Surdej og mikroorganismer: Workshop om surdej for gymnasieelever

Forfattere: Emilie Skriver , Marie Damsbo-Svendsen, Bat-El Menadeva Karpantschof, Agnete Vestergaard
Redaktør: Ditte Jacqueline Rasmussen
Info: Undervisningsforløbet er lavet i samarbejde med Institut for Anvendt Økologi, NCSU. Det en oversættelse af materialet "Sourdough for Science", som er et Citizen Science-projekt. Projektet har til formål at undersøge, hvordan mikroorganismer påvirker surdejens hæve-egenskaberne og smag. Med tilladelse fra de oprindelige forfattere fra Sourdough for Science, anvender vi illustrationer af fremgangsmåden, hvormed surdejen laves, og videoerne: Welcome og Demo."

Introduktion:
I surdej bor der mange levende organismer, og de og deres metabolisme har stor betydning for, hvordan surdejen - og senere surdejsbrød - udvikler sig! Gær og mælkesyrebakterier er de to dominerende organismer i surdejen. Det er mikroorganismer, som har forskellige metabolisme, og derfor lever optimalt under forskellige omstændigheder. Forhold som temperatur og pH-værdi er såkaldte vækstfaktorer, som har stor betydning for tilstedeværelsen og formeringen af både mælkesyrebakterier og gær. I dette materiale gives inspiration til tre aktiviteter med fokus på surdej og mikroorganismer.

Aktivitet med dialogoplæg og billeder

I

Aktivitet 1: Lav din egen surdej

I denne indledende aktivitet skal eleverne lave surdej, som de skal undersøge i aktivitet 2 og 3.

Introduktion:

Introducér kort eleverne for Citizen Science-projektet "Sourdough for Science", ved at se videoen "Sourdough for Science Introduction" herunder (videoen er på engelsk og fortæller om Citizen Science-projektet "Sourdough for Science").

NORDEA FONDEN
Vi støtter gode liv

Surdejen som et selvstændigt økosystem:

Lav sammen med eleverne en liste over forskellige brødtyper, som de kender. Snak om forskellen på gærbrød og surdejsbrød. Der kan med fordel tales om, hvordan surdejen kan opfattes som et selvstændigt økosystem, og at dette er relevant at tale om i et naturvidenskabeligt perspektiv.

Lav en surdej:

1. Inddel eleverne i grupper af 2-3 elever.
2. Uddel en printet øvelsesvejledningen – et sæt pr. gruppe.
3. Gennemgå vejledningen med eleverne, så de har styr på fremgangsmåden: I skal tilsætte 2 spsk rugmel og 2 spsk vand til glasset og røre rundt. Rør godt rundt og skrab dejen ned fra glassets kanter med en ske.

Eleverne kan med fordel se videoen "Sourdough for Science: Demo" fra Sourdough For Science (den er på engelsk). Filmen viser, hvordan man laver og fodrer en surdej og måler højden og pH-værdien.

Hvis eleverne ønsker at lave surdej derhjemme skal de huske at fordre den. Det er vigtigt, at surdejene fodres ofte og opbevares ved stuetemperatur.

2

Aktivitet 2: Lær din surdej at kende

I denne aktivitet, skal eleverne fordre deres surdej med forskellige meltyper og efterfølgende undersøge deres surdej.

Introduktion:

Inden eleverne går igang med selve undersøgelsen af deres surdej, skal de klædes fagligt på til gennemføre øvelsen ved at bearbejde en fagtekst med tilhørende spørgsmål.

1. Inddel eleverne i grupper.
2. Uddel fagteksten: Surdej og mikroorganismer til hver elev. Bed først gruppen om at orientere sig i de tre indledende spørgsmål til teksten og drøfte, hvad de tror, svarene er.
3. Bed herefter grupperne om at læse teksten for at finde de korrekte svar til spørgsmålene.
4. Gennemgå svarene i plenum.

