

## EKSPERIMENTER

1. [Mikroskopi, dyrkning og tælling af gærsvampe](#) (side 10 i bogen).
2. [En høinfusion](#) (side 10 og side 32 i bogen).
3. [Selektion af varmetolerante jordbakterier](#) (side 14 i bogen).
4. [Gramfarvning](#) (side 22 i bogen).
5. [Dyrkning og vurdering af antallet af mikroorganismer i et flydende vækstmedie](#) (side 37 i bogen).
6. [Undersøgelse af algevækst](#) (side 39 i bogen).
7. [Fremstilling af springlag](#) (side 50 i bogen).
8. [Fremstilling af liglagen](#) (side 54 i bogen).
9. [Forsøg med Rhizobium](#) (side 64 i bogen).
10. [Undersøgelse af et mundhuleskrab](#) (side 70 i bogen).
11. [Hæmning af bakterievækst](#) (side 78 i bogen).
12. [Undersøgelse af resistens hos bakterier](#) (side 79 og 89 i bogen).
13. [Transformation af bakterier og gærsvampe](#) (side 81 og 94 i bogen).
14. [Steriliseringsteknikker](#) (side 88 i bogen).
15. [Fremstilling af vækstmedier](#) (side 89 i bogen).
16. [Isolering og dyrkning af mikroorganismer](#) (side 90 i bogen).
17. [Fremstilling af præparat og brug af mikroskop](#) (side 92 i bogen).
18. [Farvning af præparater](#) (side 92 i bogen).
19. [Ølbrygning](#) (side 98 i bogen).
20. [Forsøg med forskellige parringstyper af gær](#) (side 100 i bogen).
21. [Undersøgelse af aktivitet af ektoenzym hos bakterie](#) (side 102 i bogen).
22. [Fremstilling af ost](#) (side 107 i bogen).

### Mikroskopisk liv

Biologi med fokus på mikroorganismer

© Lone Als Egebo og Nucleus Forlag ApS

Eksemplar fremstilling af papirkopier/prints fra denne hjemmeside til undervisningsbrug på uddannelsesinstitutioner og intern administrativ brug er tilladt med en aftale med Copydan Tekst & Node.

Eksemplar fremstillingen skal ske inden for aftalens begrænsninger.

# Eksperiment 1

## Mikroskopi, dyrkning og tælling af gærsvampe (side 10 i bogen)

### Indledning

Det er nemt at komme til at se på gærsvampe i mikroskop, da det blot kræver at man anskaffer sig en pakke bagegær. Bagegær er en encellet svamp der formerer sig ved knopskydning, se figur 1 side 7 i bogen.

Bagegærs videnskabelige navn er *Saccharomyces cerevisiae* som betyder noget i retning af 'sukkersvamp der bruges sammen med korn'. Bagegær bruges sammen med hvede til at bage brød, og kan bruges sammen med byg og humle til at brygge særlige typer øl, fx ale. Den lever af at forgære forskellige sukkerarter bl.a. alm. sukker, der også hedder sukrose eller sakkarose.

## A. Dyrkning og mikroskopi

### Formål

At iagttage vækst og udseende af en mikroorganisme.

### Materialer

Mikroskop + tilbehør, [se eksperiment 17](#)

En pakke bagegær

Stødt melis (sukrose)

100 mL bægerglas

Spatel

Engangspipette

Vægt

### Fremgangsmåde

Afvej i et bægerglas 1 g bagegær og 1 g sukrose. Tilsæt ca. 100 mL vand og omrør med spatlen indtil sukkeret er opløst og gæren er jævnt fordelt. Lad blandingen hvile indtil den skummer, fx et par timer eller til næste dag.

Rør i blandingen og udtag en smule med en pipette til mikroskopi, [se eksperiment 17](#).

### Iagttagelser og resultater

I præparatet skulle man kunne se celler som vist på figur 1, side 7 i bogen. Ligger cellerne for tæt, kan gærblandingen fortyndes og en ny prøve kan udtages. Hvis der er en målepind på mikroskopets okular, kan cellernes størrelse evt. vurderes.

Tegn eller fotografér det du ser.

### Diskussion

Hvorfor skummer gærblandingen?

Så du celler i færd med at lave knopskydning?

Hvis ja, hvad fortæller det om gærcellerne? Hvis nej, hvad kan det så skyldes?

Hvor store er gærcellerne?

### Konklusion

Blev formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

## B. Tælling

### Formål

At vurdere antallet af gærceller i en pakke bagegær.

### Materialer

Mikroskop, [se eksperiment 17](#)

Tællekammer med tilhørende dækglas

En pakke bagegær  
100 mL måleglas  
8 reagensglas  
Spatel  
5 mL pipette  
Engangspipette  
Vægt

### Metode

Man kan vurdere antallet af gærceller i en pakke gær ved hjælp af et *tællekammer*.

Et tællekammer ligner et objektglas, [se eksperiment 17](#), men er inddelt i 256 meget små felter. Hvert felt har et volumen på  $25 \times 10^{-5} \text{ mm}^3$ . Hvis man anbringer en dråbe der indeholder gærceller i tællekammeret, og derefter spænder et dækglas fast ved hjælp af skruerne på tællekammeret, kan man tælle antallet af celler i hvert felt.

Hvis man tæller antallet af gærceller i 80 felter og multiplicerer med 50, får man antallet af gærceller pr.  $\text{mm}^3$ . Regn selv efter.

Der findes også andre metoder til at vurdere antal af mikroorganismer, se fx [eksperiment 5](#).

### Fremgangsmåde

Mærk de otte reagensglas fra 1 til 8 og fyld 5 mL vand i hver.

Afvej i et måleglas ca. 1,25 g bagegær, og notér den nøjagtige vægt. Tilsæt vand til præcis 50 mL, og opslæm derefter gærcellerne grundigt ved hjælp af spatlen.

Overfør med pipette 5 mL af opslæmningen til reagensglas 1 og omryst grundigt. Udtag med pipette 5 mL og overfør til reagensglas 2. Omryst grundigt. Fortsæt således til og med reagensglas 8. Dette kalder man at lave en *fortyndingsrække*.

Udtag et lille volumen fra reagensglas 7 eller 8 med engangspipetten. Anbring en dråbe af dette i tællekammeret. Tæl antallet af gærceller i 40-80 felter. Der vil også ligge gærceller på kanten af felterne, de skal også tælles med. Find et tællesystem således at cellerne på kanterne hverken glemmes eller tælles to gange.

### Resultater og resultatbehandling

Anfør dit samlede antal gærceller i 40-80 felter.

Beregn ud fra dette antallet af gærceller pr.  $\text{mm}^3$  fortynding.

Omregn dette til antal celler pr. mL ( $\text{cm}^3$ ).

Beregn ved hjælp fortyndingsrækken antallet af gærceller pr. mL i reagensglas 1.

Beregn antallet af gærceller i 1 g bagegær.

Beregn antallet af gærceller i en pakke gær (50 g).

### Diskussion

Der skulle være ca.  $5 \times 10^{11}$  (500 milliarder) gærceller i en pakke gær.

Stemmer dine optællinger og beregninger overens med dette resultat?

Er der en tendens til at klassens resultater ligger over eller under det forventede?

Diskutér hvilke usikkerheder og fejlkilder der kan være ved fremgangsmåden.

### Konklusion

Vurderer du at tællemetoden egner sig til at vurdere antallet af gærceller i en pakke bagegær?

## **Eksperiment 2**

**En høinfusion** (side 10 og 32 i bogen)

### **Indledning**

At lave en *infusion* er at overhælde noget med væske. I dette tilfælde er det hø som skal overhældes med kogende vand.

Som beskrevet i bogen indeholder høinfusioner ofte en rig samling af forskellige mikroorganismer. Især findes der mange bakterier, alger og protozoer, se figur 4, side 11 og figur 33, side 32 i bogen. Bakterier er beskrevet side 20-25 i bogen, mens alger er beskrevet side 26-30. Protozoer er beskrevet side 31-33 i bogen, og de protozoer man finder i høinfusioner, er oftest af den type man kalder ciliater. Af samme grund kalder man også ciliater for infusionsdyr.

### **Formål**

At iagttage forskellige mikroorganismer i en høinfusion under forskellige miljøforhold, og at undersøge den tidsmæssige rækkefølge de forskellige levende organismer optræder i. Sidstnævnte kalder man også for høinfusionens *succession*.

### **Materialer**

2 glasbeholdere (slytetøjsglas, bægerglas el. lign.)

Husholdningsfilm

Hø eller tørret græs

Sø- eller damvand

Mikroskop + tilbehør, [se eksperiment 17](#)

Engangspipette

### **Fremgangsmåde**

Bunden af to glasbeholdere dækkes med hø eller tørret græs og overhældes med nykogt vand.

Beholderne dækkes over med husholdningsfilm og opbevares ved stuetemperatur et par dage. Variér derefter miljøet for de to beholdere. Tilsæt fx sø- eller damvand til den ene, og alm. hanevand til den anden. Eller pod fx begge beholdere med sø- eller damvand, men lad den ene stå helt i mørke (et skab) mens den anden står lyst. Find evt. selv på andre variationer af miljøbetingelserne.

Opstil en hypotese for hvordan indholdet af dine to høinfusioner udvikler sig.

Undersøg med jævne mellemrum, i starten fx hver uge, et par dråber fra høinfusionerne i mikroskop.

### **Iagttagelser og resultater**

Tegn eller fotografér de mikroorganismer du finder i vandet. Beskriv deres udseende og evt. deres bevægelsesmønster.

