian lortutako emaitzekin?

Problema errazenetan ekuazioen balio batzuk ezagutzen ditugu eta ezezagun bat (adibidez, mikroorganismoen dentsitatea) kalkulatu behar dugu. Horretarako, ezagutzen ditugun balioak ekuazioetan ordezkatu baino ez ditugu egin behar.

Problema hauek oso errazak izan arren, adi egon behar da unitateekin edo datuen transformazioekin (adibidez, ez dakigu zein den μ baina g ezagutzen dugu).

Informazio hau guztia kontuan hartuta, ebatzi hurrengo problemak:

- 4.1. Kultura baten hasieran 10^4 UKE/ml dauzkagu eta belaunaldi-denbora (g) 2 ordukoa da, zenbat zelula kultibagarri lortuko dugu 4, 24 eta 48 ordu pasa eta gero?
- 4.2. Zein izango da kultura baten belaunaldi-denbora bere μ $0,01 \text{ min}^{-1}$ -koa bada? Zein izango da bikoizteko abiadura?
- 4.3. Kultura batean, 3 ordutan 10^8 zelula/ml-ko dentsitatea lortzeko, zein izan behar da hasierako dentsitatea, belaunaldi-denbora 30 min-koa bada?
- 4.4. Kultura baten dentsitatea 10^8 zelula/ml-koa da eta bere belaunaldi-denbora 30 min-koa. Hasierako dentsitatea 10^6 zelula/ml-koa izan bazen, zenbat denbora behar izan da bukaerako dentsitatea lortzeko?
- 4.5. Suposa dezagun fase esponentzian dagoen kultura baten dentsitatea 10.000 zelula/ml-koa dela momentu batean eta 4 orduren buruan 100.000.000 zelula/ml-koa. Kalkulatu μ eta g .
- 4.6. Landa-bazkari batean, paella kutsatu egin zen *Propionibacterium acnes* bakterioarekin, 46 zelularekin. Bakterio honen belaunaldi-denbora 90 minutukoa bada eta bere lag fasea 1,5 ordukoa, zenbat zelula aurkituko dugu paellan 10 orduren buruan?
- 4.7. Harakin batek, *Salmonella*-ren eramaile asintomatikoa dena, haragia xehatu zuen eskularruak erabili gabe. Xehatutako haragia *Salmonella spp*-ren 25 zelularekin eta *Salmonella enterica*-ren 32 zelularekin kutsatu zen. *Salmonella spp*-aren belaunaldi-denbora 30 minutukoa da eta bere lag fasea 3 ordukoa. *Salmonella enterica*-ren lag fasea 5 ordukoa da eta bere μ $0,17 \text{ ordu}^{-1}$ -koa. Datu hauekin kalkulatu zenbat zelula (*Salmonella* generokoak) egongo diren 10 orduren buruan.

4.8. Hondakin-uren isurketa gertatu da hondartzan. Hondakin-uran $7,8 \cdot 10^{10}$ *E. coli*/100 ml eta $6,2 \cdot 10^9$ *Enterococcus faecalis*/100 ml daude. Isurketa 1.000 aldiz diluitzen da itsasora heltzean. Elikagaien kontzentrazioa itsasoan baxua denez, bakterioen hazkuntza motela da. *E. coli*-ren belaunaldi-denbora 3 ordukoa da eta *Ent. faecalis*-en μ 0,11 ordu⁻¹-koa. Datu hauekin, zein izango da bakterio bakoitzaren dentsitatea (zelula/ml) hondartzan 24 orduren buruan?

4.9. Karbono-iturri bakarra glukosa (%10, pisu/bolumen) denean, kultura batek 20 g zelula/l ekoizten du. Kalkulatu kulturaren errendimendua (ekoiztutako biomasa/kontsumitutako g karbono).