Undersøgelse af surdejen:

Nu skal eleverne lære deres surdej at kende. Gruppevis skal de fodre deres surdej med vand og mel og herefter observere mikroorganismerne heri ud fra surdejens højde og pH-værdi.

Hver gruppe får tildelt en meltype, som surdejen skal fodres med.



Foto: Surdej med forskellige meltyper

Materialer:

- 2 syltetøjsglas
- 200 g surdej
- Mel (skriv ned hvilken type du får)
- Vand
- Ske
- Lineal
- Tusser som kan skrive på glas (én per gruppe)
- pH-papir + farveskala
- Køkkenrulle, osteklæde eller lign.
- 2 elastikker
- Skriveredskaber

Øvelsesvejeldning:

Uddel og gennemgå øvelsesvejledningen til undersøgelse af surdej med eleverne, inden de går

igang med undersøgelsen af surdejen.

Opsamling:

I en opsamling kan I fokusere på, hvad I nu har lært om surdej, mikroorganismer og pH i aktiviteten.

3

Aktivitet 3: Koncentrationen af mikroorganismer i surdejen

I denne aktivitet skal eleverne udforske mikrobiologien i en surdej gennem dyrkning af kulturer på agarplader. Eleverne undersøger surdejens mikroflora, samt beregner bakteriekoncentrationen ved hjælp af kimtal observeret på pladerne.

Introduktion:

Eleverne arbejder gruppevis. Øvelsesvejledningen deles ud til hver gruppe. Vær opmærksom på, at undervisningen strækker sig over flere dage, og at der tages udgangspunkt i, at eleverne har lavet en surdej.

Til øvelsen bruges et basis vækstmedie, der tillader alle bakterier i surdejen at vokse frem. Det giver således en visualisering af, hvor levende surdejen er. Mediet kaldes Plate Count Agar (PCA). Indkøb derfor petriskåle med PCA-agar. Der skal være tre petriskåle til hver gruppe.

- *PCA (plate count agar) er et vækstmedie bestående af pepton, gærekstrakt (indholdet af gærceller uden membran), glucose og agar. Det er ikke et selektivt medium.*

Det er desuden vigtigt at sikre sig, at der er plads i et varmeskab ved 37°C i 48 timer – derefter skal agarpladerne kunne sættes på køl til næste øvelsesdag.

Øvrige materialer:

- Surdej (se aktivitet 1)
- 2 måleglas 100 ml
- 6 måleglas 10 ml
- Demineraliseret vand
- Filter
- 3 petriskåle med PCA per gruppe
- Pode-nål eller 3 engangspode-nåle
- Bunsenbrænder (hvis pode-nålene ikke er engangsredskaber)

Første øvelsesdag:

1. Bed eleverne om at genlæse afsnittet "Laboratoriesikkerhed" i fagteksten Surdej og mikroorganismer, inden de går igang og besvare de tilhørende spørgsmål.
2. Fodel surdel og vækstmedier til hver gruppe og bed dem om at finde de øvrige materialer frem.
3. Eleverne laver gruppevis en fortyndingsrække (se øvelsesvejledningen til aktivitet 3). Sørg for at bruge en ren pipette til at overføre en prøve fra den største til den mindste fortynding.
4. Derefeter overføres tre prøver (10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}) til vækstmedier.
5. Inkuber medierne ved 30°C i to døgn.

Næste øvelsesgang:

1. Databehandling og resultatbehandling (se fremgangsmåde og spørgsmål på side 2 i øvelsesvejledningen).

Opsamling:

I en fælles opsamling kan I fokusere på, hvad I har lært om mikrobiologien i en surdej. Hvad har I lært om mikroflora og om berening af bakteriekoncentration? Hvad kan I bruge denne viden til fremadrettet?

Forberedelser

Noter til læreren:

OBS: hvis du ønsker det, kan din klasse deltage i Citizen Science-projektet "Sourdough for Science". Hvis I ønkser at deltage, kan I se en mere deltaljerert udholdelse af, hvad det kræver og hvordan i deltager, i det fulde forløb fra erhvervsskolerne. Du finder det fulde forløb her.

