

## Lærervejledning – Forsøg: Undersøgelse af forskellige probiotiske stammer

# Sundhedsfremmende bioaktiv kost

### Opbygning og tidsplan

1. Der skal plades prøver ud, som skal inkubere i 3-6 dage (afhængig af tidsplan) - ca. 1 time
2. Pladerne fra dag 1 undersøges, og der skal restryges fra disse plader, som skal inkubere 3-6 dage - ca. 1 time
3. Herefter skal der arbejdes 3 dage ret tæt på hinanden.  
Den første dag er kort (fra renstrygninger skal bakterien opformeres på plader) - ca. tre kvarter  
Efter 1-2 dage arbejdes der igen, denne gang lidt længere, (API strips skal forberedes) - ca. 1 - halvanden time  
Efter 2 dage skal resultaterne aflæses, hvilket tager kort tid - en halv time

### Grupper

Her er det bedst med grupper af 2. Grupperne med Cultura kan have 3-4 elever eller to meget entusiastiske, hurtige elever, da der skal arbejdes med to bakterier, og ikke kun én som i idoform og bifiform.

### 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

### Materialer:

70% ethanol

1 mL og 100  $\mu$ L pipettespidser

1,5 mL eller 2 mL eppendorfrør (omk. 40 pr. gruppe i M&H, omk. 10 pr. gruppe i UFPS)

0.9% NaCl

Petri-skåle

Til 33 pr. 3 grupper med hver sin prøve (bifiform, idoform og Cultura) + lidt ekstra

50 mL Falcon-rør

3 pr. gruppe + lidt ekstra

MRS-agar

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

33 pr. 3 grupper med hver sin prøve (bifiform, idoform og Cultura) + lidt ekstra

*Sterile podenåle*

*Sterile vatpinde*

*2 mL suspensioner (0.9% NaCl) 1 - 3 pr. gruppe*

*5 mL suspension (0.9% NaCl) 1 - 4 pr. gruppe*

*10 mL API 50 CHL medie fra bioMérieux REF 50 410 - 10x10mL. Én pr. gruppe (opskrift længere nede på API 50 CHL media men det anbefales at bestille mediet fra bioMérieux)*

*API 50 CH strip sæt fra bioMérieux REF 50 300 - 10 strips. Én pr. gruppe*

*Sterilt mineralsk olie (paraffinolie)*

*OD-måler*

### **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 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.

Til forsøget skal der forberedes 2 mL og 5 mL 0.9% NaCl suspensioner.

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