THORKILD STEENBERG
BIOLOGI
KOMPENDIUM

B I O L O G I

Ung tudse

BIND III
SMÅFORSØG

Indhold

Mikroskopering af celletyper:

1	*Mundslimhindeceller*	*side 3*
2	*Vandpestblade*	*side 7*
3	*Bakterier*	*side 9*
4	*Infusionsdyr*	*side 11*

Fysiologi:

1	*Sachs's jodprøve*	*side 14*
2	*Fluorescens af klorofyl*	*side 15*
3	*Fotosyntese i bladstykker*	*side 16*
4	*Bestemmelse af enrgiindhold i en peanut*	*side 18*
5	*Måling af kuldioxidudskillelse hos gær*	*side 20*
6	*Påvisning af stivelse i madvarer*	*side 22*

Mikrobiologi:

1	*Fremstilling af tykmælk*	*side 29*
2	*Undersøgelse af bakterietal i kød*	*side 30*

Genetik:

1	*Proteinsyntese. Simuleringsforsøg*	*side 35*
2	*Genetisk fingeraftryk. Simuleringsforsøg*	*side 39*
3	*Kromosomkort (karyotype)*	*side 43*

Thorkild Steenberg

3. udg. 2013

Indledning

Hæftet indeholder en række små, enkle forsøg indenfor fysiologi, genetik, mikrobiologi, genetik og økologi, der kan supplere eller være forløber for de mere omfattende forsøg i økologi - og fysiologi-forsøgshæfterne.

Samlingen rummer forslag til iagttagelse af mikroverdenen ved mikroskopering og farvning af celler - levende organismer set i mikroskop er uforlignelig biologi; gamle klassiske forsøg med en historie; praktisk mikrobiologi; simuleringsforsøg; etc.

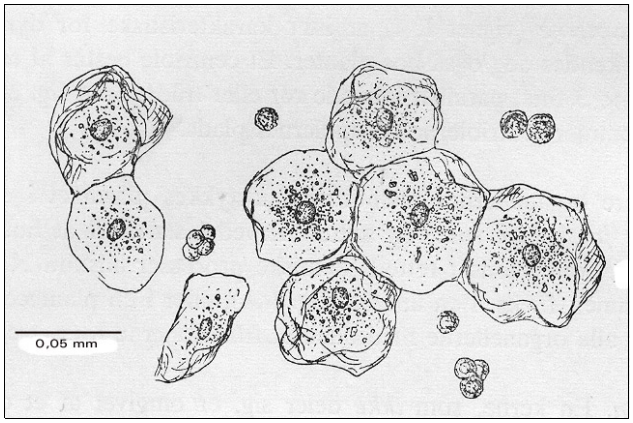
□ □ □

Mikroskopering af celletyper

I	Mundslimhindeceller
II	Celler i vandpestblade
III	Bakterier
IV	Infusionsdyr

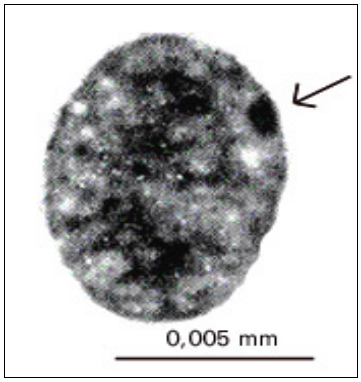
I Mundslimhindeceller

Skrab med en tændstik el. lign. lidt celler af kindens inderside.
Fiksér præparatet ved kortvarigt at trække objektglasset gennem flammen fra en bunsenbrænder (med cellerne opad! - figur 6-3).
Dryp et par dråber methylenblåt opløsning på cellerne og lad præparatet hvile et par minutter.
Skyl forsigtigt med vand og mikroskopér uden dækglas. Cellekernerne farves tydeligt blå. ***(3)***.



Figur 1 Mundslimhindeceller. De små celler er hvide blodlegemer. ***(1)***

Da kvindens ene X - kromosom inaktiveres i de fleste celler og ligger som en lille mørktfarvet plet i kanten af cellekernen - et ***Barr-legeme*** - kan man med lidt tålmodighed afgøre om cellerne kommer fra en kvinde eller en mand:



Figur 2 Cellekerne med Barr-legeme (ved pilen). ***(2)***

Barr-legeme tilstede	➜	***to X-kromosomer***	➜	***kvinde***
intet Barr-legeme	➜	***kun et X-kromosom***	➜	***mand***

Fra 1968 til 1991 var en positiv kønstest, gennemført på ovenstående måde, en betingelse for at en kvinde kunne stille op i internationale sportskonkurrencer.
Ideen bag testen var at udelukke mænd og andre deltagere, hvis kropsstruktur og muskelstyrke var af mandlig type eller unormal på anden måde, fra kvindernes konkurrencer og dermed undgå ulige konkurrencebetingelser.
Kønstesten har dog i tidens løb været massivt kritiseret for kun at skelne mellem mænd og kvinder på det mest simple niveau i kønsbestemmelsen.
Følgende eksempler illustrerer problemerne:

1. *Normale kvinder som ved hjælp af hormoner har øget muskelmassen. Positiv test*
2. *Kvinder med en medfødt binyrelidelse som betyder maskulinisering og dermed øget muskelmasse: 46,XX. Positiv test*
3. *Mænd: 46,XY. Negativ test*
4. *Mænd med et ekstra X-kromosom: Klinefelter mænd - 47,XXY. Positiv test*
5. *Kvinder med et X-kromosom for lidt: Turner kvinder - 45,X0. Negativ test*
6. *Personer med testikulær feminisering: 46,XY, fremtræder som kvinder men test negativ.*

Kønsbestemmelsen indeholder fire elementer:

- *Kromosomalt køn: XX eller XY*
- *Ovarie og testikelfunktion (gonadalt køn)*
- *Sekundære kønskarakterer: muskelmasse, kropsudvikling, kropsform, m.m.*
- *Kønsidentitet: udseende og optræden (psykosocialt køn).*

Kønstesten omfatter kun det kromosomale køn, medens det bestemmende for en persons optræden i enten kvinde- eller mandskonkurencer logisk må være en kombination af personens sekundære kønskarakterer - muskelstyrke og kropsform - og personens kønsidentitet som det giver sig udtryk i udseende og optræden.