Forbered de tre aktiviteter ved at anskaffe materialer og ingredienser, som fremgår af øvelsesvejledningerne. Print øvelsesvejedninger og fagteksten Surdej og mikroorganismer til eleverne.

Gør desuden video-fremviseren klar, og sørg for, at der er lyd på, hvis du afspiller introduktionsvideoerne for eleverne.

Læringsmål

Materialet kan understøtte arbejdet med følgende kompetenceområder:

- Eksperimentel metode: Celledyrkning
- Økologi: Samspil mellem arter og mellem arter og deres omgivende miljø
- Mikrobiologi: Vækst og vækstfaktorer

Aktiviteten kan understøtte arbejdet med følgende mål:

- eleven kan analysere og diskutere data fra eksperimenter og undersøgelser med inddragelse af faglig viden, fejlkilder, usikkerhed og biologisk variation.
- eleven kan anvende fagbegreber, fagsprog, relevante repræsentationer og modeller til beskrivelse og forklaring af iagttagelser og til analyse af biologiske problemstillinger

Uddybende

Surdej:

En surdej laves af mel og vand, og består af gærsvampe og mælkesyrebakterier.

Mælkesyrebakterierne fermenterer stivelsen i melet og producerer mælkesyre, alkohol og kuldioxid, som er det, der giver surdejen en sur lugt og smag, og samtidig gør, at en surdej kan hæve en brøddej. Surdejen bidrager til den karakteristiske surdejssmag. Brød bagt på surdej har en længere holdbarhed end brød uden surdej i. Det skyldes det sure miljø, som mælkesyrebakterierne producerer, gør at andre bakterier ikke kan vokse i det.

Surdejen vokser bedst ved stuetemperatur, fordi mikroorganismerne her har deres optimale vækstforhold. Hvis surdejen sættes på køl, vil væksten bremses, hvilket kan være en fordel, hvis ikke man har mulighed for at 'fodre' surdejen hver dag.

Surdejen kan få et lag af væske på toppen, som er et tegn på, at den er 'sulten'. Væsken indeholder alkohol, og stammer fra mikroorganismerne, som er løbet tør for stivelse. Fjern blot væsken, når surdejen fodres.

Kopiark

Kopiark:
ElevarkAktivitet 1_Lav din egen surdej_Øvelsesvejledningplus dataskema.pdf
Øvelsesvejledning til aktivitet 2.pdf
Fagtekst til aktivitet 2.pdf
Øvelsesvejledning til aktivitet 3.pdf

Øvelsesvejledning

Formålet med denne øvelse er, at du skal lave din egen surdej. Du skal lave den af vand og rugmel.

Du skal bruge:

- Syltetøjsglas
- Rugmel
- Vand
- Ske
- Køkkenrulle, osteklæde eller lign. til at sætte oven på syltetøjsglasset
- Elastik

Fremgangsmåde:

Trin 1: Lav din surdej

- Kom 2 spsk. rugmel i dit syltetøjsglas
- Tilsæt 2 spsk. vand
- Rør godt rundt i blandingen og sørg for, at der ikke sidder rester af mel på siden af glasset. Du kan bruge skeen til at få surdejen ned fra kanterne



Trin 2: Oprydning og opbevaring

- Når du er færdig med at blande din surdej, skal du fastgøre et stykke køkkenrulle eller klæde omkring toppen af dit syltetøjsglas, så køkkenrulle/klæde sidder fast som et låg
- Rengør alle brugte materialer

OBS: Hvis du ønsker at gemme din surdej skal du opbevar den et sikkert sted uden direkte sollys. Spørg din lærer, for at få udlevere en vejledning til hvordan du holder din surdej i live.