Hala ere, laborategian, mikroorganismoen hazkuntza ikertzen dugunean, maiz problemak ez dira hain errazak edo zuzenak ebazteko. Adibide bat ikus dezagun:

100 ml X hazkuntza-medio duen matraze bat inokulaten da Y mikroorganismoarekin. XX°C-tan inkubatzen da eta aldizka alikuotak hartzen dira unitate kolonia-eratzailleak zehazteko. Datuak (beltzez) taulan agertzen dira:

Denbora (orduak)	UKE/ml	Ln UKE/ml (1)	Ln D _x - Ln D _{x-1} (2)
0	$2,05 \cdot 10^6$	14,53	0
1	$2,04 \cdot 10^6$	14,53	-0,02
2	$2,01 \cdot 10^6$	14,51	0,07
3	$2,14 \cdot 10^6$	14,58	0,09
4	$2,34 \cdot 10^6$	14,67	0,14
5	$2,69 \cdot 10^6$	14,81	0,34 (3)
6	$3,80 \cdot 10^6$	15,15	0,32
7	$5,25 \cdot 10^6$	15,47	0,35
8	$7,41 \cdot 10^6$	15,82	0,37
9	$1,07 \cdot 10^7$	16,19	0,34
10	$1,51 \cdot 10^7$	16,53	0,19
11	$1,82 \cdot 10^7$	16,72	0,09
12	$1,99 \cdot 10^7$	16,81	0,02
13	$2,04 \cdot 10^7$	16,83	-0,06
14	$1,91 \cdot 10^7$	16,77	0,05
15	$2,02 \cdot 10^7$	16,82	

XX mikroorganismoaren hazkuntza-parametroak zehazteko hurrengo urratsak jarraitu behar dira:

- Datuen transformazio logaritmikoa (log edo ln). Kasu honetan bakterio-dentsitatea (UKE/ml) (datuak gorriz agertzen dira taulan) (1).
- Zehaztu dentsitatearen gehikuntza denbora batetik hurrengora (2).
- Bilatu denborak non gehikuntza konstantea den (3).
- Tarte honetan (3), kalkulatu denbora eta dentsitatea erlazionatu duen erregresio-zuzena: $\ln N/ml = 0,3486 t + 13,0752$. Zuzenaren malda μ parametroaren balioa emango digu, $\mu = 0,3486$ ordu⁻¹.
- Uzta maximoa kalkulatzeko, dentsitate maximoa fase egonkorrean eta hasierako dentsitatea jakin behar ditugu. Bi aukera dauzkagu: 1) balio altuena (kasu honetan, $2,04 \cdot 10^7$ UKE/ml) eta hasierako balioa ($2,05 \cdot 10^6$ UKE/ml) erabili, edo 2) fase egonkorreko eta lag faseko batezbesteko balioak erabili ($1,88 \cdot 10^7$ eta $2,14 \cdot 10^6$ UKE/ml, hurrenez hurren). Lehenengo kasuan, $M = 1,835 \cdot 10^7$ UKE/ml; eta bigarrenetan $M = 1,666 \cdot 10^7$ UKE/ml. Aldaketa minimoa da.

Informazio hau guztia kontuan hartuta, ebatzi hurrengo problemak:

4.10. Karbono-iturri bezala glukosa erabiltzen duten 3 bakterio-espezie dauzkagu. Euren datuak fase esponenzialean taulan agertzen dira:

A espeziea		B espeziea		C espeziea	
Denbora (orduak)	Log N	Denbora (orduak)	Log N	Denbora (orduak)	Log N
4	4,64	3	5,30	5	6,22
5	4,81	4	5,44	6	6,37
6	4,98	5	5,58	7	6,52
7	5,15	6	5,72	8	6,67
8	5,32	7	5,86	9	6,82

Zein espezie haziko da arinago? Azaldu erantzuna

4.11. *E. coli* hazi da bi hazkuntza-medio ezberdinetan (inkubazio baldintzak berdinak izan dira). Hazkuntzaren emaitzak hurrengo taulan agertzen dira. Informazio hau guztia kontuan hartuta, zein medio aukeratuko zenuke ondorengo ikerketak egiteko?