Vurdér og sammenlign deres størrelse.

Bemærk ved hver undersøgelse hvilke mikroorganismer der er mange af og hvilke der er få af.

Find, evt. ved hjælp af diverse opslagsværker, ud af hvilke typer mikroorganismer du har fundet.

### **Diskussion**

Er der forskel på hvilke organismer du har fundet i de to beholdere? Hvis der er så prøv at forklare årsagen til forskellen, og tag stilling til om din forklaring stemmer overens med din hypotese.

Er der foregået en succession i nogle af dine beholdere? Hvis der er, så prøv at forklare den.

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

## **Eksperiment 3**

### **Selektion af varmetolerante jordbakterier** (side 14 i bogen).

#### **Indledning**

Den mængde jord der kan ligge på neglen af en tommelfinger, vejer ca. 1 g, og den kan indeholde ca. en milliard dvs.  $10^9$  bakterier og svampesporer. Ved at opslæmme en jordprøve i vand og derefter sprede den ud på en petriskål med et vækstmedie, kan man efter et par dage iagttage væksten af flere forskellige bakterier og svampe.

Ved hjælp af denne metode kan man også vise princippet i naturlig selektion, idet man ved at tage to jordprøver og udsætte den ene for en højere temperatur kan selekttere for varmetolerante bakterier (og svampe), som beskrevet side 14 i bogen.

Hvis man vil være sikker på at man kun arbejder med mikroorganismer fra jorden, skal alle materialer være sterile. Men hvis man blot vil iagttage princippet i naturlig selektion, er renheden mindre vigtig.

#### **Formål**

At iagttage jordbakterier (og jordlevende svampe), samt at vise princippet i naturlig selektion.

#### **Materialer**

Glas med skruelåg (minimum 150 mL, evt. sterile)

10 og 100 mL cylinderglas (evt. sterile)

Frisk havejord

Vægt

Kogt afkølet vand (evt. autoklaveret, [se eksperiment 14](#))

16 reagensglas m. prop eller låg (evt. sterile)

Varmeskab

Petriskåle med vækstmedium med agar, [se eksperiment 15](#)

Drigalskispattel

Etanol

Bunsenbrænder

Engangspipetter eller mikropipette (evt. sterile)

Parafilm eller malertape

#### **Fremgangsmåde**

Afvej 10 g jord i glasset med skruelåg. Tilsæt 90 mL kogt afkølet vand og ryst blandingen kraftigt i 2-3 min.

Overfør 5 mL jordopslæmning til to af reagensglassene. Sæt prop eller låg på og sæt det ene reagensglas i varmeskab ved 65 °C i 30 min. Det andet reagensglas fungerer som kontrol og skal blot stå ved stuetemperatur.

Mærk de øvrige fjorten reagensglas fra 1-7 i to serier og tilsæt 5 mL kogt afkølet vand til hver. Lav, når jordprøverne har stået i 30 min., en fortyndingsrække ved hjælp af reagensglassene, som beskrevet i [eksperiment 1B](#).

Overfør med hver sin engangspipette 1 mL fra det sidste reagensglas i hver fortyndingsrække til hver sin agarplade. Fordel opslæmningen på agarpladen med en flamberet drigalskispattel, [se eksperiment 14](#), og forsegl derefter pladerne med Parafilm eller malertape.

Lad de to agarplader inkubere et par dage indtil der er fremkommet bakteriekolonier. Fremsæt forinden en hypotese der kan forklare en evt. forskel i væksten på de to plader, og hvad meningen er med en kontrol.

#### **Iagttagelser og resultater**

Tegn, beskriv eller fotografér dine plader.

Tæl antallet af fremkomne kolonier på de to plader og tag stilling til hvor mange forskellige arter der er repræsenteret.

Anfør antallet af kolonier og antallet af arter der er fremkommet på dine plader.

### **Diskussion**

Er der forskel på antallet af kolonier på de to plader?

Er der forskel på antallet af arter på de to plader?

Kan din hypotese give en forklaring på dine iagttagelser? Hvis ikke, så lav en ny hypotese.

Diskutér hvilke usikkerheder og fejlkilder der kan være ved fremgangsmåden.

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

## **Eksperiment 4**

### **Gramfarvning** (side 22 i bogen)

#### **Indledning**

Man kan opdele bakterier i to grupper, grampositive og gramnegative bakterier, efter opbygningen af deres cellevæg. En hurtig metode til at afgøre hvilken gruppe en bakterie tilhører, er gramfarvning. Gramfarvning og dens anvendelse, samt opbygningen af den grampositive og gramnegative cellevæg er beskrevet side 22-23 i bogen.

Ved gramfarvning farver man først bakterierne med et blåviolet stof. Derefter bejdser man farven fast med en opløsning der indeholder jod. Dernæst affarver man med alkohol, inden man farver med et rødt farvestof. De grampositive bakterier beholder den blåviolette farve trods affarvning med alkohol. De gramnegative mister den blåviolette farve men bliver efterfølgende farvet røde.

Væskerne til gramfarvning er stærkt farvende og sundhedsskadelige. Læs derfor grundigt på flaskerne inden brug. Korrekt påklædning under farveprocessen er handsker, kittel og briller.

#### **Formål**

At identificere forskellige bakterier som grampositive eller gramnegative.

#### **Materialer**

Agarplade med bakteriekolonier

Podepind

Objektglas

Bunsenbrænder

Mikroskop, [se eksperiment 17](#)

Krystalvioletoopløsning

Jod-jodkaliumopløsning

Etanol (evt. som husholdningssprit)

Erythrosin-opløsning eller karbolfuksin-opløsning

Demineraliseret vand i sprøjteflaske

Trækpapir

#### **Fremgangsmåde**

Anbring en lille dråbe vand på et objektglas, og rør 2-3 kolonier ud deri med podepinden.

Lufttør præparatet og fiksér det ved kortvarig flambering af undersiden. Lav to præparater for hver art af bakterier.

Anbring præparaterne i vasken og overhæld hele overfladen med krystalvioletoopløsning. Lad det stå 1 minut, og skyl grundigt med vand.

Overhæld nu overfladen med jod-jodkaliumopløsning. Lad det stå 1 minut, og skyl grundigt med vand. Hold derefter præparatet skråt og skyl med etanol til præparatet er affarvet, dog ikke nødvendigvis der hvor bakterien er påført (grampositiv).

Skyl efter med vand for at fjerne alkoholen.

Anbring igen præparatet i vasken og overhæld hele overfladen med erythrosin eller karbolfuksinopløsning. Lad det stå hhv. 2 min. eller 15-20 sekunder, og skyl grundigt med vand. Tør præparatet med trækpapir og undersøg det i mikroskop, [se eksperiment 17](#).

#### **Iagttagelser og resultater**

Tegn, fotografér eller beskriv de bakteriekolonier du har brugt.

Sammenlign dine præparater med figur 17a og 17b side 23 i bogen, og tag stilling til om bakterierne er grampositive (violette) eller gramnegative (røde). Beskriv også bakterierne mht. til deres form (kugleformede, stavformede eller skrueformede), og sammenlign disse med figur 15 og figur 17 side 22-23 i bogen. Sammenlign evt. dine resultater med beskrivelser af bakterier i forskellige opslagsværker.

**Diskussion**

Nævn nogle grunde til hvorfor det kan være vigtigt at kunne identificere en bakterie som grampositiv eller gramnegativ?

Diskutér hvilke usikkerheder og fejlkilder der kan være ved fremgangsmåden.

**Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?



## Eksperiment 5

**Dyrkning og vurdering af antallet af mikroorganismer i et flydende vækstmedie** (side 37 i bogen)

### Indledning

Man kan dyrke og følge væksten af en mikroorganisme i et laboratorium som beskrevet side 36-38 i bogen. Nogle af de mikroorganismer som er nemme at dyrke er kolibakterier, *Escherichia coli*, og bagegær, *Saccharomyces cerevisiae*, der er en encellet svamp.

Kolibakterier kan man købe via Københavns Universitet, Biologisk Institut, Afd. for Mikrobiologi.

Formular findes på fagkonsulentens hjemmeside under [www.emu.dk](http://www.emu.dk).

Under ideelle forhold har kolibakterier en generationstid på ca. 20 min., mens gærcellers generationstid er på ca. 2 timer.

Man kan følge væksten af en mikroorganisme ved at måle tætheden af den i en flydende kultur på forskellige tidspunkter. Det kan man gøre ved hjælp af et *spektrofotometer*.

Normalt bruger man et spektrofotometer til at måle en opløsning af et farvet stof's evne til at absorbere lys. Indtil koncentrationen af farvestof på et tidspunkt bliver så tæt at det absorberer alt lys, er der en lineær sammenhæng mellem farvestoffets koncentration og dets evne til at absorbere lys. En kultur af en mikroorganisme er meget mere uensartet end en farvet opløsning. I stedet for en absorption sker der derfor en brydning og dermed en spredning af lyset. Resultatet af det bliver dog vist som en absorption på spektrofotometerets display, og afhænger også lineært af kulturens koncentration, dvs. af antallet af mikroorganismer, indtil kulturen bliver for tæt.

For at få et konkret mål for antallet af mikroorganismer ved en bestemt tæthed, kan man kombinere tæthedsmålingen med udpladning og optælling af mikroorganismer på en petriskål med et vækstmedie. Man kan også kombinere tæthedsmålingen med brug af et tællekammer, som beskrevet i [eksperiment 1](#).