NORDEA FONDEN
Vi støtter gode liv

Øvelsesvejledning: Undersøgelse af surdej

I denne øvelse skal I fodre jeres surdej med vand og mel og herefter observere mikroorganismerne heri ud fra surdejens højde og pH-værdi.
Hver gruppe får tildelt en meltype, som surdejen skal fodres med.

Materialer:

- 2 syltetøjsglas
- 200 g surdej
- Mel (skriv ned hvilken type du får)
- Vand
- Ske
- Lineal
- Tusser som kan skrive på glas (én per gruppe)
- pH-papir + farveskala
- Køkkenrulle, osteklæde eller lign.
- 2 elastikker
- Skriveredskaber

Fremgangsmåde:

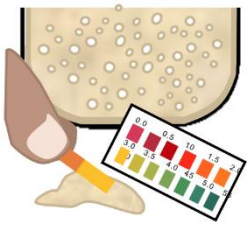


Øvelsen forløber over flere timer.

1. Afvej 200 g surdej i et glas.
2. Tilføj 20 g mel.
3. Tilføj 20 g vand.
4. Rør godt rundt i blandingen og sørg for, at der ikke sidder rester af mel på siden af glasset.
5. Del nu blandingen i to syltetøjsglas, og dæk glasset med et klæde eller et stykke køkkenrulle samt en elastik. Skriv din meltype på glasset og hhv. 'Køl' og 'Bord' på hvert glas.
6. Notér dejens højde og pH-værdi i datatabellen. Dette er måling til tiden 0.
7. Stil det ene glas i køleskab og det andet på et bord ved stuetemperatur.
8. I de næste 6-8 timer måles og noteres pH-værdien og højden af hver surdej hver halve time. Inden pH-værdien måles, blandes dejen en smule rundt.







NORDEA FONDEN
Vi støtter gode liv

Datatabel

Husk at måle og notere resultater både fra din surdej i køleskab, og din surdej på køkkenbordet.

Noter meltype:

Tid (timer)	Højde (cm)	pH efter blanding, før fodring	Andre observationer f.eks. farve, tilstedeværelse af væske, lugt
0	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
0,5	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
1,0	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
1,5	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
2,0	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
2,5	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
3,0	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:

3,5	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
4,0	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
4,5	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
5,0	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
5,5	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
6,0	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
6,5	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
7,0	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:
7,5	Køl: Bord:	Køl: Bord:	Køl: Bord:

Resultatbehandling

For at kunne fortolke øvelsens resultater, plottes både pH-værdier og højde for hhv. surdejen i køleskab og ved stuetemperatur, som funktion af tiden i f.eks. Excel. Med udgangspunkt i dine to grafer, besvares følgende spørgsmål:

1. Beskriv resultaterne af jeres grafer.
2. Beskriv surdejens indhold af mælkesyrebakterier ud fra jeres grafer, og forklar hvad der sker med mælkesyrebakterierne fra surdejen er fodret og frem.
3. Beskriv surdejens indhold af gær ud fra jeres grafer, og forklar hvad der sker med gæren fra surdejen er fodret og frem.
4. Sammenlign udviklingen af hhv. højde og pH-værdi ved de to forskellige temperaturer med hinanden. Har hhv. gær- og mælkesyrebakterier optimumtemperatur ved køleskabstemperatur eller ved stuetemperatur?
5. Hvad ville I forvente der ville ske med jeres surdej, hvis I fortsatte målingerne? Vil væksten hæmmes på et tidspunkt og vil I selv kunne hæmme væksten?
6. Hvilke omstændigheder er det bedst at fermentere din brøddej under, når du bruger surdej?
7. Stemte plottet overens med den graf, der blev lavet før øvelsen? Hvorfor/hvorfor ikke?

Sammenlign jeres resultater med hinanden. Dette kan f.eks. gøres ved at finde en værdi for den maksimale højde og pH og sammenligne dette resultat. Besvar herudfra følgende:

8. Hvilken meltype gav de højeste målinger for hhv. pH-værdi og højde. Hvilken gav de laveste?
9. Hvorfor giver meltyperne forskellige resultater?