Denbora (orduak)	Zelula/ml	
	A medioa	B medioa
0	2,09 10 ⁶	2,29 10 ⁵
1	2,04 10 ⁶	2,24 10 ⁵
2	1,99 10 ⁶	2,25 10 ⁵
3	2,63 10 ⁶	2,19 10 ⁵
4	3,47 10 ⁶	2,23 10 ⁵
5	4,68 10 ⁶	3,16 10 ⁵
6	6,17 10 ⁶	4,47 10 ⁵
7	7,94 10 ⁶	6,46 10 ⁵
8	8,32 10 ⁶	9,33 10 ⁵
9	8,51 10 ⁶	1,32 10 ⁶
10	8,33 10 ⁶	1,29 10 ⁶
11	8,13 10 ⁶	1,26 10 ⁶

4.12. Hazkuntza-kurba egin da *E. coli* bakterioarekin. Horretarako, salda elikagarria duen matraze bat inokulatu da bakterio honekin (37°C, 100 rpm). Matrazetik 2 ml hartu dira orduro eta absorbantzia neurtu da, hurrengo emaitzak lortuz:

Denbora (orduak)	Absorbantzia	Denbora (orduak)	Absorbantzia
0	0,0022	6	0,1108
1	0,0021	7	0,1643
2	0,0088	8	0,1905
3	0,0192	9	0,2732
4	0,0315	10	0,2603
5	0,0506	11	0,2611

Aldi berean, *E. coli* kultura batetik abiatuta, bakterioaren esekidura ezberdinak prestatu dira eta bakterio kopurua (bakterio/ml) eta absorbantzia zehaztu dira. Datu horrekin hurrengo ekuazioa lortu da: $\ln \text{zelula/ml} = 20,688 \text{ Abs} + 15,387$, $r = 0,97$. Zein izango da kulturaren dentsitatea fase egonkorrean?

4.13. *Kloeckera apiculata* legamia erabiliz, hazkuntza-kurba egin zen YNB saldan. Hasi baino lehen, absorbantzia eta zelula-dentsitatearen artean eta absorbantzia eta pisu lehorren artean erlazioak zehaztu ziren. Horretarako, legamiaren esekidura batetik abiatuta, 10 diluzio prestatu ziren, gero diluzioen absorbantzia (600 nm) neurtu zen eta pisu lehorra eta mikrobio-dentsitatea zehaztu ziren. Lortutako emaitzak taulan agertzen dira:

Absorbantzia	Mikrobio-dentsitatea ($\times 10^5$ zel/ml)	Pisu lehorra (mg/ml)
0,203	15,43	0,06
0,076	7,08	0,02
0,079	7,18	0,02
0,325	28,80	0,08
0,11	10,90	0,038
0,095	5,33	0,035
0,47	47,00	0,169
0,237	24,90	0,06
0,865	87,50	0,40
0,68	68,00	0,25

Beranduago, 100 ml YNB salda duen matrize bat inokulatu zen legamiarekin (10^6 legamia/ml, gutxi gorabehera). Matrizea inkubatu zen (37°C , 100 rpm) eta, aldizka, 2 ml-ko laginak hartu ziren absorbantzia neurtzeko:

Denbora (orduak)	Absorbantzia
0	0,11
1	0,25
2	0,47
3	1,01
4	1,03
5	1,10
6	1,05

Zein da kulturaren dentsitatea fase egonkorrean sartzean? Zein da kulturaren pisu lehorra fase egonkorrean sartzean?

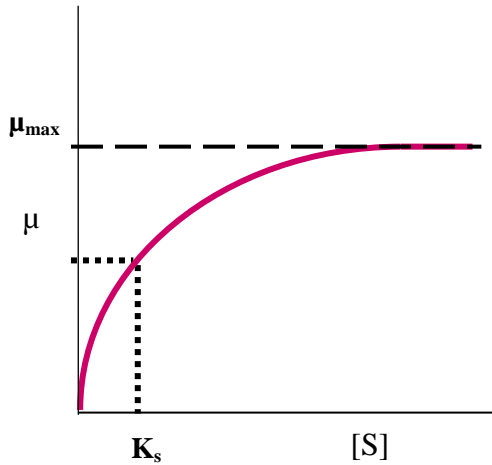
4.14. Bakterio kultura baten hurrengo datuak kontuan hartuta, kalkulatu μ , g eta uzta maximoa.