### Formål

At følge væksten af kolibakterier eller gærceller i et flydende vækstmedie, og at vurdere antallet af celler på forskellige tidspunkter.

### Materialer

Kulturer af kolibakterier eller bagegær på agarplade

Sterile podedinde eller steril podenål

Sterile medier:

150 mL flydende medium til bakterier eller til svampe i 400 mL kolbe, [se eksperiment 15](#)

5-(6) reagensglas pr. gruppe med 9 mL af tilsvarende vækstmedie

1 petriskål pr. gruppe med tilsvarende vækstmedie tilsat agar.

Drigalskispatel

Etanol

Bunsenbrænder

Termostatvandbad med rystning, gennembobling eller omrøring

Spektrofotometer med kuvetter, bølgelængde 450-600 nm

Varmeskab

Sterile engangspipetter eller mikropipetter med sterile spidser

Parafilm eller malertape

### Fremgangsmåde

Pod et reagensglas der indeholder medie, med kolonier fra en agarplade. Stil reagensglasset i et termostatvandbad med rystning, gennembobling eller omrøring ved 37 °C (bakterier) eller 30 °C (gær). Efter en dag (bakterier)/to dage (gær) har man en startkultur der er i den stationære fase.

Overfør startkulturen til et flydende medium og anbring det i rystebadet. Få en instruktion i hvordan spektrofotometeret betjenes.

Udtag med jævne mellemrum med steril pipette 3 mL prøve af kulturen til måling i spektrofotometer (tæthed målt som "absorption"). Vurdér selv med udgangspunkt i organismens generationstid hvor ofte der skal udtages en prøve. Man kan organisere arbejdet således at hver gruppe udtager en prøve på et givet tidspunkt, og man derefter samler resultaterne.

Udtag samtidig 1 mL prøve og lav en fortyndingsrække ved hjælp af reagensglassene, som beskrevet i [eksperiment 1B](#), dog udtager man kun 1 mL hver gang. Overfør med steril pipette 1 mL fra det sidste reagensglas til en agarplade. Fordel prøven på agarpladen med en flamberet drigalskispattel, [se eksperiment 14](#), og forsegl derefter pladerne med Parafilm eller malertape.

Lad agarpladen inkubere et par dage indtil der er fremkommet kolonier.

### **Resultater og resultatbehandling**

Opstil et skema hvor du kan anføre samhørende værdier af tid, absorption og antal celler.

Optæl antallet af kolonier på agarpladerne og beregn på grundlag af fortyndingsrækken antallet af mikroorganismer pr. mL i kulturen på det givne tidspunkt. Indfør disse værdier i dit skema.

Lav en graf der viser sammenhængen mellem absorption og celleantal.

Lav dernæst en graf der viser sammenhængen mellem celleantal og tid.

Lav samme graf på semilogaritmisk papir.

### **Diskussion**

Analysér dine grafer, det vil sige at du skal beskrive og forklare deres udseende. Brug evt. figur 38, 39 og 40 i bogen som hjælp.

Hvad er fordelene ved at starte med en kultur der er i den stationære fase?

Hvilke fejlkilder og usikkerheder kan der være ved fremgangsmåden?

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

# Eksperiment 6

## Undersøgelse af algevækst (side 39 i bogen)

### Indledning

Mikroskopiske alger er levende organismer der er i stand til under passende miljøforhold at lave fotosyntese. Læs om alger på side 26-30 i bogen og om fotosyntese side 52.

Ud over lys, CO<sub>2</sub> og vand har alger bl.a. også brug for kvælstof (N) og fosfor (P) for at vokse. De skal bl.a. bruge disse næringsstoffer for at kunne lave proteiner (N) og DNA (N og P).

Hvis der bliver udledt for store mængder N og P, fx i form af nitrat og fosfat, til søer og til havet, kan det give anledning til algeopblomstringer som beskrevet side 38-40 i bogen. For at mindske denne udledning renser man i Danmark hus- og industrispildevand for N og P. Rensning for fosfor foregår især ved fældning med ferrosulfat (FeSO<sub>4</sub>).

I dette forsøg vil vi filtrere noget sø- eller damvand. Tilbage på filteret skulle gerne sidde nogle alger. Disse filtre anbringes i petriskåle med vand. Petriskålene kan sættes i lys eller mørke, og vandet kan tilsættes forskellige opløsninger der indeholder eller fjerner næringsstoffer. Væksten af alger på filtrerpapiret måles ud fra farveintensiteten på filteret efter nogen tid.

### Formål

At undersøge hvordan forskellige abiotiske faktorer påvirker væksten af mikroskopiske alger fra sø- eller damvand.

### Materialer

Petriskåle

Filtrerpapir

25 mL måleglas

50 mL bægerglas el. lign.

½ L sø- eller damvand

Demineraliseret vand

Vandstrålepumpe

Sugekolbe

Büchnertragt med gummiring

Flydende gødning til potteplanter (Indeholder både N og P)

Koncentreret opløsning af fosfatholdigt vaskepulver

Koncentreret ferrosulfatopløsning, FeSO<sub>4</sub> (fælder fosfat)

### Fremgangsmåde

Planlæg en forsøgsrække (4-5 petriskåle) hvor du udsætter algerne for forskellige miljøforhold. Husk en kontrolskål.

Mærk filtrene 1-5 med en blyant. Anbring et filter i Büchnertragten. Forbind tragten med sugokolben ved hjælp af en gummiring, og forbind sugokolben med vandstrålepumpen via en slange. Sørg for at alt slutter tæt. Hæld 50 mL sø- eller damvand gennem tragten og åbn for vandhanen. Afhængigt af om søen/dammen er grøn eller klarvandet filtrerer man op til 4 x 50 mL. Tag slangen fra vandstrålepumpen og luk derefter for vandet. Gentag proceduren for hvert filter, idet der filtreres den samme mængde vand hver gang.

Mærk imens petriskålene og tilsæt 20 mL demineraliseret vand til hver. Tilsæt 10-20 dråber af de opløsninger der ønskes brugt, og notér hvad der er tilsat i et skema. En variationsmulighed kan være at tilsætte hanevand eller sø/damvand i stedet for demineraliseret vand til én af skålene.

Anbring filtrene i petriskålene, sæt låg på og lad dem stå 1-2 uger.

### Iagttagelser og resultater

Søg i mellemtiden oplysninger om indholdet af N og P i det lokale drikkevand og i søen/dammen.

Undersøg om din egen husholdning bruger fosfatholdigt vaskepulver, og om den i givet fald får rensset spildevand for fosfor.

Opstil en hypotese der forklarer dine forventede resultater, og noter dine forventede resultater. Sammenlign efter 1-2 uger filtrene med hensyn til vækst af alger.

### **Diskussion**

Analysér dine data. Stemmer den observerede vækst overens med den forventede vækst? Hvilke fejlkilder og usikkerheder kan der være ved fremgangsmåden?

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

### **Alternativt forsøg**

En anden måde at undersøge næringssaltes betydning for algevækst kan laves som klasseforsøg.

4 akvarier på hver 10 L fyldes med søvand og tilsættes hhv. N, N+P, P eller ingenting.

Stofmængdeforholdet mellem N og P bør være ca. 16:1 (vægtforhold ca. 7:1). Lav fx opløsninger således at startkoncentrationen i akvarierne af N er 3,5 mg/l og af P er 0,5 mg/l.

De følgende dage sammenlignes udviklingen i vandets farve.

Følgende kan fx undersøges undervejs:

N og P indhold (evt. samarbejde med kemi).

Algetæthed (enten visuelt eller ved filtrering af vand og efterfølgende ekstraktion og spektrofotometrisk måling af klorofyl).

Ilt-/CO<sub>2</sub>-/pH-svingninger i løbet af et døgn i et eller flere af akvarierne vha. dataopsamling.

På grundlag af iagttagelser og resultater kan det diskuteres om N eller P er begrænsende faktor, eutrofieringskilder osv.

# **Eksperiment 7**

## **Fremstilling af springlag** (side 50 i bogen)

### **Indledning**

I havvand (og søvand) opstår der især om sommeren en lagdeling af vandet. Mellem de to lag opstår et springlag hvor temperatur- ilt- og evt. saltkoncentrationen ændrer sig voldsomt. Fænomenet er beskrevet side 50-51 i bogen. Lagdeling af vandet øger risikoen for udvikling af iltvind ved hav- eller søbunden.

### **Formål**

At fremstille et springlag for at iagttage fænomenet.

### **Materialer**

NaCl

Vand

Teske

Farvet væske (indikatorvæske, saftvand, frugtfarve eller lignende)

### **Fremgangsmåde**

Opløs 2-3 teskefulde NaCl pr. liter vand der skal bruges. Afkøl vandet til ca. 4 °C (køleskabskoldt). Ved 4 °C har vand den største massefylde. Bland farve i saltvandet.

Kog noget vand. Hæld det kolde vand op i et 100 mL cylinderglas (10 eller 25 mL's glas kan også bruges) til det er ca. 2/3 fyldt. Hæld det varme vand meget forsigtigt ovenpå. En sikker måde at gøre det på er ved hjælp af en engangspipette hvor man drypper vandet i ved at lade det løbe i langs siden af glasset. Som demonstrationsforsøg kan et 500 mL eller 1 L cylinderglas bruges.

### **Iagttagelser og resultater**

Iagttag springlaget, og mærk temperaturforskellen på ydersiden af glasset.

### **Diskussion**

Giv en fysisk-kemisk forklaring på fænomenet.

Hvis ikke forsøget lykkedes, så prøv at give en forklaring på det.