Spørgsmål til forsøgsdesignet:

10. Er forsøget optimalt opstillet? Forklar fordele og ulemper ved forsøgsopstillingen.
11. Nogle mælkesyrebakterier producerer - udover mælkesyre - også CO_2. Hvad betydning har denne oplysning på resultaternes validitet?

Spørgsmål

1. Hvad kan en ændring af pH-værdien i din surdej være et udtryk for?
2. Hvad kan en ændring af surdejens højde være et udtryk for?
3. Tegn en kurve over hhv. den forventede pH-værdi og højde af din surdej som funktion af tiden.

Fagtekst: Surdej og mikroorganismer

I din surdej bor mange levende organismer, og de og deres metabolisme har stor betydning for, hvordan din surdej - og senere surdejsbrød - udvikler sig! Gær og mælkesyrebakterier er de to dominerende organismer i surdejen. Det er mikroorganismer, som har forskellige metabolisme, og derfor lever optimalt under forskellige omstændigheder. Forhold som temperatur og pH-værdi er såkaldte vækstfaktorer, som har stor betydning for tilstedeværelsen og formeringen af både mælkesyrebakterier og gær.

Surdej og mikroorganismer
En surdej består af mange forskellige mikroorganismer, som lever i konkurrence, interaktion og symbiose med hinanden. De vigtigste af disse mikroorganismer er gær og mælkesyrebakterier.

Gær og mælkesyrebakterier er encellede organismer, som reproduceres ved ukønnet formering. Gærcellerne får deres energi til formering ved at nedbryde glukose og andre kulhydrater som sukrose, maltose og raffinose. Som produkt udskiller de **ethanol** (alkohol) og CO_2. Gærcellers metabolisme udnyttes bl.a. i fremstillingen af en række alkoholiske drikke som øl og vin.

Mælkesyrebakterier dækker over en gruppe af bakterier, som har det til fælles, at de får deres energi ved at fermentere kulhydrater og udskille mælkesyre. Gruppen af mælkesyrebakterier kan inddeles i homofermentative, som ved nedbrydning af glukose udskiller laktat, samt de heterofermentative, som udskiller både laktat, ethanol og CO_2. Når mælkesyrebakterierne udskiller mælkesyre, vil pH-værdien i omgivelserne reduceres, hvilket hæmmer væksten af andre mikroorganismer, hvorfor mælkesyrebakterier har en positiv virkning på holdbarheden af mange fødevarer. Mælkesyrebakterier kender vi fra bl.a. produktionen af syrnede mælkeprodukter samt fermenteret pølse og skinke.

Mikroorganismers vækst
Mikroorganismers vækst er afhængig af en række vækstfaktorer. Under de rette betingelser, vil en bakteriekultur udvikle sig i fire faser (se figur 1): *Lagfasen*, hvor bakterierne og gør sig klar til celledeling. *Den eksponentielle fase*, hvor bakterierne deler sig. Denne fase slutter enten når næringsstofferne begynder at slippe op, eller når bakteriernes affaldsprodukter er i en koncentration, som hæmmer deres egen vækst. Herefter indtræder *den stationære fase*, hvor der dør lige så mange bakterier, som der dannes i celledelingen, hvormed cellekulturen ikke bliver større. Hvis der ikke længere er næringsstoffer til stede, eller der sker drastiske forandringer i miljøet f.eks. temperatur-ændringer, indtræder *dødsfasen*.

Udover koncentrationen af næring og mikroorganismernes egne affaldsstoffer, vil deres vækst også afhænge af miljømæssige faktorer f pH og temperatur.