Denbora (orduak)	Zelula/ml	Denbora (orduak)	Zelula/ml	Denbora (orduak)	Zelula/ml	Denbora (orduak)	Zelula/ml
0	1000000	4	3650000	8	28100000	12	121000000
1	1100000	5	6080000	9	39100000	14	105000000
2	1600000	6	9900000	10	70100000		
3	2620000	7	18000000	11	102000000		

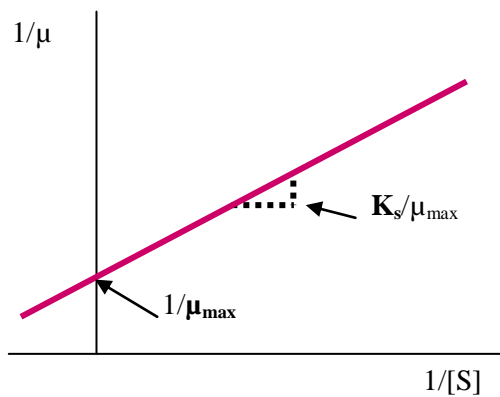
Substratuaren hasierako kontzentrazioa 5 mg S/ml-koa da eta hazkuntzan zehar kontsumitu egiten da, kalkulatu errendimendua.

μ_{\max} kalkulatzeko 2 aukera dauzkagu:

- μ balioen irudikapen grafikoaren bitartez, horretarako μ balioak lortzen dira mikroorganismoa substratuaren kontzentrazio ezberdinetan haztean.
- $1/\mu$ eta $1/S$ erlazionatzen duen erregresio-zuzena erabiliz.

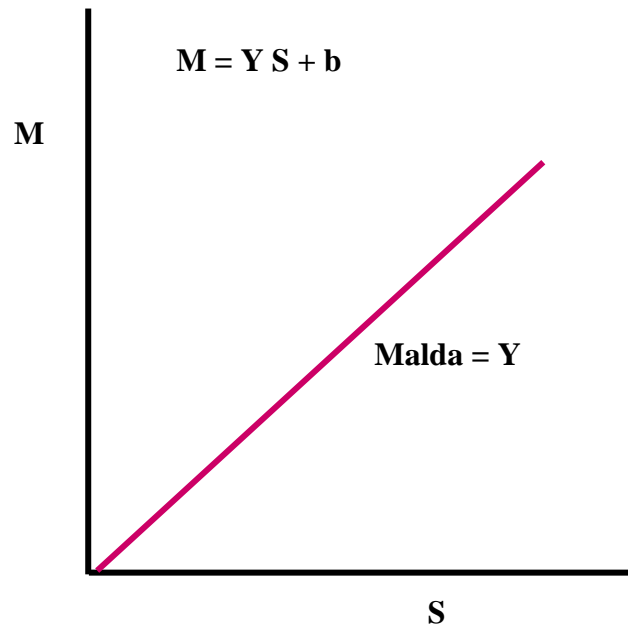


$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S}$$



$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_{\max}} + \frac{K_s}{\mu_{\max}} \frac{1}{S}$$

Errendimendua (Y) kalkulatzeko, substratu kontzentrazio bakoitzerako uzta maximoa (M) eta, M eta S (substratuaren kontzentrazioa) erlazionatzen duen erregresio-zuzena lortu behar ditugu. Y zuzenaren malda izango da.



4.15. *Candida utilis* erabiliz, biomasa lortu nahi da. Ekoizpen industrialean erabiliko duen substratua esnearen seruma izango da (laktosaren kontzentrazioa serumean: %4a). Hasi baino lehen, baldintza egokienak zehazteko, hazkuntza eten batzuk egiten dira, laktosaren 10 kontzentrazio ezberdinekin. Hauek dira lortutako emaitzak:

Laktosaren kontzentrazioa (g/l)	μ (1/ordu)	Laktosaren kontzentrazioa (g/l)	μ (1/ordu)
1	0,083	10	0,332
2	0,143	12	0,351
4	0,221	14	0,367
6	0,273	16	0,366
8	0,310	20	0,368

Kalkulatu μ_{\max} eta mikroorganismoaren saturazio-konstantea.

Laktosaren kontzentrazio (mg laktosa/ml) bakoitzerako lortutako uzta maximoak (mg zelula/ml) irudikatu ziren, hurrengo erregresio-zuzena lortzen: $y = 0,0383 + 0,409 x$ ($r = 0,999$). Zein da *Candida utilis*-en errendimendua? Zein izango da uzta maximoa esnearen seruma erabiltzen bada substratu bezala?

Bibliografia

Madigan, M.T., J.M. Martinko, D.A. Stahl, D.P. Clark. 2012. Brock Biology of Microorganisms, 13^a ed. Benjamin Cummings.