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

# Eksperiment 8

## Fremstilling af liglagen (side 54 i bogen)

### Indledning

I forbindelse med alvorligt iltsvind bliver der på havbunden dannet det såkaldte liglagen der består af svovlbakterier af slægten *Beggiatoa*, se figur 57 side 54 i bogen.

Det er muligt i et akvarium at fremstille et liglagen og dermed efterligne situationen ved havbunden i forbindelse med alvorligt iltsvind. Man hjembringer (ildelugtende) prøver af havbund der indeholder sort mudder. Den sorte farve skyldes forbindelsen ferrosulfid (FeS) som dannes under iltfri forhold, mens lugten skyldes svovlbrinte (H<sub>2</sub>S). Evt. kan man berige sedimentet med organisk materiale i form af rådnende tang som man klipper i småstykker.

Man dækker mudder + tang med vand og regulerer tilførslen af luft til akvariet. I løbet af de 10 første dage kan man følge hvordan bunddyrene ventilerer deres gange, og evt. hvordan den sorte zone trænger opad i muddret. Efter 10 dage burde liglagenet have udviklet sig, hvis ikke kan man evt. udelukke lys. Iltsvind og dets konsekvenser for de levende organismer i havet er nærmere beskrevet side 50-51 og side 54-55 i bogen.

### Formål

At undersøge udviklingen i en havbund i forbindelse med iltsvind. At fremstille og undersøge et liglagen.

### Materialer

Sort mudder fra havbund

Evt. rådnende tang

Havvand

10 L akvarium

Akvariepumpe + luftsten

Evt. mikroskop + tilbehør ([se eksperiment 17](#))

### Fremgangsmåde

Fyld sort mudder i akvariet op til ca. 4 cm. Klip evt. rådnende tang i småstykker og fordel det ovenpå. Fyld forsigtigt op med havvand til ca. 10-12 cm over muddrets overflade. Evt. kan man hælde vandet på en tallerken eller flad skål der står på bunden, det roder mindre op i muddret. Anbring en luftsten i akvariet og regulér lufttilførslen således at der i starten bliver luftet rigeligt og efterhånden mindre og mindre. Følg akvariet i ca. 10 dage.

Hvis ikke der efter 10 dage er udviklet liglagen, skal man udelukke lys.

### Iagttagelser og resultater

Iagttag udviklingen i muddret, og notér dyrenes adfærd og udseendet af deres gange.

Undersøg og notér udstrækningen af den iltede zone (som regel fra godt en cm til få mm dyb).

Undersøg liglagenet evt. i mikroskop, sammenlign med figur 57, side 54 i bogen. Tegn beskriv eller fotografér liglagenet.

### Diskussion

Hvilken farve har muddret i dyrenes gange? Hvorfor?

Hvordan er iltforholdene hhv. i bunden og i vandet når der optræder liglagen?

Hvad kalder man denne situation?

Hvordan får *Beggiatoa* energi til sine livsprocesser?

Hvorfor er bakterien hvid?

Hvorfor kan det hjælpe på udvikling af liglagenet at udelukke lys fra akvariet?

Har et springlag betydning for udviklingen af iltsvind?

Forklar hvordan man kan nedsætte risikoen for udvikling af iltsvind i de danske farvande

## **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

## Eksperiment 9

### Forsøg med *Rhizobium* (side 64 i bogen)

#### Indledning

Bakterier af slægten *Rhizobium* laver nitrogenfiksering (kvælstofbinding) ( $N_2 \rightarrow NH_3$ ) og lever i symbiose med forskellige bælgplanter. Bakterierne befinder sig i knoldudvækster på roden af bælgplanten. Læs side 64 i bogen, og se figur 66 på samme side.

Symbiosen er ret artsspecifik. Det betyder at hver art af *Rhizobium* kun kan leve i symbiose med én eller få nærtbeslægtede arter af bælgplanter.

Bakteriernes binding af kvælstof er et godt supplement til plantens egen kvælstofoptagelse. Det betyder bl.a. at marker med bælgplanter (fx kløver, ært, lucerne og lupin) ikke behøver at blive gødet med kvælstof.

Man kan lave forsøg med bælgplanter og *Rhizobium*-bakterier. Lucernefrø med tilhørende *Rhizobium*-art kan man købe via Københavns Universitet, Biologisk Institut, Afd. for Mikrobiologi. Formular findes på fagkonsulentens hjemmeside under [www.emu.dk](http://www.emu.dk).

Man kan også selv isolere *Rhizobium* fra ærte- eller kløverplanter og købe de tilsvarende frø i en frøhandel.

#### Formål

At undersøge virkningen for en bælgplante af at leve i symbiose med bakterier af slægten *Rhizobium*. Evt. at undersøge betydningen af at gøde med kvælstof samtidig.

#### Materialer

Lucernefrø + *Rhizobium*-kultur

70 % etanol

Sterilt demineraliseret vand

Sterilt sand

4 (evt. flere) store reagensglas med 25 mL sterilt kvælstoffrit plantevækstmedie med agar og propper af vandskyende vat (1 g  $CaHPO_4$ , 0,2 g  $K_2HPO_4$ , 0,2 g  $MgSO_4$ , 2 mg  $FeSO_4$ , 1 mg  $Na_2MoO_4$ , 1 mg  $MnSO_4$ , 8,5 g agar, demineraliseret vand til 1 L).

Vedrørende sterilisering, se [eksperiment 14](#).

Hvis man selv vil isolere bakterier, skal der desuden bruges:

Petriskåle med sterilt *Rhizobium*vækstmedie (0,4 g Yeast extract, 10 g glukose, 10 g  $CaCO_3$ , 0,1 g  $K_2HPO_4$ , 0,75 g asparagin, 20 g agar, demineraliseret vand til 1 L).

Skalpel

Præparérnål

Etanol

Sterile pødepinde

Frø fra den art man isolerer bakterier fra

#### Metode

Man kan isolere og re dyrke *Rhizobium* fra en hvilken som helst bælgplante med rodknolde. Pil rodknolde af planten og dyp dem i 70 % etanol i 2 min. Flambér en præparérnål og en skalpel, se [eksperiment 14](#). Stik præparérnålen i knolden og skær den igennem med skalpellen. Skrab lidt af det midterste af rodknolden ud der hvor den lyserød, se figur 66 side 64 i bogen, og anbring det på en petriskål med et *Rhizobium*vækstmedie. Forsøg evt. at fordele skrabet på agarpladen med en steril pødepind. Gentag evt. med flere rodknolde.

Når der efter et par dage er fremkommet kolonier på agarpladen, udstryges én af disse på en ny agarplade.

#### Fremgangsmåde

Hæld ca. 10 mL sterilt sand ovenpå vækstmediet i hvert reagensglas. Lad glassene stå et par dage, så sandet kan suge vand fra agaren.



Sterilisér frøene ved at neddykke dem i 70 % etanol i 2 min. og skyld dem derefter med sterilt vand. Så 5 frø sterilt i hvert glas.

Udtynd sterilt til 2 spirer pr. glas når frøene er spiret.

Tilsæt efter et par uger nogle dråber opslæmmede *Rhizobium*-bakterier til to af glassene. De to øvrige glas er kontroller.

Brug evt. dobbelt så mange reagensglas og tilsæt nitratholdig gødning til halvdelen. Variér evt. med forskellige arter af enten *Rhizobium* eller af bælgplanter.

Opstil en hypotese der forklarer dine forventede resultater.

Studér glassene de næste 3-4 uger og vand efter behov med sterilt vand.

### **Iagttagelser og resultater**

Iagttag knolddannelse og planternes farver, og mål planternes længde et par gange om ugen.

Afbild væksten i de forskellige glas som funktion af tiden.

### **Diskussion**

Analyser dine iagttagelser, stemmer de overens med din hypotese?

Er der forskel på forsøgsplanternes og kontrolplanternes farve, rødder og vækst? Hvorfor/hvorfor ikke?

Hvorfor overfladesteriliserer man frø og rodknolde?

Hvorfor dyrker man planterne under sterile forhold?

Hvilke fejlkilder og usikkerheder kan der være ved fremgangsmåden?

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

# Eksperiment 10

## Undersøgelse af et mundhuleskrab (side 70 i bogen)

### Indledning

Hvis man laver et skrab på indersiden af kinden med en tandstikker eller lignende, kan man i mikroskop iagttage både sine egne celler og bakterieceller fra mundhulen. Humane celler er eukaryote celler der i opbygning minder om protozooceller, se side 26-28 og 31 i bogen. De humane celler er 10-100 gange større end bakterieceller der er prokaryote celler, se side 20-25 i bogen.

### Formål

At undersøge og sammenligne humane celler med bakterieceller.

### Materialer

Træpind (tand- eller tændstikker, engangspodepind)  
Engangspipette  
Bunsenbrænder  
Mikroskop + tilbehør, [se eksperiment 17](#)  
Methylenblåt (farver cellekerner)

### Fremgangsmåde

Skrab forsigtigt med en træpind på indersiden af kinden. Udrør skrabet i en dråbe vand på et objektglas. Lad præparatet tørre lidt, og fiksér derefter cellerne ved at føre objektglasset gennem flammen fra en bunsenbrænder.

Dryp nogle dråber methylenblåt på præparatet. Lad det stå 2 min. og skyl derefter forsigtigt med vand. Undgå at få farve på hud eller tøj. Brug evt. handsker og kittel.

Undersøg præparatet i mikroskop, [se eksperiment 17](#).