Overordnet stiger mikroorganismers vækst moderate temperaturer. Molekylernes bevægelseshastighed er større ved moderate temperaturer, og organismernes forskellige enzymer, som er essentielle for deres vækst, vil i højere grad møde det tilhørende substrat. Stigningen i vækshastighed i forhold til temperatur gælder dog kun til et vist punkt, hvorefter organismernes enzymer denaturerer. Alle mikroorganismer kan karakteriseres ud fra en minimum-, optimum- og maksimumtemperatur. Det vil sige, at de har et temperaturinterval, hvori de kan vokse, og herunder en optimal temperatur, hvor deres vækst er størst. Mikroorganismernes optimaltemperatur afhænger ofte af, hvilket miljø, de lever i, fordi de har tilpasset sig deres omgivelser. F har de fleste mikroorganismer i vores krop en optimumtemperatur på omkring 37°C.

Mikroorganismerne er - på samme måde som temperaturen - også afhængige af omgivelsernes pH-værdi.

Eksponentiel vækst og generationstid

Bakteriers formering minder om celledeling via mitose i eukaryote celler. Siden bakterier ingen cellekerne har og normalt er haploide, bliver celledelingen mere "simpel". Ved mitose skal flere stavformede kromosomer først kopieres ved DNA-replikation for dernæst at blive korrekt fordelt mellem de to datterceller. Ved bakteriel celledeling bliver bakteriens ene cirkelformede kromosom kopieret ved replikationsstedet. De to identiske kromosomer bliver fordelt i hver sin ende af cellen. Cellen bliver delt på midten og danner derved to nye bakterier. De to bakterier er nu klar til at repetere cyklussen, hvorfor bakteriernes antal øges eksponentielt.
Eksponentiel vækst hos bakterier kan beskrives matematisk ved denne formel:

$$N_t = N_0 * 2^t$$

Hvor N_t er antallet af bakterier til tiden t. N_0 er antallet af bakterier til tiden 0, altså fra start. t_d er bakteriens genereringstid, altså den tid det tager bakteriekulturen at fordoble sig.

Genereringstiden er et udtryk for den tid, en given bakterie bruger på at dele sig. Når bakteriens vækst er ubegrænset, vil hastigheden have en konstant rate, hvorfor antallet af bakterier vil være fordoblet ved hver generation.

Genertiden for mælkesyrebakterier kan variere fra 25 til omkring 100 minutter, mens gærceller har en generationstid på omkring 90 min. Det betyder at antallet af mælkesyrebakterier og gærsvampe i en surdej potentielt k fordobles efter halvanden time.

Rendyrkning, pladeudspredning og vækstmedier

Et af de vigtigste redskaber inden for mikrobiologi er dyrkning og identifikation af bakteriekulturer. Til dyrkning af bakterier forbereder man et

Surdejsbrød

Mælkesyrebakteriernes tilstedeværelse i en fødevare vil som beskrevet resultere i et fald i pH pga. udskillelsen af mælkesyre. Udover at forlænge holdbarheden af surdejsprodukter, vil det sure miljø også sikre en større tilgængelighed af vitaminerne i surdejsbrød sammenlignet med almindeligt brød. Korns mineraler er i mel bundet til fytinsyre, som tilsammen danner fytat. Mineralerne bliver først tilgængelige, når fosfatgrupperne spaltes fra vha. enzymer, som sørger for denne nedbrydning har pH-optimum omkring 6, hvorfor det ikke sker i kroppen, men derimod i dejen til surdejsbrød.

substrat med en passende blanding af næringsstoffer, som mikroorganismerne kan leve af og formere sig i.
Substratet blandes med agar, som bliver fast som gelé, og støbes typisk i en petriskål. Dette er mikroorganismernes vækstmedie. Pladen anvendes til at tælle "kim", altså kolonier, der vokser på mediet. Hvis mediet er tilsat stoffer, som kun tillader specifikke bakterier at vokse, har man benyttet et *selektivt princip*, idet andre kulturer ikke vokser frem og kan "forstyrre" kimtællingen. Tilsættes stoffer, der udnytter en bakteries stofomsætning og giver kolonien eller dens omgivelser et specifikt udseende, form eller farve, kaldes et *indikativ princip*.