Willey, J.M., L.M. Sherwood, C.J. Woolverton. 2011. Prescott's Microbiology Companion Site, 8^a ed. McGraw-Hill Ryerson Ltd.

PROBLEMAK EBAZTEKO PROPOSAMENAK

4.1. $N_0 = 10^4$ UKE/ml, $g = 2$ ordu, zenbat zelula kultibagarri lortuko dugu 4, 24 eta 48 orduren buruan?

$$\begin{aligned} \log N - \log N_0 &= (\mu / 2,303)(t-t_0) & \text{eta} & \quad g = 0,693/\mu \\ \log N &= (\mu / 2,303)(t-t_0) + \log N_0 & \text{eta} & \quad \mu = 0,693/g \quad \mu = 0,3465 \text{ ordu}^{-1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 4 \text{ ordu:} \quad \log N &= (0,3465 / 2,303)(4) + 4 & N &= 3,99 \cdot 10^4 \text{ UKE/ml} \\ 24 \text{ ordu:} \quad \log N &= (0,3465 / 2,303)(24) + 4 & N &= 4,09 \cdot 10^7 \text{ UKE/ml} \\ 48 \text{ ordu:} \quad \log N &= (0,3465 / 2,303)(48) + 4 & N &= 1,67 \cdot 10^{11} \text{ UKE/ml} \end{aligned}$$

4.2. $\mu = 0,01 \text{ min}^{-1}$ g? K?

$$\begin{aligned} g &= 0,693/\mu & g &= 69,3 \text{ min} = 1,155 \text{ ordu} \\ K &= 1/g & K &= 0,8685 \text{ ordu}^{-1} \end{aligned}$$

4.3. $N = 10^8$ zelula/ml, $t = 3$ ordu, $g = 30$ min. N_0 ?

$$\begin{aligned} \log N - \log N_0 &= (\mu / 2,303)(t-t_0) & \text{eta} & \quad g = 0,693/\mu \\ \log N - (\mu / 2,303)(t-t_0) &= \log N_0 & \text{eta} & \quad \mu = 0,693/g \quad \mu = 1,386 \text{ ordu}^{-1} \end{aligned}$$

$$N_0 = 1,56 \cdot 10^6 \text{ zelula/ml}$$

4.4. $N_0 = 10^4$ zelula/ml, $N = 10^8$ zelula/ml, $g = 30$ min. t ?

$$\log N - \log N_0 = (\mu / 2,303)(t-t_0) \quad \text{eta} \quad g = 0,693/\mu$$

$$t = 3,323 \text{ ordu}$$

4.5. $N_0 = 10.000$ zelula/ml, $N = 100.000.000$ zelula/ml, $t = 4$ ordu. μ ? g ?

$$\mu = 2,303 \text{ ordu}^{-1} \quad g = 0,3 \text{ ordu}$$

4.6. $N_0 = 46$ zelula, $g = 1,5$ ordu, lag fasea = 1,5 ordu. Zelulak 10 orduren buruan?

$$t = 10 \text{ ordu} - 1,5 \text{ ordu} = 8,5 \text{ ordu}$$

$$\log N - \log N_0 = (\mu / 2,303)(t-t_0) \quad \text{eta} \quad \mu = 0,693/g = 0,462 \text{ ordu}^{-1}$$

$$\log N = (\mu / 2,303)(t-t_0) + \log N_0 = (0,462/2,303)(8,5) + 1,663 = 3,368$$

$$2,33 \cdot 10^3 \text{ Propionibacterium acnes}$$

4.7. *Salmonella spp.*, $N_0 = 25$ zelula, $\mu = 0,5$ ordu, lag fasea = 3 ordu. *S. enterica*, $N_0 = 32$ zelula, $\mu = 0,17$ ordu⁻¹, lag fasea = 5 ordu
Salmonella-ren zelulak (*Salmonella spp.* + *S. enterica*) 10 orduren buruan?