*Fra 1991 anvendtes testen kun stikprøvevis, og fra 2000 er testen endeligt opgivet (**4 og 5**).*

Litteratur og billedrefencer

1 **Mogens Lund**: *Biologi*; Gyldendal. 1970.
2 **Adrian M.. Srb, Ray D. Owen & Robert S. Edgar**: *General Genetics*; W.H.. Freeman & Co. 1965 (efter M.L. Barr).
3 **Knud Hemminsen**: *Øvelser i biologi*; V.Richters Forlag. 1968
4 **Albert de la Chapelle**: *The Use and Misuse of Sex Chromatin Screening for 'Gender Identification' of Female Athletes*; J. Amer. Med. Ass. 256, pp: 1920-1923. 1986
5 **Internetside**: www.activeaustralia.org/women/verification.htm

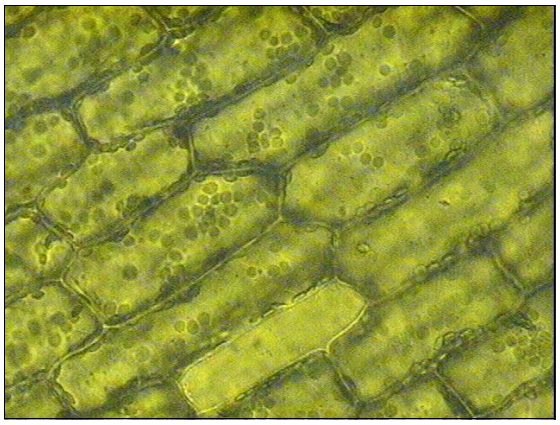
□ □ □

II Celler i vandpestblade

Materialer: *blade fra vandpest,*
mikroskop, objektglas, dækglas, filtrerpapir,
farvereagenser: *methylgrønt-eddikesyre opløsning,*
karmin-eddikesyre opløsning,
2% eddikesyre, 10% sukkeropløsning (eller 5% saltopløsning)

1 Læg et blad fra skudspidsen af en vandpestplante i en dråbe vand på et objektglas. Læg et dækglas over og sug evt. overskydende vand væk med et stykke filtrerpapir.
Mikroskopér ved lav forstørrelse (***9***).

Hvad er de små grønne legemer inde i cellerne?
Hvor mange er der i en celle?
Hvor mange lag celler er der i bladet?



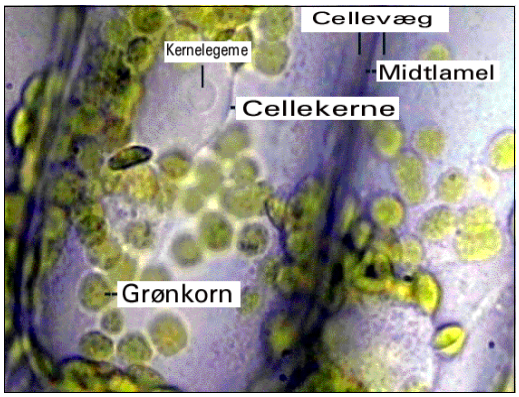
Figur 3. Vandpestceller i vand. (x 400)

2 Prøv ved større forstørrelse at iagttage detaljer i cellerne:
Læg bladet i en dråbe <u>methylgrønt-eddikesyre opløsning</u> i stedet for i vand.
Læg dækglas på og mikroskopér.

I løbet af et par minutter farves cellekernen kraftigt blågrøn, cellevæggen farves mindre kraftigt og celleindhold er ufarvet.

Når farvningen er passende kan kontrasten øges ved at suge en dråbe 2% eddikesyre gennem præparatet. Anbring en dråbe af eddikesyreopløsningen langs den ene side af dækglasset og sug den gennem præparatet ved hjælp af et stykke filtrerpapir langs den modsatte side af dækglasset.

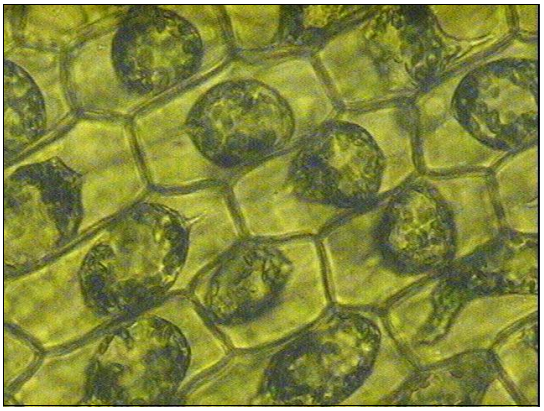
Hvis der anvendes <u>karmin-eddikesyre opløsning</u> i stedet for, farves kernerne røde (***8***).



Figur 4 Vandpestceller ved stor forstørrelse. Cellekernen kan ses.
(x 1000) (6)

3 Sug på tilsvarende måde en 10 % sukkeropløsning eller en 5 % saltopløsning gennem et præparat, lavet som beskrevet under punkt 1.

Hvad sker der?
Hvordan kan det forklares?



Figur 5 Vandpestceller i saltvand.
(x 400)

□ □ □

Literatur og billedreferencer

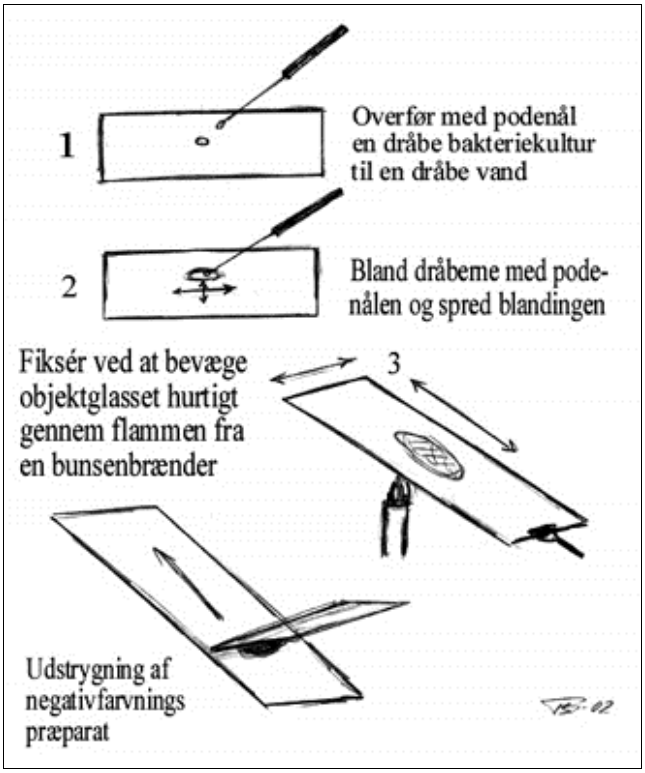
6 www.lima.ohio-state.edu/biology/images/chlorop.jpg
7 **Joachim Müller & Erich Thieme**: *Biologische Arbeitsblätter*; Industrie-Druck Verlag .1964
8 **S.E. Abrahamsen**. *Biologisk mikroskopi*; Jul. Gjellerus Forlag. 1968