Ved at tælle kolonier og tage højde for fortyndingen, kan koncentrationen af bakterier beregnes:

$$Koncentration = \frac{kolonier}{fortyndingsfaktoren}$$

Finder man en plade med fortyndingsfaktoren 10^{-4} (1:10.000) med 49 kolonier beregnes koncentrationen:

$$\frac{49}{10^{-4}} = 490000\,\frac{bakterier}{mL}$$

Er der flere af pladerne, der indeholder mellem 25 og 250 kolonier, så adderes koncentrationerne.

Laboratoriesikkerhed:
Denne øvelse handler ikke om sygdomsfremkaldende bakterier. Alligevel er der altid en risiko for at opformere sygdomsfremkaldende bakterier sammen med ønskede bakterier. Derfor skal man tage ekstra forholdsregler ud over sædvanlig god opførsel i et laboratorium:

- Bær kittel
- Spis eller drik ikke i laboratoriet
- Hold orden på arbejdsbordet
- Hold god hygiejne, vask hænder, rengør og desinficér bordet og redskaber grundigt efter øvelser
- Hvis der spildes prøver med mikroorganismer, skal kontaminerede steder rengøres og desinficeres
- Spørg din øvelseslærer hvor brugte engangsredskaber og petriskåle skal smides ud

Spørgsmål

- Hvorfor er det fornuftigt at skifte pipette ved hver fortynding?
- Hvorfor spiser eller drikker man ikke i et mikrobiologisk laboratorie?

Øvelsesvejledning: Koncentrationen af mikroorganismer i surdejen

Genlæs først afsnittet "Laborietoriesikkerhed" i fagteksten om surdej og mikroorganismer.

Materialer:

- Surdej
- 2 måleglas 100 ml
- 6 måleglas 10 ml
- Demineraliseret vand
- Filter
- 3 petriskåle med PCA per gruppe
- Pode-nål eller 3 engangspode-nåle
- Bunsenbrænder (hvis pode-nålene ikke er engangsredskaber)

Fremgangsmåde (fortyndingsrække):

- Overfør 10 ml surdej til et måleglas.
- Tilføj demineraliseret vand til 100 ml-stregen er nået (dette er en 10^{-1} fortynding).
- Omryst og filtrér fortyndingen.
- Overfør 1 ml af den filtrede 10^{-1} fortynding til et nyt måleglas.
- Tilføj 9 ml demineraliseret vand til fortyndingen (10^{-2} fortynding).
- Omryst.
- Fortsæt fortyndingsrækken (1 ml fortynding til 9 ml demineraliseret vand) til en fortynding på 10^{-7} er nået.

Fremgangsmåde (udpladning):

- 1 ml prøve fra fortynding 10^{-5} overføres med pipette til agarpladen.
- Brug pode-nålen til strygning af fortyndingen over pladen (se figur 2).
- Gentag proceduren med fortynding 10^{-6} og 10^{-7} (husk at brænde pode-nålen, hvis det ikke er et engangsredskab).
- Opbevar pladerne ved 30°C i 48 timer. Derefter sættes pladerne på køl til næste undervisningstime.



Figur: Udstrygning på vækstmedie.

Næste undervisningstime: Databehandling

- Tæl antallet af kolonier på hver plade. Udvælg den/de plade(r) som indeholder mellem 25 og 250 kolonier.
- Beregn koncentrationen af mikroorganismer i prøven.

Resultatbehandling:

- Sammenlign jeres beregninger med de andre grupper. Har I de samme koncentrationer? Hvis ikke, hvad kan det skyldes?

- Hvad kunne man gøre ved vækstmediet, hvis man ønskede at fremme væksten af gærsvampe? Er det et selektivt eller indikativt princip der benyttes?

- Er dette forsøg kvantitativt eller kvalitativt? Hvorfor?

- Har forsøget nogle fejlkilder?

- Hvordan ville du med samme forsøgsopstilling kunne undersøge vækstbetingelsernes indflydelse på surdejens organismer?