

## Lærervejledning – Forsøg: Mælkesyrebakterier og holdbarhed Sundhedsfremmende bioaktiv kost

### Opbygning og tidsplan

1. Prøver skal forberedes som skal stå i 1-2 dage. Der udplades og inkuberes i 3-6 dage (afhængig af tidsplan). Denne dag er ret omfattende ca. 1 til halvanden time
2. 1-2 dage efter arbejdes der med prøverne fra dag 1. Disse udplades ligeledes og skal inkubere i 3-6 dage. Denne dag er også omfattende - ca. halvanden time
3. Omk. 4 dage efter dag 2 undersøges pladerne fra dag 1 og dag 2 - ca. en time

### Grupper

Grupper af 3 - så har hver person én prøve at tage sig af.

### Udstyr:

Vægt

Lange teskeer (eller andet hårdt redskab til at blande indholdet i Falcon-rørene med)

Drigalski-spateler

Bunsenbrændere

Tusch der kan tegne på plader og rør

Tændstikker

Beholder til at holde tre 50 mL Falcon-rør - fx et 500 mL bæger

pH-meter

Mikroskop (valgfrit)

Glas og olie til mikroskop (valgfrit)

**Materialer:**

70% ethanol

1 mL og 100  $\mu$ L pipettespidser

1,5 mL eller 2 mL eppendorfrør (omk. 40 pr. gruppe)

0.9% NaCl

Petri-skåle

Til 36 pr. gruppe + lidt ekstra

50 mL Falcon-rør

9 pr. gruppe + lidt ekstra

MRS-agar

(opskrift længere nede i dokumentet, ellers kan det nemt bestilles på oxoid med REF CM0361)

18 pr. gruppe + lidt ekstra

Hakkekød (fx oksekød. Helst med lav fedt%)

Cultura naturel

TSA-agar (opskrift længere nede i dokumentet, ellers kan det nemt bestilles på oxoid med REF CM0131) til 18 pr. gruppe + lidt ekstra

### Forberedelse:

0.9% NaCl skal blandes. Det er smart at lave en flaske til hver gruppe pr. forsøg. For eksempel med 300 mL i. Forbered TSA agar plader og MRS agar plader. Det er bedst at forberede pladerne dagen før forsøget og lave friske plader til hver gang. Der går ca. til 50 plader på en liter, hvis der kommes 20 mL i hver petri-skål.

Husk at autoklavere vand, pipettespidser, eppendorfrør, den mineralske olie og selvfølgelig agar mediet.

### Opskrifter på medier:

#### MRS-agar:

- 1.0 % [peptone](#)
- 0.8 % meat extract
- 0.4 % [yeast extract](#)
- 2.0 % [glucose](#)
- 0.5 % [sodium acetate](#) trihydrate
- 0.1 % [polysorbate 80](#) (also known as Tween 80)
- 0.2 % [dipotassium hydrogen phosphate](#)
- 0.2 % [triammonium citrate](#)
- 0.02 % [magnesium sulfate](#) heptahydrate
- 0.005 % [manganese sulfate](#) tetrahydrate
- 1.0 % [agar](#)
- [pH](#) adjusted to 6.2 at 25°C

The yeast and meat extracts and peptone provide sources of carbon, nitrogen and [vitamins](#) for general bacterial growth. The yeast extract also contains vitamins and [amino acids](#) specifically required by [Lactobacilli](#). [polysorbate 80](#) is a surfactant which assists in nutrient uptake by [Lactobacilli](#). Magnesium sulfate and manganese sulfate provide cations used in [metabolism](#).

#### TSA agar

One liter of the agar contains:

- 17g [Tryptone](#) – pancreatic digest of casein
- 3g [Soytone](#) – enzymatic digest of soybean meal
- 3g [Dextrose](#) (can be omitted)
- 5g [Sodium Chloride](#)
- 2.5g [K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>](#) (pH 7.3 ± 0.2 at 25°C)
- 15g [Agar](#)

Trypticase soy agar (tryptone soya agar) is a [bacterial](#) growth medium.

The medium contains enzymatic digests of [casein](#) and [soybean](#) meal, which provides [amino acids](#) and other nitrogenous substances making it a nutritious medium for a variety of organisms. [Dextrose](#) is the energy source. Sodium chloride maintains the osmotic equilibrium, while dipotassium phosphate acts as buffer to maintain pH. Agar extracted from any number of organisms is used as a gelling agent. The medium may be supplemented with blood to facilitate the growth of more [fastidious](#) bacteria or antimicrobial agents to permit the selection of various microbial groups from pure flora. As with any media, minor changes may be made to suit specific circumstances.

## **API 50 CHL Medium**

1L medium består af:

Polypeptone 10 g

Yeast extract 5 g

Tween 80 1 ml

Dipotassium phosphate 2 g

Sodium acetate 3H<sub>2</sub>O 5 g

Diammonium citrate 2 g

Magnesium sulphate 7H<sub>2</sub>O 0.20 g

Manganese sulphate 4H<sub>2</sub>O 0.05 g

Bromocresol Purple 0.17 g

Demineralized water to make 1000 ml