III Bakterier

Materialer: *stort bægerglas, en håndfuld græs eller hø, bunsenbrænder, alkohol, pincet, objektglas, dækglas og mikroskop, farvereagenser: karbol-fuchsin opløsning[1], nigrosin opløsning, methylenblåt opløsning[2]*

1 Fremstilling af en bakteriekultur:

Kom en håndfuld græs eller hø i et stort bægerglas og hæld ledningsvand i til indholdet er dækket.
Stil glasset ved stuetemperatur uden låg.
Efter nogle dage er der dannet en bakteriehinde i overfladen.Kulturen indeholder bl. a den stavformede bakterie Bacillus subtilis (hø-bakterie). (***10 og 11***)



Figur 6 Fremstilling af bakteriepræparat og udstrygning til negativfarvning

[1] Ziehl-Neelsen Karbol-Fuchsin opløsning fortyndet med destilleret vand 1:4

[2] 0,3 g methylenblåt opløses i 30 ml 96% alkohol. Fortyndes med destilleret vand 1:4

2 Farvning og mikroskopering:

Et objektglas affedtes ved rensning i alkohol. Objektglasset tages op med en ren pincet og aftørres med et rent viskestykke.
Objektglasset flamberes (føres hurtigt gennem en bunsenbrænders flamme) og afkøles.

Farvning:

Læg en dråbe vand på et objektglas og overfør ved hjælp af en podenål en smule af bakteriehinden fra kulturglasset (bøj nålen til et øje, figur 6-1).
Bland vanddråbe og bakterier med podenålen, spred blandingen ud i et tyndt lag og lad den lufttørre (figur 6-2).
Fiksér præparatet ved at føre objektglasset hurtigt gennem flammen fra en bunsenbrænder (figur 6-3).

A Tilsæt karbol-fuchsin opløsning så præparatet er dækket.
Lad farven virke i 4-5 minutter og skyl derefter forsigtigt farven af objektglasset.
Lad præparatet tørre og mikroskopér. Bakterierne er farvet kraftigt røde.

B Alternativt kan bakterierne farves med methylenblåt opløsning. Bakterierne fremtræder blåfarvede.

Negativ farvning:

Bakterierne farves ikke, men fremtræder lyse på mørk baggrund. Hertil anvendes nigrosinopløsning.
En dråbe bakterier fra kulturglasset overføres til en dråbe nigrosinopløsning med en podenål (form et øje på podenålen). Bland grundigt og stryg ud i et tyndt lag på objektglasset (brug kanten af et andet objektglas til at fange dråben i en spids vinkel og stryg væk fra dråben).
Præparatet lufttørres og mikroskoperes uden dækglas.

Literatur:

10 **Joachim Müller & Erich Thieme**: *Biologische Arbeitsblätter*; Industrie-Druck Verlag .1964
11 **A. Munk**. *Mikrobiologi*; Jul. Gjellerus Forlag. 1965
12 **John P. Harley & Lansing M. Prescott**: *Laboratory Exercises in Microbiology*; Wm. C. Brown Publ., 2. ed. 1993

IV Infusionsdyr

Materialer: *stort bægerglas, en håndfuld hø, et par gulerodsstykker, sø- eller damvand, evt. vandplanter, objektglas, dækglas og mikroskop.*

1 Fremstilling af en infusionsdyrkultur:

Kom en håndfuld hø i et stort bægerglas, tilsæt et par skiver gulerod og evt dele af vandplanter og hæld sø- eller damvand i til indholdet er dækket.
Stil glasset lyst - men uden direkte sol - ved stuetemperatur uden låg.
Efter nogle dage er der dannet en bakteriehinde i overfladen. Efter et par ugers henstand er der i hinden desuden en rig bestand af forskellige infusionsdyr.
Kulturen går i stå efter 3-4 uger (*13*).

2 Mikroskopering:

Kom en dråbe af kulturhinden på et objektglas. Læg dækglas over og mikroskopér.
Der kan være andre typer knyttet til plantematerialet i kulturen: tag en lille stykke plantemateriale sammen med lidt vand og mikroskopér.

□ □ □

Litteratur:

13 **Joachim Müller & Erich Thieme**: *Biologische Arbeitsblätter*; Industrie-Druck Verlag .1964
14 **S.E. Abrahamsen**. *Biologisk mikroskopi*; Jul. Gjellerus Forlag. 1968

Fysiologi

I Sachs' jodprøve
II Fluorescens af klorofyl
III Fotosyntese i bladstykker
IV Bestemmelse af enrgiindhold i en peanut
V Måling af kuldioxidproduktion i gærceller
VI Påvisning af stivelse (og mono- og disaccharider) i madvarer

I Sachs' jodprøve

Et gammelt, elegant, klassisk forsøg udført af Julius Sachs i 1862 til demonstration af at planter i lys laver stivelse ***(15, 16)***.
Forsøget er en del af den række af eksperimenter og teorier der langsomt førte frem til den viden om og opfattelse af fotosyntesen, vi har i dag ***(17)***

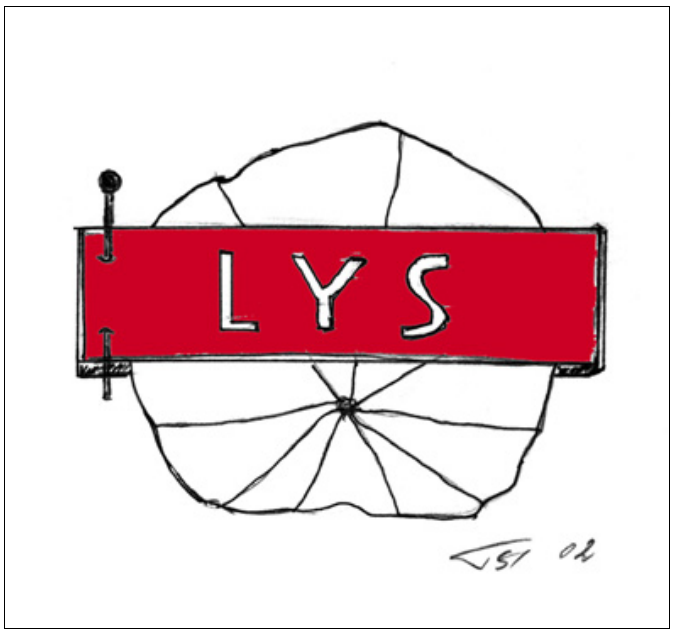
Materialer: *potteplante: Pelargonie eller Tropaeolum*
pap, 96% alkohol, demineraliset vand,
jod-jodkalium opl.(farver stivelse blåsort),
to store bægerglas, petriskål, pincet,
varmeplade eller bunsenbrænder og trefod.

