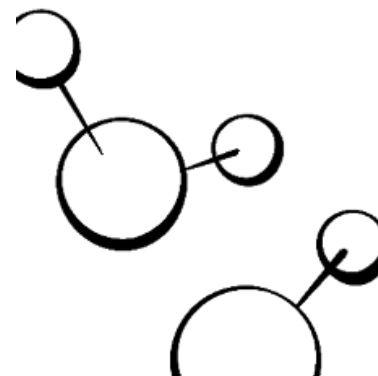


Køkkenhygiejne

Når man har kød i køkkenet, er det vigtigt at opbevaringen er hygiejnisk. Man skal ikke lade det ligge for længe i køleskab eller ved stuetemperatur, og man skal ikke genindfryse det, når det er tøet op. Eller tabe det på gulvet. Men hvad er i virkeligheden værst? Det vil vi undersøge i dette eksperiment.



Materialer

200 µL pipette
Multipipette
6 Eppendorfrør
Stativ til eppendorfrør
Drigalskispatel
100 mL bægerglas

Spritskriver
Malertape
Flydende vækstmedium (LB-medium: 1 % trypton, 1 % salt, 0,5 % gærekstrakt, steril)

Agarplader (LB-medium med 2 % agar, steril)
Ethanol(I)
Svinekotelet

Fremgangsmåde

Sikkerhed

1. Da du ikke kan vide hvilke mikroorganismer, der er dyrket, er det vigtigt, at låget på agarpladen er på så meget som muligt. Efter endt undersøgelse skal agarpladerne autoklaveres. Sørg også for at vaske hænderne grundigt.

Forbered

2. Skær en kotelet i 6 lige store stykker, put dem i plastposer og markér dem 1-6.
3. Nr. 1 tages på gulvet og nr. 2 begrebses med uvaskede hænder.
4. Alle poserne lægges i fryseren.
5. Støb agarplader efter opskriften. 1 L medium er nok til 40 store agarplader.
6. Når de er afkølede og stivnede, vendes de med bunden opad, tapes sammen med malertape og sættes i køleskabet.
7. Lav 10 mL vækstmedium i en lille glasflaske med låg. Flasken sættes i autoklaven, så den kan steriliseres.

Optø

8. De fire koteletstykker optøs som følger:
 - Nr. 1-3 tages op af fryseren dagen før eksperimentet og lægges i køleskab
 - Nr. 4 tages op af fryseren 4 dage før eksperimentet og lægges i køleskab
 - Nr. 5 tages op af fryseren dagen før eksperimentet og lægges ved stuetemperatur
 - Nr. 6 tages op af fryseren og lægges i køleskabet 2 gange inden eksperimentet og lægges retur i fryseren dagen efter. Tages op en tredje gang dagen inden eksperimentet og lægges i køleskab

Fortynd

9. Sæt 6 eppendorfrør i et stativ.
10. Fyld 900 µL sterilt LB-medium i alle rør.
11. Overfør 100 µL tøet kødsaft fra en af poserne med koteletstykke i rør nr. 1. Sug op og spul ud et par gange for at blande og rengøre pipettespiden.
12. Overfør 100 µL af fortyndingen fra rør 1 til rør 2 og gentag proceduren.
13. Fortsæt til du har lavet fortyndinger i alle 6 rør.
14. De 5 andre koteletstykker behandles på samme måde, men det er der nok andre i klassen, der tager sig af.

- Udstryg
15. Hæld lidt ethanol i et lille bægerglas og sæt drigalskispatten i glasset.
 16. Tænd spritbrænderen i god afstand fra ethanolglasset.
 17. Find 6 agarplader og overfør 200 μ L fra hvert rør til hver sin plade.
 18. Dyp drigalskispatten i ethanol, tag den op og antænd den i spritflammen i god afstand fra ethanolglasset. Afkøl den lidt i luften.
 19. Udstryg den største fortynding på hele agarpladen. Kom godt rundt i kanten.
 20. Gentag med de andre fortyndinger med de tyndeste prøver først.
 21. Markér alle agarplader i bunden med holdnavn og hvad der er på pladen.
 22. Læg alle plader med bunden i vejret i varmeskab ved 37 °C i et døgn.
- Hypotese
23. Hvilket af de fire koteletstykker forventer I er mest ulækker? Og hvilket nr. 2, 3, 4, 5 og 6? Hvorfor?
- Optæl
24. Tæl antal bakteriekolonier på hver plade, der kun har adskilte kolonier. Hvis der dannes sammenhængende plamager, kan du ikke tælle.
 25. Beregn for samtlige plader, hvor du kan tælle kolonier, antal bakterier pr. mL kødsaft. Du får sikkert ikke det samme tal for alle plader – så må du træffe et valg om, hvad du gør med tallene.
- Efterbehandling
1. Hvorfor udstryger du de mest fortyndede prøver først?
 2. Hvorfor skriver man på bunden af pladerne, og hvorfor lægger man dem med bunden opad i varmeskabet?
 3. Anfør beregninger for alle plader.
 4. Blev jeres hypotese opfyldt? Hvis ikke, hvad kan være en forklaring?