	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Salmonella enterica</i>
Lag fasea (ordu)	3	5
μ (ordu ⁻¹)	1,386	0,170
g (ordu)	0,50	4,08
N_0 (zelulak)	25	32
Denbora (ordu)	7	5
N (zelulak)	3,98 10 ⁵	74,8
N (<i>Salmonella</i>)	(Salmonella spp. + S. enterica) 3,98 10 ⁵	

4.8. Dentsitatea (zelula/ml) hondartzan 24 orduren buruan?

	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus</i>
Hondakin-ura: zelula/100 ml	7,8 10 ¹⁰	6,2 10 ⁹
Isurketa: zelula/100 ml	7,8 10 ⁷	6,2 10 ⁶
μ (ordu ⁻¹)	0,231	0,11
g (ordu)	3	6,3
Denbora (ordu)	24	24
N (zelula/100 ml)	1,99 10 ¹⁰	8,71 10 ⁷
N (zelula/ml)	1,99 10 ⁸	8,71 10 ⁵

4.9. Errendimendua?

Glukosa = %10 (p/b) = 10 g/100 ml = 100 g/l

Biomasa = 20 g/l

Y = ekoiztutako biomasa/kontsumitutako glukosa

$$\frac{20 \text{ g zelula/l}}{100 \text{ g glukosa/l}} = 0,2 \text{ g zelula/g glukosa}$$

4.10. Zein espezie haziko da arinago?

A espeziea		B espeziea		C espeziea	
Denbora (ordu)	Log N	Denbora (ordu)	Log N	Denbora (ordu)	Log N
4	4,64	3	5,30	5	6,22
5	4,81	4	5,44	6	6,37
6	4,98	5	5,58	7	6,52
7	5,15	6	5,72	8	6,67
8	5,32	7	5,86	9	6,82
μ (ordu ⁻¹)	0,3915	μ (ordu ⁻¹)	0,3224	μ (ordu ⁻¹)	0,3455
g (ordu)	1,77	g (ordu)	2,15	g (ordu)	2,01

4.11. Zein hazkuntza-mediotan hazten da hobeto?

Denbora (orduak)	A medioa		B medioa	
	Zelula/ml	Ln zelula/ml	Zelula/ml	Ln zelula/ml
0	2,09 10 ⁶	14,55	2,29 10 ⁵	12,34
1	2,04 10 ⁶	14,53	2,24 10 ⁵	12,32
2	1,99 10⁶	14,50	2,25 10 ⁵	12,32
3	2,63 10⁶	14,78	2,19 10 ⁵	12,30
4	3,47 10⁶	15,06	2,23 10⁵	12,31
5	4,68 10⁶	15,36	3,16 10⁵	12,66
6	6,17 10⁶	15,64	4,47 10⁵	13,01
7	7,94 10⁶	15,89	6,46 10⁵	13,38
8	8,32 10⁶	15,93	9,33 10⁵	13,75
9	8,51 10 ⁶	15,96	1,32 10⁶	14,09
10	8,33 10 ⁶	15,94	1,29 10 ⁶	14,07
11	8,13 10 ⁶	15,91	1,26 10 ⁶	14,05
Lag fasea (ordu)	3		5	
μ (ordu ⁻¹)	0,2809		0,3583	
g (ordu)	2,47		1,93	
M (zelula/ml)	6,28 10⁶		1,07 10⁶	

Fase esponenziala

4.12. $\ln N$ (zelula/ml) = 20,688 Abs + 15,387, $r = 0,97$. Dentsitatea fase egonkorrean?

Denbora (orduak)	Absorbantzia	Ln zelula/ml	Zelula/ml
0	0,0022	15,43	5,03 10 ⁶
1	0,0021	15,43	5,03 10 ⁶
2	0,0088	15,57	5,78 10 ⁶
3	0,0192	15,78	7,13 10 ⁶
4	0,0315	16,04	9,25 10 ⁶
5	0,0506	16,43	1,37 10 ⁷
6	0,1108	17,68	4,77 10 ⁷
7	0,1643	18,79	1,45 10 ⁸
8	0,1905	19,33	2,48 10 ⁸
9	0,2732	21,04	1,37 10 ⁹
10	0,2603	20,77	1,05 10 ⁹
11	0,2611	20,79	1,07 10 ⁹
Batezbestekoa fase egonkorrean			1,16 10⁹

Fase egonkorra

4.13. kulturaren dentsitatea fase egonkorrean? pisu lehorra fase egonkorrean?