Fremgangsmåde:

Klip en skærm af et stykke pap, således at den er en halv cm større end bladets dobbelte bredde.
Fold skærmen sammen, klip et mønster i den og sæt skærmen over bladet.
Hæft skærmens åbne ender sammen uden for bladet med en nål.
Sæt planten i dagslys.

Næste dags eftermiddag (ca 10 timers lys efter en nats mørke) dyppes bladet i kogende vand i et bægerglas.
Bladet lægges derefter i varm alkohol i et andet bægerglas indtil alt farvestof er udtrukket.
Bladet skylles let og anbringes i en petriskål med J-JK reagens.
Iaggtag hvad der sker!

Hvilke(n) hypotese(r) ligger til grund for forsøget?



Figur 7 *Tropaeolum blad dækket med en skærm hvori der er klippet et mønster.*

Litteratur:

15 **V. Abrahamsen, Tyge W. Böcher & Poul Larsen**: *Plantelivet*; P. Haase & Søn, 6. udg. 1967
16 **Eug. Warming**: *Den almindelige Botanik*. Gyldendal 1906.

II Fluorescens af klorofyl

Klorofylmolekylerne i grønkornene er organiseret i komplekser centreret om et centralt klorofylmolekyle. Når klorofylkomplekserne absorberer lysenergi ledes energien til de centrale klorofylmolekyler, hvor den anvendes til at anslå elektroner, som overføres til fotosyntesens enzymsystemer.
Hvis klorofylmolekylerne er fysisk adskilt fra enzymerne kan de ikke videregive elektronerne og afgiver derfor energien, når elektronerne falder tilbage i normaltilstanden, som lys - fluorescens med en bølgelængde på ca 700 nm..

Materialer: *ekstrakt af klorofyl fx fra foregående forsøg,*
eller friske blade, bægerglas, alkohol og varmeplade,
UV-lampe.

Fremgangsmåde:

Hvis klorofylektrakten fra foregående forsøg ikke kan anvendes fremstilles en tilsvarende ved at opvarme et par blade i alkohol på en varmeplade til al farvestoffet er udtrukket.

Belys klorofylekstrakten med UV-lys i et mørkelagt rum og iagttag farven af det udsendte lys.

□ □ □

III Fotosyntese i bladstykker

Fotosyntesereaktionen forløber når klorofylmolekyler udsættes for lys:

$$6\ CO_2 + 12\ H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 + 6\ H_2O$$

I forsøget måles fotosyntesen ved at bladstykker suspenderet i en $NaHCO_3$ opløsning udsættes for forskellige lysintensiteter, farver, etc.

Materialer

friske blade (fx spinat), 0,5 % $NaHCO_3$ opløsning, 250 mL bægerglas, opvaskemiddel, 10 eller 20 mL sprøjter (uden kanyle), hullemaskine, kraftig lyskilde (fx OHP), stopur.

Fremgangsmåde

Forberedelse

1. Fremstil en 0,5 % $NaHCO_3$ opløsning (500 mL). Tilsæt en dråbe opvaskemiddel.
2. Klip hurtigt 20 bladstykker med hullemaskinen - undgå store bladnerver.
3. Kom de 20 bladstykker i en sprøjte, sæt stemplet i og sug lidt $NaHCO_3$ opløsning op, således at bladene flyder på væsken.
4. Vend sprøjten med studsen opad. Sæt fingeren på sprøjtestudsen og lav vakuum i 10 sec. ved at føre stemplet nedad. Slip. De fleste bladstykker synker ned i væskem. Gentag et par gange til alle bladstykker er sunket.

Forsøg (grupper)

5. Hæld 10 bladstykker fra sprøjten op i hvert af to bægerglas med ca 100 mL $NaHCO_3$ opløsning.
6. Stil det ene glas på OHP glaspladen og det andet enten mørkt eller et ikke belyst (men ikke mørkt) sted i lokalet (lav evt begge dele - det kræver 10 bladstykker mere).
7. Tænd OHP maskinen og start stopuret.
8. Tæl hvert minut hvor mange bladstykker, der flyder i begge glas (noter antal og tid).
9. Fortsæt til alle bladstykker (eller de fleste) i det ikke belyste glas flyder. Hvordan ser glasset i mørke ud?

10. Sæt det belyste glas mørkt og et evt mørkeglas på OHP glaspladen. Gentag målingerne under disse betingelser.

Forsøget kan varieres med farvet lys, forskellige lysintensiteter eller lign.

Resultatbehandling

Tegn graf over hver gruppes antal flydende bladstykker som funktion af tiden.
Bestem tiden for 50% flydende bladstykker og brug dette tal som sammenligningsgrundlag for de enkelte gruppers resultater og for sammenligning af forskellige variationer.

Diskussion

Hvorfor flyder bladene i det belyste glas?
Hvad sker der efter det tidligere belyste glas er sat i mørke? Hvorfor?

□ □ □

Litteratur

17. Bearbejdet efter **Sidsel Sangild**: *Flydende blade. Kaskelot nr 193,* side 15-21. 2012
18. **Thorkild Steenberg**: *Biokemisk oversigt over fotosyntesen; www.sander-steenberg.dk : undervisning/oversigter.*