### Iagttagelser og resultater

Tegn eller fotografér de celler du ser.

Angiv cellemembran, cytoplasma og cellekerne på tegningen/fotoet af de humane celler.

Vurdér størrelsesforskellen mellem de humane celler og de bakterieceller du evt. ser.

Hvis det er muligt kan du tage stilling til bakteriernes form (kugle-, stav- eller skrueformede).

### Diskussion

Hvad er størrelsesforholdet mellem de humane celler og bakteriecellerne ca.?

Hvilke typer bakterier fandt du?

Hvor kommer bakterierne i menneskets mundhule fra?

Hvilke fordele og ulemper kan mennesket have af bakterier i mundhulen?

Hvad er forskellen på en prokaryot og en eukaryot celle?

Hvilken er udviklet først?

Ville det være en fordel for en bakteriecelle at være større?

### Konklusion

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

# Eksperiment 11

## Hæmning af bakterievækst (side 78 i bogen)

### Indledning

Svampe kan hæmme bakteriers vækst. Det skyldes at de indeholder stoffer der har antibiotisk virkning. Denne effekt blev i 1928 opdaget ved et tilfælde af den skotske læge Alexander Fleming, og hans forsøg er beskrevet på side 78 og vist på figur 82 på samme side i bogen.

Man kan selv forsøge at lave et tilsvarende forsøg. Bakteriekulturer og en kultur af *Penicillium*-svampen kan man købe via Københavns Universitet, Biologisk Institut, Afd. for Mikrobiologi. Formular findes på fagkonsulentens hjemmeside under [www.emu.dk](http://www.emu.dk).

### Formål

At hæmme bakterievækst ved hjælp af *Penicillium*-svamp m.m.

### Materialer

Agarplader med vækstmedium til bakterier, [se eksperiment 15](#)

Forskellige bakteriekulturer på agarplader

Kultur af *Penicillium*-art

Reagensglas med sterilt vand

Sterile engangspodepinde

Mikropipette med sterile spidser

Drigalskispatel

Etanol

Bunsenbrænder

### Fremgangsmåde

Opslæm et par bakteriekolonier af samme art i 10 mL sterilt vand ved hjælp af en engangspodepind.

Overfør 0,1 mL til et antal agarplader. Spred prøverne på pladerne med en flamberet drigalskispatel, [se eksperiment 14](#). Gør tilsvarende med andre arter af bakterier på andre agarplader.

Inkubér pladerne ved 20-30 °C, og notér efter nogle dage udseendet og antallet af kolonier på de enkelte plader.

Træk en steril podepind gennem et antal *Penicillium*-kolonier, og udstryg disse på midten af en agarplade med bakterievækst. Gentag, således at halvdelen af agarpladerne for hver bakterieart bliver podet med svamp på midten. Inkubér pladerne igen ved 20-30 °C indtil svampen er i god vækst.

### Iagttagelser og resultater

Notér hvilke arter af bakterier der er anvendt.

Gør notater om hvorvidt bakterierne nærmest svampen ændrer udseende eller ej, og i givet fald i hvor stor en afstand fra svampen bakterierne ændrer sig.

### Diskussion

Stemmer dine resultater overens med Flemings forsøg, side figur 82, side 78 i bogen?

Hvis ikke, forklar da hvad årsagen kan være.

Er der forskel på hvordan forskellige bakteriearter reagerer overfor svampen?

Prøv i givet fald at give en forklaring på denne forskel.

Hvilke fejlkilder og usikkerheder kan der være ved fremgangsmåden?

### Konklusion

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

### Supplerende forsøg

Prøv evt. at pode med en anden svamp, fx *Aspergillus*, som kan købes samme sted som de øvrige kulturer.

Prøv at lægge andre ting med kendt bakteriehæmmende virkning på midten af pladen, fx benzoesyre (Atamon), brun sæbe, et presset hvidløg.

## Eksperiment 12

**Undersøgelse af resistens hos bakterier** (side 79 og 89 i bogen)

### Indledning

Bakterier kan udvikle resistens mod antibiotika. Det har som beskrevet i bogen side 79-80, alvorlige konsekvenser i forbindelse med behandling af infektioner.

En simpel måde at undersøge resistens hos bakterier, er ved at inkubere dem på agarplader hvor man har placeret tabletter eller papirskiver (disks) der indeholder antibiotika. Antibiotika fra tabletterne/diskene vil ved diffusion sprede sig ud i agaren. Er bakterierne følsomme overfor en tablets antibiotikum, vil der dannes en zone uden om tabletten uden bakterievækst, en såkaldt hæmningszone. Er bakterierne resistente vokser de også lige rundt om tabletten. Metoden kalder man *agardiffusionsmetoden*.

Man kan også undersøge resistensudvikling hos bakterier ved at inkubere en antibiotikafølsom bakterie på agarplader hvor der er tilsat antibiotika til vækstmediet. Fremkommer der kolonier på pladen, har én eller flere af bakterierne fået en mutation som har gjort dem antibiotikaresistente.

Forskellige kulturer af bakterier kan man købe via Københavns Universitet, Biologisk Institut, Afd. for Mikrobiologi. Formular findes på fagkonsulentens hjemmeside under [www.emu.dk](http://www.emu.dk).

Under al arbejde med antibiotika skal man iføre sig kittel og handsker, og afvejning skal ske i stinkskaab eller med brug af støvmaske. Alle agarplader med antibiotika skal autoklaveres efter brug.

### Formål

At undersøge resistens og resistensudvikling hos bakterier

### Materialer (til et helt hold)

Antibiotikatabletter eller -disks (flere forskellige slags)

Antibiotika i pulverform (1-2 af samme slags som i tabletterne)

3 x 250 mL vækstmedium til bakterier med agar, [se eksperiment 15](#)

30 sterile petriskåle

Bakteriekultur på agarplade

Reagensglas med sterilt vand

Steril engangspodepind

Mikropipette med sterile spidser

Drigalskispatel

Etanol

Bunsenbrænder

### Fremgangsmåde

Forsøg 1:

Fremstil og autoklavér 250 mL vækstmedium til bakterier som beskrevet i [eksperiment 15](#). Fordel indholdet i ti petriskåle, og lad mediet størkne.

Opslæm et par bakteriekolonier i 10 mL sterilt vand ved hjælp af engangspodepinden. Overfør 0,1 mL til hver agarplade. Spred prøverne på pladerne med en flamberet drigalskispatel, [se eksperiment 14](#). Placer antibiotikatabletter/disks på agarpladerne. Notér hvilke der er placeret hvor.

Inkubér pladerne, og mål hæmningszonernes udbredelse efter nogle dage.

Forsøg 2:

Fremstil og autoklavér 2 x 250 mL vækstmedium til bakterier som beskrevet i [eksperiment 15](#). Tilsæt ca. 10 mg antibiotikapulver til den ene portion når den er håndlunken. Vælg et antibiotikum som bakterierne har vist tydelig følsomhed overfor ved agardiffusionsmetoden. Mærk ti petriskåle med ”+” og ti med ”-”, og fordel de to medier i skålene, således at den antibiotikaholdige portion kommer i skålene mærket ”+”. Lad mediet størkne.

Opslæm et par bakteriekolonier i 10 mL sterilt vand ved hjælp af engangspodepinden. Overfør 0,1 mL til hver agarplade. Spred prøverne på pladerne med en flamberet drigalskispatel, [se eksperiment 14](#).

Inkubér pladerne og notér efter nogle dage antallet af kolonier på de enkelte plader.

## **Iagttagelser og resultater**

Notér hvilken bakterieart du har arbejdet med.

Lav et skema hvor du noterer dine iagttagelser og resultater.

Lav til forsøg 1 et histogram over hæmningszonens udbredelse ved de forskellige antibiotika.

## **Diskussion**

Forsøg 1:

Var bakterierne lige følsomme for alle typer antibiotika på tabletterne/diskene?

Hvis nej, hvad kan det så skyldes?

Var der nogle tabletter/disks hvis antibiotikum bakterierne var resistente overfor?

Forsøg 2:

Var der vækst på de medier som var tilsat antibiotikum?

Hvis ja, hvad er så forklaringen?

Hvad er ideen med pladerne mærket med ”-”?

Forsøg 1 + 2:

Hvorfor er det et problem at bakterier udvikler resistens?

Hvorfor skal petriskålene autoklaveres inden de smides væk?

Hvilke fejlkilder og usikkerheder kan der være ved fremgangsmåden?

## **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

## **Eksperiment 13**

### **Transformation af bakterier og gærsvampe (side 81 og 94 i bogen)**

#### **Indledning**

Mikroorganismer kan optage fremmed DNA gennem cellemembranen. Ofte sker det ved hjælp af et plasmid, se figur 87 side 82 i bogen. Processen kalder man transformation, se side 81 i bogen.

Man kan lade samme proces foregå i et laboratorium evt. i forbindelse med gensplejsning, se side 93-94 i bogen.

Ved transformationen bliver mikroorganismen genmodificeret.

#### **Særlige forhold**

Når man arbejder med genmodificerede organismer, skal det foregå i klassificerede laboratorier, da man fra myndighedernes side er meget opmærksom på at organismene ikke må udgøre nogen risiko for mennesker og miljø, se side 104-105 i bogen.

I gymnasiet har man ikke klassificerede laboratorier. Alligevel er det ønskeligt at eleverne kommer til at arbejde med genteknologiske forsøg. Derfor har man i samarbejde med Arbejdstilsynet designet en række forsøg, som man mener det er forsvarligt at udføre i gymnasiet.