Absorbantzia	Mikrobo-dentsitatea (x10 ⁵ zel/ml)	Pisu lehorra (mg/ml)
0,203	15,43	0,06
0,076	7,08	0,02
0,079	7,18	0,02
0,325	28,80	0,08
0,11	10,90	0,038
0,095	5,33	0,035
0,47	47,00	0,169
0,237	24,90	0,06
0,865	87,50	0,40
0,68	68,00	0,25

$$\ln N \text{ (zelula/ml)} = 3,391 \text{ Abs} + 13,433$$

$$\text{Pisu lehorra/ml} = 0,444 \text{ Abs} - 0,026$$

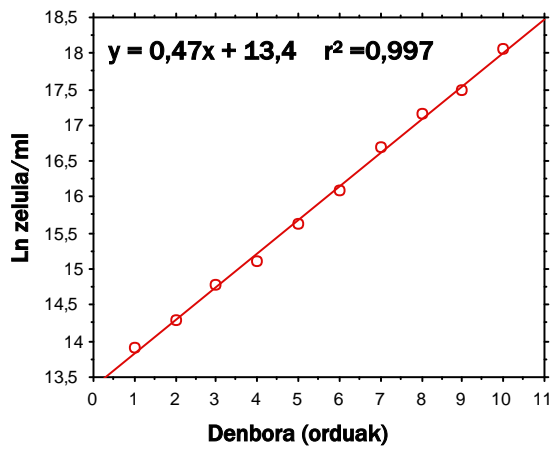
Denbora (orduak)	Absorbantzia	Ln zelula/ml	Zelula/ml	Pisu lehorra/ml
0	0,11	13,81	9,95 10 ⁵	0,023
1	0,25	14,28	1,59 10 ⁶	0,085
2	0,47	15,03	3,37 10 ⁶	0,183
3	1,01	16,86	2,10 10 ⁷	0,423
4	1,03	16,93	2,25 10 ⁷	0,431
5	1,10	17,16	2,84 10 ⁷	0,463
6	1,05	16,99	2,39 10 ⁷	0,440
Batezbestekoa fase egonkorrean			2,395 10⁷	0,439

Fase egonkorra

4.14. μ , g eta uzta maximoa? Errendimendua?

Denbora (orduak)	Zelula/ml	Ln zelula/ml
0	1000000	13,816
1	1100000	13,911
2	1600000	14,286
3	2620000	14,779
4	3650000	15,11
5	6080000	15,621
6	9900000	16,108
7	18000000	16,706
8	28100000	17,151
9	39100000	17,482
10	70100000	18,065
11	102000000	18,44
12	121000000	18,611
14	105000000	18,469

Fase esponentziala



$$\mu = 0,47 \text{ ordu}^{-1}$$

$$g = 1,47 \text{ ordu}$$

$$\text{Uzta} = 1,21 \cdot 10^8 - 1 \cdot 10^6 = 1,20 \cdot 10^8 \text{ zel/ ml}$$

$$Y = \frac{1,20 \cdot 10^8 \text{ zelula/ ml}}{5 \text{ mg/ml}} = 2,4 \cdot 10^7 \text{ zelula/mg substratu}$$

4.15. Mikroorganismoaren saturazio-konstantea laktosarako?

Laktosaren kontzentrazioa (g/l)	μ (1/ordu)	1/ laktosa (l/g)	1/ μ (ordu)
1	0,083	1	12,0481928
2	0,143	0,5	6,99300699
4	0,221	0,25	4,52488688
6	0,273	0,166666667	3,66300366
8	0,310	0,125	3,22580645
10	0,332	0,1	3,01204819
12	0,351	0,0833333333	2,84900285
14	0,367	0,071428571	2,72479564
16	0,366	0,0625	2,73224044
20	0,368	0,05	2,7173913

$$1/\mu = 9,9646 \cdot 1/S + 2,0486 \quad R^2 = 0,9994$$

$$\mu_{\max} = 1/2,0486 = 0,4881 \text{ ordu}^{-1}$$

$$K_s = 9,9646 \mu_{\max} = 4,864 \text{ g/l}$$

$$\text{mg zelula/ml} = 0,0383 + 0,409 \text{ mg laktosa/ml} \quad (r = 0,999)$$

$$Y = 0,409 \text{ mg zelula/mg laktosa}$$

$$\text{Laktosa esnearen serumean} = \% 4 = 4 \text{ g/100 ml} = 40 \text{ mg/ml}$$

$$M_{\text{seruma}} = 16,4 \text{ mg zelula/ml}$$