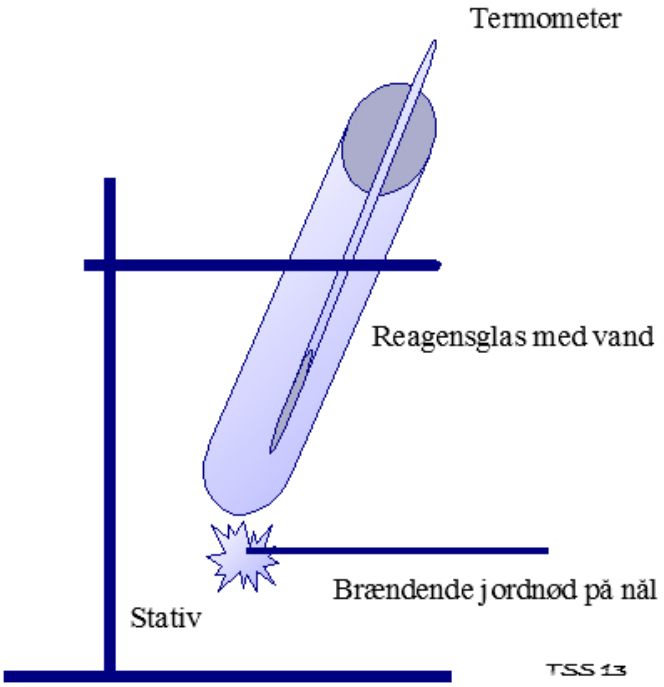
IV Bestemmelse af energiindhold i en peanut

Formål og forsøgsprincip

I forsøgets skal bestemmes hvor meget energi, der er i en usaltet jordnød (udregnet pr gram jordnød).
Forsøgsprincippet er et forenlet kalorimeterprincip: man sætter ild til en jordnød, der varmer en kendt mængde vand op; ud fra temperaturstigningen og vands specifikke varmekapacitet kan energiindholdet bestemmes.

Materialer

½ jordnød, nål, bunsenbrænder, stort reagensglas, termometer, stativ-opstilling, 50 mL måleglas.



Fremgangsmåde

Spænd reagensglasset op i stativet som vist på tegningen
Hæld ca. 20 mL ledningsvand op i måleglasset og vej det. Notér massen.
Overfør vandet til reagensglasset, vej måleglasset igen og notér massen.

Anbring termometeret i reagensglasset og aflæs temperaturen, når termometeret har indstillet sig.
Vej en ½ jordnød og notér massen.
Bor forsigtigt en nål halvt ind i jordnødden
Jordnødden tændes over bunsenbrænderen og så snart den er antændt, holdes den ind under reagensglasset til den holder op med at brænde.
Sluttemperaturen måles og noteres. Resten af jordnødden vejes (noter vægten).

Beregninger

$$E = m * c * \Delta T$$

E er energien, m er massen af vand, c er vands specifikke varmekapacitet (4,18 J/(g*K)) og ΔT er temperaturstigningen i grader Kelvin (K) (En temperaturstigning på 1 grad Celsius svarer til en stigning på 1 K).
Indsæt måleværdier i formlen og udregn den mængde energi, der er afsat i vandet fra

afbrændingen af jordnødden. Beregn energi pr gram forbrændt nød.
Beregn hvor meget energi, der dannes ved afbrænding af 100g jordnødder, og sammenhold det med varedeklarationen.
Beregn den procentvise afvigelse fra værdien på varedeklarationen.

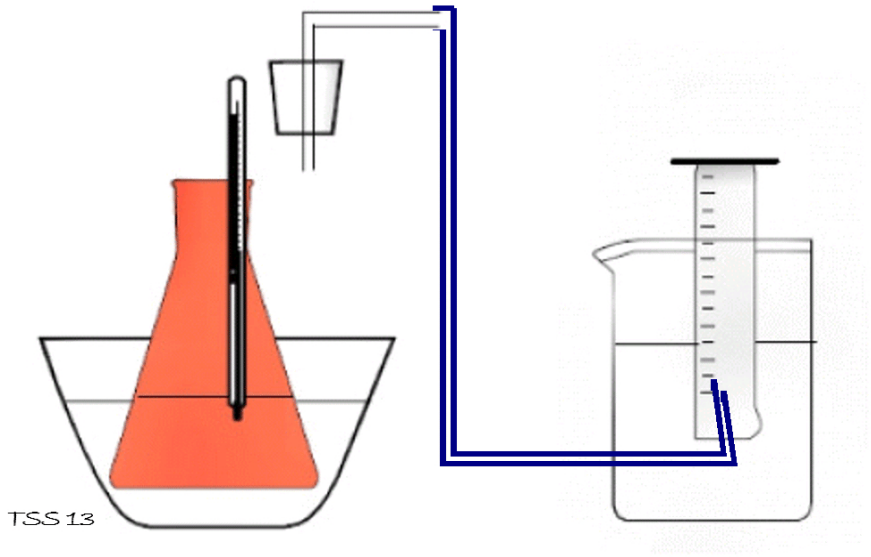
Diskussion

Ved et sådant forsøg er det vanskeligt at få afsat al energien som varme i vandet. Forklar hvor den resterende energi forsvinder hen.
Foreslå mulige forbedringer af forsøget, således at en større mængde energi afsættes i vandet.

□ □ □

V Måling af kuldioxidproduktion i gærceller som funktion af temperaturen

Gærceller producerer CO_2 ved respiration eller gæringsproces.
I forsøget måles en gæropslemnings CO_2 produktion ved forskellige temperaturer.



Materialer

vandbad til temperaturregulering (plastikbajle eller lignende med temperatur 10 °C, 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C og 60 °C).
gær, sukker
400 mL koniske kolbe, gummiprop med glasrør (evt med hul til termometer), plastikslange.
100 mL måleglas, 500 mL bægerglas, termometer.

Fremgangsmåde

1. Opløs 10 g gær i 125 mL vand i kolben. Tilsæt 10 g sukker.
2. Placer kolben i et vandbad med fx temperaturen 10 °C .
3. Mål temperaturen i kolben og vent til temperaturen i gæropslemningen har stabiliseret sig - notér temperaturen.
4. Sæt proppen i og før slangen op i et omvendt måleglas fyldt med vand - placeret i et vandfyldt bægerglas (notér startvandstanden).
5. Mål CO_2 udskillelsen i 5 - 10 minutter (notér tiden).

Der skal måske tilføjes varmt eller koldt vand til vandbadt under forsøget for at holde temperaturen stabil. Notér evt. temperaturudsving.
Flyt kolben over i vandbad med en ny temperatur og gentag 3-5. Samme gæropslemning kan bruges til målinger, hvis der startes med de lave temperaturer.

Resultatbehandling

Tegn digram over CO_2 produktionen som funktion af temperaturen. Hvis der anvendt forskellige forsøgstider, normaliseres CO_2 produktionen til ensartet tid - og det er denne CO_2 produktion, der anvendes i diagrammet.

Diskussion

Hvad er gærceller - tegn en gærcelle med de vigtigste cellebestanddele.
Hvorfor skal gær opløses i vandet i kolben før der tilsættes sukker?

Beskriv og forklar kurven?