På hjemmesiden [www.risikomomenter.dk](http://www.risikomomenter.dk), kan man læse nærmere om de godkendte forsøg.

Bogen Eksperimentel genteknologi af Henning Agesen m.fl., Nucleus Forlag, indeholder de fleste af de godkendte forsøg, og forsøg I og J i denne bog omhandler hhv. transformation af *E. coli* og af gær. Der henvises derfor til denne bog.

Vær opmærksom på følgende:

- Der må kun anvendes organismer og plasmider der er købt gennem Bioneer A/S (tidl. Bioteknologisk Institut), Kogle Allé 2, 2970 Hørsholm, tlf. 45 16 04 44, fax 45 16 04 55.
- Eksperimenterne skal indberettes til Undervisningsministeriets Gymnasieafdeling (blanket under fagkonsulentens hjemmeside under [www.emu.dk](http://www.emu.dk))
- Læreren der er ansvarlig for eksperimenterne skal have gennemført ministeriets kompetencegivende kursus i genteknologi.
- Der skal arbejdes under skærpede laboratorieforhold som beskrevet på hjemmesiden [www.risikomomenter.dk](http://www.risikomomenter.dk)

# Eksperiment 14

## Steriliseringsteknikker (side 88 i bogen)

### Indledning

Når man arbejder med mikroorganismer, skal man som regel arbejde under så sterile forhold som muligt for at undgå vækst af uønskede og evt. sygdomsfremkaldende mikroorganismer. Det indebærer bl.a. at medier og udstyr skal steriliseres. Det bliver uddybet på side 87-89 i bogen, hvor der bl.a. står beskrevet en række steriliseringsteknikker. I det følgende vil den praktiske fremgangsmåde for de teknikker som bliver anvendt i forbindelse med bogens forsøg, blive beskrevet nærmere.

### Autoklavering

Autoklavering bruger man især til at sterilisere vækstmedier og vand. Man gør følgende:

- Fyld autoklaven med demineraliseret vand op til niveau med risten i bunden.
- Placér det som skal autoklaveres på risten. Kolber og andre glasbeholdere må ikke fyldes mere end 2/3 og må ikke være lukket lufttæt. Brug fx vandskyende vat dækket med aluminiumsfolie eller blot aluminiumsfolie som låg. Til reagensglas kan man evt. købe særlige metalhætter. Skruelåg kan man skrue løst på.
- Sæt låg på autoklaven så det slutter tæt. Åbn for ventilen. Evt. er der automatisk tryk- eller temperaturventil på autoklaven.
- Tænd for varmen.
- Luk ventilen når dampstrålen fra den er jævn, så indeholder autoklaven kun vandmættet luft. Evt. lukker ventilen selv.
- Regulér varmetilførslen således at temperaturen holder sig på 121 °C (eller trykket holder sig på 1 atmosfæres overtryk) i 20 min.
- Afbryd varmetilførslen, og vent med at åbne autoklaven til temperaturen er faldet til under 100 °C (eller trykket er faldet til under atmosfærisk tryk).
- Åbn ventilen, og fjern låget.

### Tørsterilisering

Tørsterilisering bruger man især til at sterilisere tørre genstande, fx sand, tomme glasbeholdere, pipetter, metaludstyr. Man gør følgende:

- Put sand i bægerglas med låg af aluminiumsfolie, brug aluminiumsfolie som låg til glaskolber o.l., indpak pipetter og metaludstyr o.l. i papir, anbring fx engangspodepinde i reagensglas med metalhætter.
- Placér genstandene i en ovn ved 160 °C i to timer eller 140 °C i tre timer.

### Glødning

Glødning bruger man til at sterilisere metalpodenåle. Man gør følgende:

- Anbring podedelen af podenålen i en flamme til den er rødglødende.
- Lad nålen afkøle inden den stikkes i en koloni.

### Flambering

Flambering bruger man til at sterilisere glaspinde, drigalskispotter, pincetter og skalpeller. Behandlingen fører ikke til sikker sterilitet. Man gør følgende:

- Dyp den ende af genstanden der skal steriliseres i 96 % etanol (alkohol) og før den derefter gennem en flamme.
- Vær opmærksom på at der ikke løber alkohol hen i den ende man holder om. Pas på ikke at sætte ild til beholderen med alkohol. Sluk ikke brændende alkohol med vand. Kvæl i stedet ilden med noget ikke-brændbart.



# Eksperiment 15

## Fremstilling af vækstmedier (side 89 i bogen)

### Indledning

For at dyrke mikroorganismer i et laboratorium må man have et vækstmedie, se side 89 i bogen. Et vækstmedie skal indeholde alle de grundstoffer som en mikroorganisme har brug for, i kemiske forbindelser som den kan udnytte. Desuden skal det have en pH-værdi som er passende for mikroorganismen.

Vækstmedier kan være flydende eller faste. Når de er faste, er de tilsat et geleringsmiddel, som regel agar.

I det følgende omtales både medier man kan købe færdige, og medier man selv kan fremstille. Selv om medierne er beregnet til vækst af enten bakterier eller svampe, trives specielt skimmelsvampe også udmærket på universalmedier beregnet på bakterier.

### Færdige medier:

PCA (Plate Count Agar), universalmedie for bakterier, pH = 7.

Indeholder pepton, glukose, gærekstrakt og agar.

Kødpeptonagar, universalmedie for bakterier, pH = 7.

Indeholder pepton, NaCl, kødekstrakt og agar.

Maltekstraktagar, universalmedie for gær- og skimmelsvampe, pH = 5,6 (virker hæmmende på bakterier).

Indeholder maltekstrakt og agar. (Man kan også selv fremstille dette medie, se nedenfor).

For alle tre medier gælder at de kan købes færdige. Som regel bliver de leveret i flasker som sterile faste medier. Disse skal smeltes i kogende vandbad eller i mikrobølgeovn. Husk at låget skal sidde løst. Efter smeltning hældes de op i sterile petriskåle.

### Opskrifter

LB (Luria-Bertani), universalmedie til bakterier, pH = 7

1 % pepton

0,5 % gærekstrakt

1 % NaCl

Evt. 1-2 % agar

Maltekstraktagar, universalmedie for gær- og skimmelsvampe, pH = 5,6 (virker hæmmende på bakterier).

0,7 % maltekstrakt

Evt. 1-2 % agar

### Fremgangsmåde

Afvej ingredienserne. Kun hvis mediet skal være fast tilsætter man agar.

Tilsæt derefter vand så vægt-volumenforholdet for ingredienserne passer.

Autoklavér mediet, [se eksperiment 14](#).

Afkøl mediet. Medier der er tilsat agar, skal afkøles til omkring 50 °C (håndlunken), inden de hældes op i sterile petriskåle. Derved risikerer man ikke at smelte petriskåle af plast, og der dannes desuden mindre kondensvand på indersiden af petriskålens låg.

Sterile medier har meget lang holdbarhed i køleskab.

200-250 mL medie passer til ti petriskåle.

# Eksperiment 16

## Isolering og dyrkning af mikroorganismer (side 90 i bogen)

### Indledning

Mikroorganismer finder man både i jord, luft, vand og på faste overflader, og de kan derfor isoleres fra mange lokaliteter. Ønsker man at dyrke eller rendyrke dem, sker det som regel enten i flydende medier i glaskolber eller på faste medier i petriskåle.

Ideer til at indsamle og dyrke mikroorganismer er beskrevet i bogen på side 90-91, og rendyrkning er beskrevet på side 99 i bogen og vist på figur 106 på samme side. Ukendte mikroorganismer må man ikke rendyrke i et almindeligt laboratorium, da man ikke ved om de er sygdomsfremkaldende.

Følgende eksperiment går ud på at indsamle mikroorganismer (bakterier og svampe) fra forskellige lokaliteter og derefter dyrke dem på et fast medium i petriskåle.

### Formål

At isolere og dyrke mikroorganismer på et fast medium

### Materialer

Petriskåle med fast vækstmedie, [se eksperiment 15](#)

Frisk jord

Vægt

Vand fra sø, å, dam eller hav.

Kogt afkølet (evt. sterilt) vand

8 reagensglas med prop eller låg

Sterile træpodepinde

Sterile engangspipetter eller mikropipette med sterile spidser

Drigalskispatel

Etanol

Bunsenbrænder

Parafilm eller malertape

### Fremgangsmåde

Mikroorganismer fra luften: Eksponér agarplader uden låg et stykke tid på forskellige lokaliteter. Forsegl agarpladerne med Parafilm eller malertape. Inkubér til der fremkommer vækst.

Mikroorganismer fra en fast overflade eller et levnedsmiddel: Skrab på overfladen med en steril podepind og stryg det ud på en agarplade. Evt. kan et stykke af et levnedsmiddel skrubes direkte på en agarplade og fjernes igen. Forsegl agarpladerne med Parafilm eller malertape. Inkubér til der fremkommer vækst.

Mikroorganismer fra jord eller vand: [Se eksperiment 3](#) (jord) eller indsaml prøve (vand). Overfør med steril pipette 0,1 mL prøve til en agarplade, og fordel den på pladen ved hjælp af en flamberet drigalskispatel, [se eksperiment 14](#). Forsegl agarpladerne med Parafilm eller malertape. Inkubér til der fremkommer vækst.

Inkubering kan fx foregå ved 20-35 °C. Prøv evt. med forskellige temperaturer til agarplader fra samme lokalitet.

