

Opgave 7 Klinisk mikrobiologi: Identifikation af bakterier

Fag: Kemi C ● / Kemi B ●

I klinisk mikrobiologi anvendes næringsplader med forskelligt vækstmedium i forbindelse med identifikation af bakterier. En af metoderne består i at undersøge, om bakterierne kan „forgære“ dvs. nedbryde kulhydratet lactose. Vækstmediet på pladen indeholder syre-base-indikatoren bromthymolblåt.

- a) Forklar hvad der menes med en syre-base-indikator.

Pladen er farvet pga. bromthymolblåt. Vækstmediet har $\text{pH} = 8,0$ før udsåning af bakterier.

- b) Hvilken farve har pladen før udsåning af bakterier? (Hint: Brug Databogen)

Hvis bakterien kan nedbryde lactose, dannes forskellige syrer, og pH falder betydeligt.

- c) Hvordan kan dette udnyttes til at undersøge, om bakterien kan forgære laktose?



Figur 9 Forskellige plader til identifikation af bakterier på en klinisk mikrobiologisk afdeling. Foto: KP-billedsamling

Vækstmediet består af pepton (10g/L), NaCl (5g/L) og bromthymoplblåt-opløsning (3mL/L). Efter sammenblanding indstilles vækstmediets pH til 8,0.

- d) Er vækstmediet surt, basisk eller neutralt?
 e) Hvis vækstmediet pH -værdi var 9,2 inden indstilling af pH , hvilket af følgende stoffer (opløst i vand) ville du bruge til at indstille pH til den ønskede værdi? Natriumhydroxid, saltsyre eller ammoniak?
 f) Hvor meget pepton, NaCl og bromthymoplblåt-opløsning skal der bruges, hvis man ønsker at fremstille 200 mL vækstmedium?
 g) Inden vækstmediet kan anvendes til identifikation af bakterier, skal det autoklaveres (opvarmes til $121\text{ }^\circ\text{C}$ under tryk). Hvorfor er denne opvarmning nødvendig?

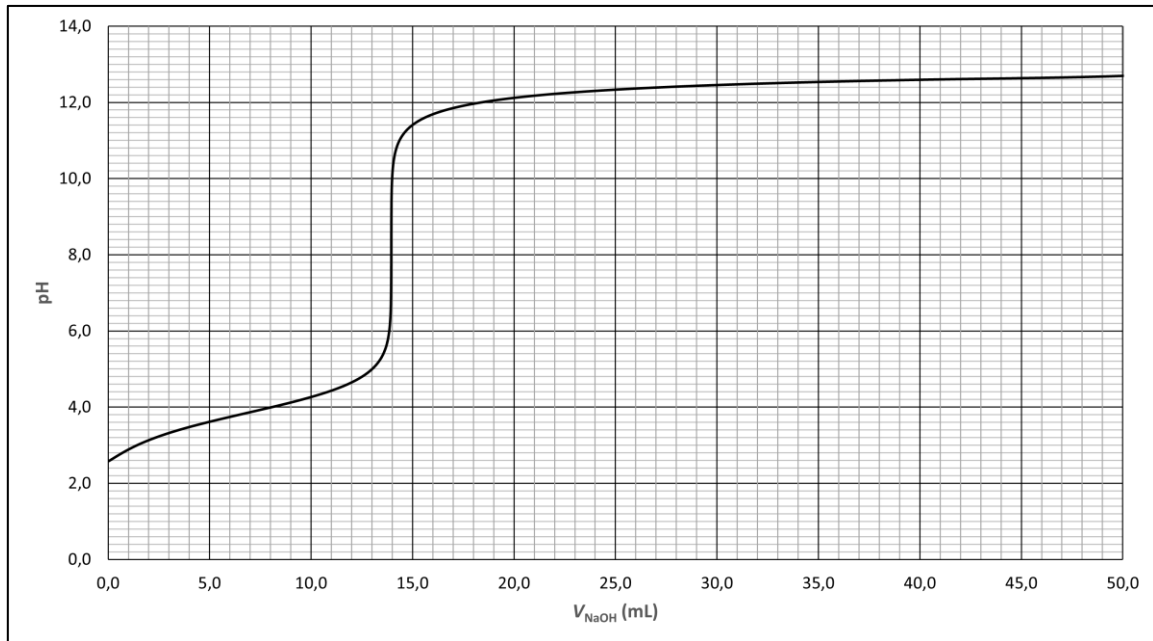
Bromthymolblåt-opløsningen fremstilles ved i en målekolbe at opløse 1 g bromthymolblåt i 25 mL 0,1 mol/L NaOH, hvorefter der fyldes op med vand til 500 mL.

- h) Vis at bromthymolblåt-opløsningens koncentration i $c_{\text{masse}\%}$ er 0,2 masse% (antag at bromthymolblåt-opløsningens densitet er 1 g/mL)
 i) Brug fortyndingsformlen til at vise, at koncentrationen af NaOH i bromthymolblåt-opløsningen er 0,005 mol/L.
 j) Beregn pH i bromthymolblåt-opløsningen (antag at kun NaOH bidrager til opløsningens pH)

En af de syrer, der dannes ved bakteriers nedbrydning af lactose, er mælkesyre (2-hydroxypropansyre).

- k) Beskriv mælkesyres syrestyrke ud fra pK_s -værdien (Hint: Brug Databogen) og beregn pH for en 0,1 M opløsning af mælkesyre i vand.

Indholdet af mælkesyre i en prøve kan bestemmes ved en syre-base-titrering med stærk base. Nedenfor ses titrerkurven for kolorimetrisk syre-base-titrering af 25,00 mL mælkesyre-prøve med en 0,0980 M NaOH.



Figur 10 Titrerkurve for syre-basetitrering af 25,00 mL mælkesyre-opløsning med 0,0980 M NaOH.

- l) Aflæs ækvivalenspunktet på titrerkurven.
- m) Beregn den formelle stofmængdekonzentration af mælkesyre i prøven.
- n) Foreslå en egnet syre-base-indikator til brug ved en kolorimetrisk titrering af mælkesyre.
- o) Opskriv strukturformlen for mælkesyre som en fischerprojektion og marker eventuelle asymmetriske carbonatomer. Hvad vil det sige, at et carbonatom er asymmetrisk?
- p) Er den strukturformel, du har tegnet i spørgsmål o), L- eller D-formen af mælkesyre (alternativt S- eller R-formen)?