□ □ □

VI Stivelse i madvarer

I forsøget undersøges forskellige madvarer for deres indhold af stivelse.
Stivelse påvises med en jodopløsning (J-JK; jod-jodkalium opløsning). Stivelsen farves sortblå med jodopløsningen[3]
Forsøget kan udvides med test for monosaccharider og disaccharider[4].

Materialer:

Porcelæns testplader, J-JK opløsning, forskellige madvarer.Evt morter til at knuse ris.
Evt. reagensglas, glasspatel og reagenser (Benedict og Barfoed reagenser) til monosaccharid/disaccharid påvisning.

Fremgangsmåde:

A Stivelse:

6. Læg forskellige madvarer i små portioner i de små huller på testpladen (samme størrelse portioner af hver madvare).
7. Dryp omhyggeligt en eller flere dråber J-JK opløsning på madvarerne (samme antal dråber på hvert felt).
8. Notér observationerne.

B Monosaccharider / disaccharider

9. Mas lidt madvare i et reagensglas med en glasspatel. Tilsæt lidt demineraliseret vand og bland.

Benedicts reaktion

1. Overfør 1 mL af væsken uden for mange madstykker til et reagensglas.
2. Tilsæt 2 mL Benedict reagens. Bland.
3. Glasset opvarmes i kogende vandbad 3-5 min.
4. Et grønt (spor), gult (+), orange (++) eller rødligt (+++) bundfald påviser, at der er mono- eller disaccharider i madvaren.

Barfoeds reaktion

1. Overfør 1 mL af væsken fra (4) uden for mange madstykker til et reagensglas
2. Tilsæt 3 mL Barfods reagens. Bland.
3. Glasset opvarmes i kogende vandbad 3-5 min.
4. Et rødligt bundfald påviser at der er mono- eller disaccharider i madvaren.

---

[3] Det er J_3^- ioner, der samles i stivelsesmolekylets spiralvindinger, der giver farven.

[4] Testen påviser frie aldehydgrupper. Det vil sige at glucose, maltose og lactose kan påvises; men ikke saccharose.

Resultatbehandling - diskussion:

Hvilke af madvarerne indeholder stivelse?
Kommenter forskellene mellem de forskellige typer ris.

Hvilken slags organisk stof tilhører stivelse?

Hvordan er stivelse, sukker og glucose opbygget? Hent strukturformler på nettet eller tegn selv. Forklar hvad de viser.

Hvorfor er det ikke lige meget, hvilken type kulhydrat, vi spiser?

Hvorfor skal vi spise kulhydrater?

For de skrappe: Hvorfor virker de to disaccharid testmetoder ikke på saccharose?

□ □ □

Resultatskema

Madvare	Farve med J-JK	Indeholder stivelse	Indeholder ikke stivelse
Brød			
Æble			
Pasta			
Havregryn			
Sukker			
Druer			
Glucose			
Ris (grød)			
Ris (Basmati)			
Ris (brune)			
Ris (brune, knuste)			
Banan			
Bulgur			
Madvare	**Farve med Benedict**	**Farve med Barfoed**	**Sukkerindhold**

Kemiske reaktioner:

Benedict (reaktion i basisk miljø):

I 17,3 g $NaC_6H_8O_7$ (natriumcitrat) + 11,7 g Na_2CO_3 . 10 H_2O (natrium karbonat) + demineraliseret vand til 100 mL
II 17 g $CuSO_4$. 5 H_2O (kobbersufat) + demineraliseret vand til 100 mL.

Begge blandes

$$\mathbf{2\ Cu^{++} + R\text{-}CHO + 5\ OH^- \rightarrow Cu_2O + R\text{-}COO^- + 3\ H_2O}$$

□ □ □

Barfoed (reaktion i surt miljø)[5]:

70 g $Cu(CH_3COO)_2$. H_2O (kobberacetat) + 9 mL iseddikesyre + demineraliseret vand til 1 L

$$\mathbf{2\ Cu^{++} + R\text{-}CHO + 2\ H_2O \rightarrow Cu_2O + R\text{-}COOH + 4\ H^+}$$

□ □ □

[5] Barfoeds reaktion angives at være mindre effektiv for disaccharider.

Mikrobiologi

I Fremstilling af tykmælk
II Undersøgelse af bakterietal i kød eller andre madvarer

I Fremstilling af tykmælk

Følgende er citat fra min farmors kogebog *(19)*:

> *"God Tykmælk bør nydes daglig Aaret rundt. Serveret med revet Rugbrød og Sukker er den en sund Dessert og den bedste Ret at begynde Dagen med, og en ret, som Børn gerne spiser.*
>
> *Hvis man har Centralvarme eller Stedsebrændere, volder det ingen Vanskeligheder at faa Mælken tyk fra Dag til Dag, selv i den strengeste Vintertid. Hvor saadanne Varmekilder mangler; men hvor der haves Elektricitet, kan Varmeskab benyttes.*
>
> *Første Gang, man skal lave Tykmælk, er det nødvendigt tilsætte Sødmælken lidt god Kærnemælk (1 Spiseskefuld pr. Tallerken), men har man først en god Tykmælk, kan denne benyttes til at pode den næste Mælk med.*
>
> *Den bedste Tykmælk faas af lavpasteuriseret Sødmælk. Man kan selv pasteurisere den raa Mælk ved at opvarme den ca 5 Minutter til 68° - 70°. Naar denne Mælk er afkølet til 30° - 25°C, podes den paa ovennævnte Maade.*
>
> *Hvis Mælken ikke bliver tyk ved 20°C paa 18 timer, eller hvis tykmælken faar afsmag, udskiller Valle eller har Luftblærer eller Skimmel paa Overfladen, bør den næste Gang podes med ny Kærnemælk."*

Materialer: 1l økologisk (uhomogeniseret) sødmælk,
1 dl økologisk kærnemælk,
tykmælkstallerkener.

Fremgangsmåde:

Bland mælk og kærnemælk omhyggeligt med en ske. Hæld blandingen op i tykmælkstallerkener og sæt dem i varmeskab (20°C) i 18 timer.
Smag!
Lav et præparat af en dråbe kærnemælk som vist på side 9. Hvad ser man?
NB! Bakterierne er meget små (1-2 µm - der kræves 1000 ganges forstørrelse og helst fasekontrast for at kunne se dem!)

Litteratur:

19 **Carla Meyer (red.):** *Nutids Mad og Husførelse*; Gyldendal 2. udg. 1936

II Undersøgelse af bakterietal i kød eller andre madvarer

Princippet i undersøgelsen er at udså en kendt mængde prøve i et vækstmedium (agar) og lade de tilstedeværende bakterier vokse til synlige kolonier som så tælles (man regner med at én koloni stammer fra én bakterie).