### Iagttagelser og resultater

Tegn, fotografér eller beskriv de fremkomne mikroorganismer. Forsøg på grundlag af koloniernes udseende, farve og form, evt. ved hjælp af opslagsværker, at bestemme hvilken type bakterie eller svamp der er isoleret.

### Diskussion

Er der forskel på hvilke mikroorganismer der isoleret fra de forskellige lokaliteter?

Er der visse typer som går igen på alle plader?

Hvordan kan bakterier formere sig?

Hvordan kan svampe formere sig?

Hvorfor egner faste medier sig ikke til at isolere alger og protozoer?

Hvilke fejlkilder og usikkerheder kan der være ved fremgangsmåden?

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

# Eksperiment 17

## Fremstilling af præparat og brug af mikroskop (side 92 i bogen)

### Indledning

Hvis man vil undersøge udseendet af en mikroorganisme nærmere, kan man fremstille et præparat med den og undersøge det i mikroskop. På side 92 i bogen er nærmere beskrevet hvad et præparat er, og hvordan et mikroskop virker. Figur 98 på samme side viser opbygningen af et mikroskop. Nyere mikroskoper er indrettet således at okularerne alene forstørrer et objekt 10x. Derefter forstørrer objektiverne objektet yderligere 4 – 100x (forstørrelsen står på objektivet). Det betyder at man fx ved at se på et præparat gennem et 10x okular og et 4x objektiv får en forstørrelse på  $10 \times 4 = 40x$ .

Når man fremstiller et præparat, skal man bruge et *objektglas*, som er en ca. 1mm tyk glasplade med et areal på 2,5 x 7,5 cm<sup>2</sup>. Herpå anbringer man sit objekt, der er en prøve af det som skal undersøges nærmere, og evt. farver man objektet, [se eksperiment 18](#). Kun hvis prøven er våd, dækker man den med et *dækglas*, der er en lille glasplade på omkring 2 x 2 cm<sup>2</sup> med en tykkelse på kun 0,17 mm. Man har nu et mikroskopisk præparat.

Skal man undersøge præparatet ved en forstørrelse på 1000x bruger man som regel at lægge en dråbe olie oven på dækglasset som man så dypper det største objektiv i. (Obs! Objektivet skal være beregnet til det). Olien kalder man en immersionsolie, immersion betyder neddykning, og den bevirker at mikroskopet får en højere opløsningsevne end når lyset passerer fra præparat til objektiv via luft.

### Formål

At fremstille et mikroskopisk præparat og undersøge det i mikroskop

### Materialer

Fx agarplader med velkendte og harmløse mikroorganismer, vandprøver, høinfusion, jordprøver ([se eksperiment 3](#)), en pakke bagegær, mundhuleskrab ([se eksperiment 10](#)).

Evt. fysiologisk saltvand (0,9 % NaCl)

Mikroskop

Tilbehør: Linsepapir, etanol, objektglas, dækglas, engangspipetter, trækpapir, evt. immersionsolie

### Fremgangsmåde

#### Fremstilling af præparat:

1. Opslæm en koloni af en mikroorganisme fra en agarplade i et par mL fysiologisk saltvand eller blot hanevand. Opslæm en smule bagegær i 100 mL fysiologisk saltvand eller hanevand.

2. Overfør en dråbe til et objektglas. Dæk med et dækglas.

Fra vandprøver, høinfusioner og jordprøver ([se eksperiment 3](#)) overfører man en dråbe direkte til objektglasset og dækker derefter med dækglas.

Er der vand uden for dækglasset, kan det forsigtigt fjernes med trækpapir.

#### Mikroskopi:

1. Rens glas på okularer, objektiver og lyskilde med linsepapir og etanol.

2. Sænk objektbordet ved hjælp af grovskruen. Anbring præparatet på objektbordet sådan som man kan se at det er tænkt til at skulle sidde. Drej et af de mindste objektiver i stilling hen over objektbordet (det skal sige klik, når det sidder korrekt).

3. Hæv igen objektbordet til sin øverste stilling. Bevæg objektet der skal studeres ind i synsfeltet ved hjælp af de skruer der kan flytte præparatet. Sænk langsomt objektbordet med grovskruen, indtil objektet kan ses i synsfeltet. Stil skarpt på objektet med finskruen. Justér lysstyrken.

4. Forstør objektet ved at vælge et større objektiv, fx 40x (husk igen at det skal sige klik). Stil skarpt ved hjælp af finskruen. Justér lysstyrken. Brug evt. fasekontrast (spørg læreren).

5. Yderligere forstørrelse kræver evt. immersionsolie. Drej immersionsobjektivet lidt væk fra præparatet, og placér en lille dråbe immersionsolie på dækglasset. Undgå luftblærer i olien. Drej immersionsobjektivet (100x) ind over præparatet, så der er ubrudt kontakt mellem præparat, olie og objektiv. Stil skarpt på objektet med finskruen. Justér lysstyrken.

6. Rengør igen med linsepapir og etanol efter brug. Immersionsolien skal dog tørres af med linsepapir

inden man bruger etanol.

### **Iagttagelser og resultater**

Tegn, fotografér eller beskriv mikroorganismernes udseende med hensyn til form, farve og evt. bevægelsesmønstre.

Sammenlign deres udseende med mikroskopbilleder fra bogen.

Vurdér og sammenlign evt. deres størrelser med hinanden.

### **Diskussion**

Diskutér mikroorganismernes diversitet. Hvad kan deres forskellige udseender være en tilpasning til? Kom med forslag til hvilke overlevelsesmæssige fordele og/eller ulemper organismene har ved deres udseende og levevis.

Havde du problemer med at bruge mikroskopet? Prøv at analysere hvad der gik galt.

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

## **Eksperiment 18**

### **Farvning af præparater** (side 92 i bogen)

Det kan være ønskeligt at farve et mikroskopisk præparat, fx for at kunne se cellerne og visse cellebestanddele tydeligere, eller for at kunne adskille forskellige typer bakterier fra hinanden. Princippet i en farvning er at man anbringer lidt af en flydende kultur eller en opslæmmet koloni på et objektglas. Derefter fikserer man mikroorganismene ved kortvarigt at føre objektglasset gennem flammen fra en bunsenbrænder, hvorefter prøven er klar til farvning.

[Eksperiment 10](#) beskriver hvorledes man med methylenblåt farver en fikseret prøve, så man kan se cellebestanddelene tydeligere. Da især cellekerner farves tydeligt af methylenblåt, er farvemethoden velegnet til farvning af farveløse eukaryote celler.

[Eksperiment 4](#) viser hvordan man ved gramfarvning kan adskille grampositive og gramnegative bakterier fra hinanden. Desuden bevirker gramfarvning at man tydeligere kan se bakteriers form. Der findes også farvemethoder som kan farve sporene hos enten bakterier eller svampe, men disse omtales ikke nærmere her.

Ulempen ved at farve præparater er at cellerne skrumper ved varmfikseringen. Man kan derfor ikke vurdere en celles størrelse ud fra et farvet præparat, selv om det umiddelbart virker nemmere.

## **Eksperiment 19**

### **Ølbrygning** (side 98 i bogen)

Selv om fremstilling af øl i dag er en højteknologisk produktion der foregår på et bryggeri, er det stadig relativt nemt selv at fremstille øl. Princippet i ølbrygning er beskrevet på side 96-98 i bogen.

Der findes flere gode bøger på markedet om ølbrygning, men også en del hjemmesider. Fx forhandler firmaet Brygladen såvel udstyr som råvarer til ølbrygning. Man kan bestille via deres hjemmeside [www.brygladen.dk](http://www.brygladen.dk) hvor der også er opskrifter på forskellige typer øl.

# Eksperiment 20

## Forsøg med forskellige parringstyper af gær (side 100 i bogen)

### Indledning

Gærceller har en særlig livscyklus. De kan både vokse med et enkelt kromosomsæt (haploide celler) og med et dobbelt kromosomsæt (diploide celler). I begge tilfælde sker væksten ukønnet ved hjælp af mitose.

De haploide celler findes i to parringstyper  $a$  og  $\alpha$  (alfa), svarende til to køn. Mødes de to parringstyper, kan de haploide celler smelte sammen til en diploid celle som kan vokse ukønnet ved hjælp af mitose. De diploide celler kan også lave meiose og igen omdannes til haploide celler, der enten er parringstype  $a$  eller parringstype  $\alpha$ .

Gærs livscyklus er vist på figur 108, s 101 i bogen, og mitose og meiose er illustreret på hhv. figur 46, side 43, og figur 47, side 44.

Følgende eksperiment går ud på at parre to haploide gærstammer med hver sin parringstype. Begge stammer har defekte gener der bevirker at de ikke selv kan danne adenin. Syntese af adenin, der indgår i både DNA-, RNA- og ATP-molekyler, består af en række delprocesser der hver især er afhængige af bestemte enzymer.

Stammen M46 (parringstype  $\alpha$ ) ophober et rødt mellemprodukt i adeninsyntesen fordi den på grund af sit defekte gen mangler det enzym, som skal omdanne mellemproduktet videre. Kolonier af gærstammen er derfor røde i modsætning til almindelige gærkolonier, som er hvide.

Stammen CG52 (parringstype  $a$ ) kan godt omdanne det røde mellemprodukt til det næste mellemprodukt, som er farveløst. Men på grund af sit defekte gen, mangler den det enzym, som skal omdanne det farveløse mellemprodukt videre. Det farveløse produkt ophobes og det hæmmer derved også omdannelsen af det røde mellemprodukt. Slutresultatet bliver, at kolonier af stammen fremstår lyserøde.