Prøven skal være fortyndet så meget, at der er et passende antal kolonier at tælle (10-200).

Metoden kaldes Koch´s pladespredningsmetode - opkaldt efter den tyske mikrobiolog Robert Koch (1843-1910), der i 1880' erne arbejdede med isolering og dyrkning af flere sygdomsfremkaldende bakterier (bl.a. miltbrand og tuberkulose).
Han grundlagde sammen med Louis Pasteur den moderne mikrobiologi og dens metoder.

Materialer:

Sterile petriskåle, steril skalpel, steril kraftig plasikpose (stegeposer), sterile pippetter (5 stk målepippetter og 1 (3) stk fuldpippette), pippettebold, drigalski-spatel, vækstmedium og fortyndingsmedium.

Vækstmedium:

Pepton	*10,0 g*
Kødekstrakt	*5,0 g*
NaCl	*5,0 g*
Agar	*15,0 g*
Vand	*1000 ml*

Fortyndingsmedium:

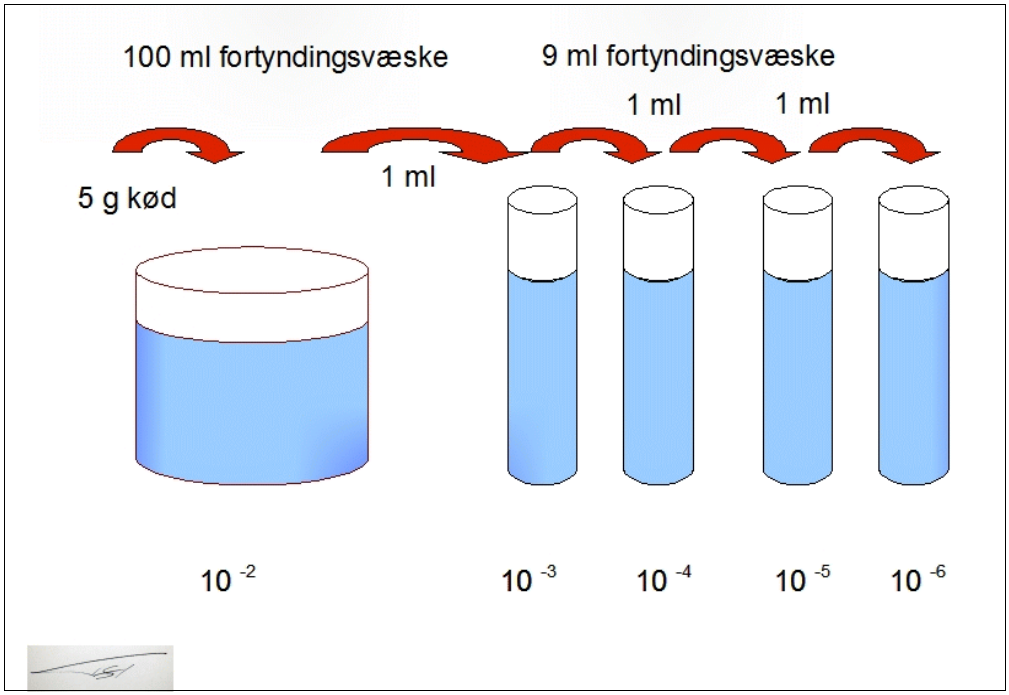
samme sammensætning uden agar eller 0,9% NaCl opløsning.

Afvej ingredienserne i et bægerglas og opvarm til kogepunktet (det er lettere at opløse agaren ved først at tilsætte den når væsken koger).
Autoclavér ved 121 °C i 15 min.

Fremgangsmåde:

Lav en fortyndingsserie af 4-5 reagensglas med 9,0 ml fortyndingsmedium i. Mærk dem 3 til 6 (7) (fortyndingen i dem er 10^{-3} til 10^{-6} (eller 10^{-7})).

Mærk et antal petriskåle i bunden med tallene 4, 5 og 6.



Figur 12 *Fortyndingsserie til bakterietælling*

5 g prøve (vægten bestemmes med to decimaler) udtages med steril kniv forskellige steder i prøvematerialet og overføres til 100 ml steril fortyndingsvæske i en svær plastikpose. Plastikposen bearbejdes kraftigt og omhyggeligt, således at prøven bliver så findelt som muligt.
Overfør med steril pippette 1 ml til til første glas i fortyndingsserien, omryst (med parafilm over glasmundingen) og overfør dernæst 1 ml (ny pippette!) til andet glas i fortyndings-serien. Således fortsættes til sidste glas.
Fra hvert af de tre sidste glas (4, 5 og 6 eller 5, 6 og 7) afpippetteres 0,1 ml til petriskåle med samme nr. Petriskålene er i forvejen tilsat 10-15 ml flydende agar, som har fået lov til at stivne.
Prøven fordeles på agaroverfladen med en steriliseret Drigalski-spatel.
Skålene sættes i varmeskab ved 30 °C med bunden opad.

Resultatbehandling:

Tæl antallet af kolonier på skålene og beregn det sandsynlige antal bakterier pr g prøve.

□ □ □

Litteratur

20. *Handbook of Microbiological Culture Media, Int. Ed.*

Genetik

I Proteinsyntee. Simuleringsforøg
II Genetisk fingeraftryk. Simuleringsforsøg
III Karyotype

I Proteinsyntese - simuleringsforsøg

Rækkefølgen af nukleotider i DNA molekylet bruges som en kode ved en transskription: dvs at et enzym kopierer den ene DNA streng ved at bruge den anden streng som skabelon. Det er kun et mindre stykke af DNA strengen, der kopieres - nemlig den del, der udgør genet. Resultatet er en RNA kopi af genet- et mRNA. mRNA rummer den samme kode som genet i DNA molekylet, og denne kode oversættes i ribosomet til en tilsvarende rækkefølge af aminosyrer; resultatet er et polypeptid (= protein).
I forsøget illustreres prinippet i en proteinsyntese ved at DNA koden oversættes til de tilsvarende aminosyrer ved hjælp af et kodekort, og aminosyrerne - simuleret ved vingummi/lakridskonfekt - sættes sammen til en aminosyrekæde.

Materialer

Saks, karton, petriskåle, tre poser lakridskonfekt eller vingummi (passer til 15 elever) i forskellige farver/former, tandstikkere.