Stammerne kan på grund af deres defekte gener kun vokse på et vækstmedium der indeholder adenin. Vi skal undersøge om man ved at krydse de to haploide stammer, kan få en diploid stamme som selv kan danne adenin. Det kan opnås hvis den enkelte stammes gendefekt undertrykkes af den anden stammes normale gen for den pågældende delproces af adeninsyntesen.

Begge haploide gærstammer er udviklet af Carlsberg Laboratorium og kan købes via lektor Claudia Girnth, Solrød Gymnasium.

### Formål

At krydse to gærstammer af forskellig parringstype og med hver sin defekt i adeninsyntesen, og se om de kan bringes til at vokse på et vækstmedium uden adenin.

### Materialer pr. gruppe

Gærkolonier af stammen M46 på YPD-medium (kompletmedium)

Gærkolonier af stammen CG52 på YPD-medium (kompletmedium)

Podenål

Bunsenbrænder

Petriskål med YNB-medium (mangelmedium)

Parafilm eller tape

Hvidt papir og tusch.

### Fremgangsmåde

1. Tegn et retvinklet kryds på et stykke papir, og læg petriskålen med mangelmedium oven på krydset.
2. Før podenålen gennem en gasflamme til den er glødende, og lad den afkøle igen.
3. Kør den sterile podenål gennem en koloni af stammen M46 (læg straks låg på igen), og pod på mangelmediet ved at følge den ene streg i krydset. Det er vigtigt at podenålen ikke skraber men derimod glider hen over vækstmediet.
4. Tag med samme podenål en smule mere af M46, og lav en parallel podning ca. 1 cm fra den første.
5. Gentag punkt 4, og luk derefter petriskålen.



6. Drej papir og petriskål 90°.
7. Sterilisér nu igen podenålen ved at føre den gennem gasflammen og afkøl igen.
8. Kør den sterile podenål gennem en koloni af stammen CG52, og pod langs den anden streg i krydset, således at stammen CG52 trækkes på tværs af stammen M46.
9. Gentag punkt 7 og 8 to gange, således at der bliver lavet to podninger parallelle til den første streg med CG52. Det er meget vigtigt at huske at sterilisere podenålen hver gang.
10. Luk petriskålen med Parafilm, vend bunden i vejret på den og skriv navne på.
11. Anbring petriskålen ved stuetemperatur en uges tid.

### **Iagttagelser og resultater**

Opstil en hypotese der kan forklare om eller hvor der sker vækst på din petriskål. Vis det som en skitse af din plade. Tag endvidere stilling til hvilken farve man kan forvente de evt. fremkomne gærkolonier vil have.

Sammenlign resultatet med din hypotese.

### **Diskussion**

Diskutér dine resultater og tag stilling til hvorfor de evt. afviger fra din hypotese. Inddrag fejlkilder i diskussionen.

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

### **Appendiks - Fremstilling af medier**

YPD-medium (kompletmedium) til ca. 24 små petriskåle som podes med enten M46 eller CG52.

Glukoseblanding: 4 g glukosemonohydrat, 4 g pepton (eller trypton) og 2 g yeast ekstrakt blandes med 100 mL vand i en blue cap flaske der rummer mindst 200 mL.

Agarblanding: 4 g agar blandes med 100 mL vand i en blue cap flaske der rummer mindst 200 mL.

YNB-medium (mangelmedium) til ca. 25 små petriskåle

Glukoseblanding: 4 g nitrogen base og 12 g glukosemonohydrat blandes med 300 mL vand i en 1000 mL blue cap flaske.

Agarblanding: 12 g agar opløses i 300 mL vand i en 500 mL blue cap flaske.

For begge medier gælder:

1. Autoklaver de to blandinger som beskrevet i [Eksperiment 14](#).
2. Hæld derefter agarblandingen forsigtigt og sterilt over i glukoseblandingen. Luk låget og vend flasken forsigtigt et par gange.
3. Hæld mediet ud i sterile petriskåle når det er afkølet så meget at man lige kan holde om flasken med en klud. Hæld blot så meget i hver petriskål at bunden dækkes.
4. Vend petriskålene med bunden i vejret når mediet er stift, og opbevar dem ved stuetemperatur indtil de skal anvendes.

# Eksperiment 21

## Undersøgelse af aktivitet af ektoenzym hos bakterie (side 102 i bogen)

### Indledning

For at kunne leve af komplekse stoffer som fx proteiner, stivelse eller cellulose, udskiller bakterier ektoenzymer som nedbryder disse højmolekylære stoffer til mindre molekyler, det vil sige til hhv. aminosyrer og glukose. Disse stoffer kan bakterierne optage gennem cellemembranen. Læs mere om ektoenzymer på side 102 i bogen.

Man kan undersøge hvilke ektoenzymer en bestemt bakterie har. Fx kan man overføre en bakterie til agarplader med vækstmedier med enten cellulose eller stivelse, og undersøge om de er stand til at nedbryde enten det ene eller begge kulhydrater. Kan de nedbryde cellulose udskiller de enzymet cellulase, mens de hvis de kan nedbryde stivelse, udskiller enzymet amylase.

Man kan prøve med flere forskellige bakteriearter, fx. *Bacillus subtilis* og *Cellulomonas sp.* Begge typer bakterier kan man købe via Københavns Universitet, Biologisk Institut, Afd. for Mikrobiologi. Formular findes på fagkonsulentens hjemmeside under [www.emu.dk](http://www.emu.dk).

### Formål

At undersøge amylase og cellulase aktivitet hos hhv. *Bacillus subtilis* og *Cellulomonas sp.*

### Materialer til 10 grupper

40 sterile petriskåle

500 mL næringsmedium med cellulose og agar (0,5 % carboxymethylcellulose (opløselig cellulose), 0,1 %  $\text{NaNO}_3$ , 0,1 %  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,1 %  $\text{KCl}$ , 0,05 %  $\text{MgSO}_4$ , 0,05 % gærekstrakt, 0,1 % glukose, 1,7 % agar).

500 mL næringsmedium med stivelse og agar (som det andet medium på nær at cellulosen erstattes med en tilsvarende mængde opløselig stivelse).

Sterilt vand

Sterile reagensglas

Sterile engangspipetter eller mikropipetter

Kulturer af bakterier

5 mm propbor

Evt. nål eller præparernål

Etanol

Bunsenbrænder

Congorød-opløsning (indikerer cellulose)

6 %  $\text{NaCl}$ -opløsning

Jod-jodkalium-opløsning (indikerer stivelse)

### Fremgangsmåde

Afvej ingredienserne til de to medier. Tilsæt derefter vand så vægt-volumenforholdet for ingredienserne passer. Autoklaver vækstmedierne, [se eksperiment 14](#).

Afkøl medierne til omkring 50 °C (håndlunken), inden de hver hældes op i 20 sterile petriskåle.

Flambér et propbor, [se eksperiment 14](#). Skær et hul i agaren i en petriskål, og fjern agarproppen (evt. med en nål eller præparernål). Lav to huller i hver agarplade, husk at flambere propboret hver gang.

Opslæm 5-6 kolonier af hver bakteriekultur i 5 mL sterilt vand i et sterilt reagensglas. Overfør med steril pipette 0,2 mL sterilt vand til det ene hul på petriskålen og en tilsvarende mængde omslæmmet bakteriekultur til det andet hul. Hver gruppe laver fire agarplader, således at hver bakteriekultur bliver podet på begge vækstmedier.

Inkubér pladerne i op til en uge. Søg oplysninger om de anvendte bakteriearter, og opstil en hypotese, hvor du forklarer hvilke resultater du forventer for de to arter.

Derefter dækkes pladerne med cellulose med en congorødt-opløsning. Lad det stå i 15 min. Affarv derefter pladerne med saltopløsningen i 10-15 min. Områder hvor cellulosen er nedbrudt, vil være ufarvede.

Dæk tilsvarende pladerne med stivelse med en jod-jodkalium-opløsning. Områder med stivelse vil farves

blåsorte, mens områder hvor stivelsen er nedbrudt til være orangegule.

### **Iagttagelser og resultater**

Hvis der er en hhv. ufarvet eller orangegul zone ved bakteriekulturene, mål da diameteren af denne zone, og notér den i et skema.

### **Diskussion**

Udviser nogle af bakterierne enten cellulase eller amylase aktivitet?

Stemmer resultaterne overens med din hypotese?

Hvis ikke hvad kan forklaringen være på det?

Hvilke fejlkilder og usikkerheder kan der være ved fremgangsmåden?

### **Konklusion**

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?

## **Eksperiment 22**

### **Fremstilling af ost** (side 107 i bogen)

Selv om fremstilling af ost i dag er en højteknologisk produktion der foregår på mejerier, er det stadig relativt nemt selv at fremstille forskellige typer ost. Princippet i fremstilling af ost er beskrevet på side 106-107 i bogen. Man kan fremstille stort set alle typer ost selv, og der findes utallige bøger om emnet. Firmaet Dansk Hjemmeproduktion forhandler alt hvad man kan ønske sig af udstyr og kulturer til fremstilling af ost, og på deres hjemmeside [www.hjemmeproduktion.dk](http://www.hjemmeproduktion.dk) kan man se hvad man kan få. Der følger opskrifter med udstyret.

En lille nem opskrift på fremstilling af fetaost, som ikke kræver noget særligt udstyr, kan man finde på følgende hjemmeside: [www.viby-gym.dk/kemi/Mejerikemi](http://www.viby-gym.dk/kemi/Mejerikemi) (Vælg ost2-filen).