Fremgangsmåde

Fælles:
Udskriv side 3 på karton og klip firkanterne ud.
Fordel vingummi/lakridskonfekten efter form og farve i 14 petriskåle og læg en aminosyrefirkant ved.hver (der er kun medtaget 14 af de 20 aminosyrer i proteiner).

I grupper:

1. Hver gruppe oversætter ved hjælp af den genetiske kode (se kodecirkel side 38) en af de fem dele af DNA strengen på side 2 til de tilsvarende aminosyrer. Skriv aminosyreforkortelsen oven over DNA koden. (Den øverste linie i hver del er kodestrengen).

2. Find aminosyrerne i petriskålene og tæt dem sammen med tandstikkere til en delkæde.

3. Sæt alle fem delkæder sammen og fold den samlede aminosyrekæde i spiral og tredimensional form.

Diskussion

Fotografér processen undervej. Forklar hvad der sker.
Hvilken forskel i proteinet gør det om delkæde 1 sættes først, i midten eller til sidst?

Fem dele af en DNA streng - DNA kodestreng øverst

1. del

TACTTTCAGCGGCCCAAGAACATT
ATGAAAGTCGCCGGGTTCTTGTAA

2. del

TACGCCGGGACCATACCCCAAGAG
ATGCGGCCCTGGTATGGGGTTCTC

3. del

TACGTTGGGGGAGAGACGATACGG
ATGCAACCCCCTCTCTGCTATGCC

4. del

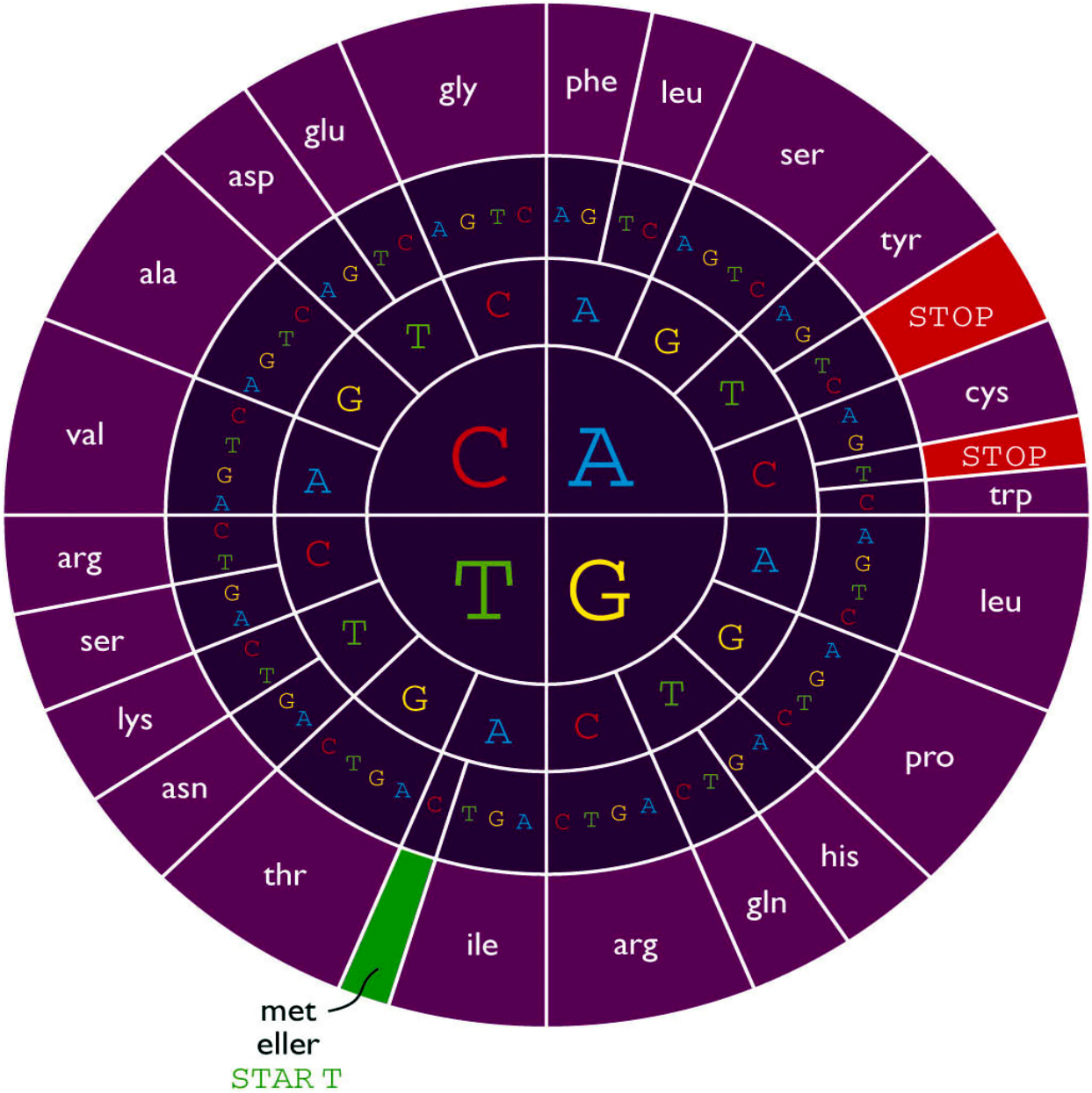
TACTAAGGGGAGGGAATGAAACGT
ATGATTCCCCTCCCTTACTTTGCA

5. del

TACTCCGGGCAGAAAATGAAACCT
ATGAGGCCCGTCTTTTACTTTGGA

LYS Lysin	PRO Prolin	TRP Tryptophan
MET Methionin	VAL Valin	GLN Glutamin
ARG Arginin	PHE Phenylalanin	LEU Leucin
CYS Cystein	TYR Tyrosin	ILE Isoleucin
GLY Glycin	ALA Alanin	

Aminosyrekort med aminosyreforkortelser (der er kun medtaget 14 aminosyrer)



DNA kodecirkel. Koden aflæses fra midten og udefter [6].

□ □ □

[6] Hansen, Hestbech, Kahl, Marcussen & Marker: Biologibogen, Systime 2. udg.
Efter formodet original: Miller & Levine: Biology. Prentice Hall 2008

II Genetisk fingeraftryk. Simuleringsforsøg

Amanda var i tivoli med veninderne i går. Hun vandt en kæmpeslikkepind i en tombola. Hun har anbragt den i vindueskarmen i sit værelse for at kunne spise den, når hun kommer hjem fra skole i dag.
Hendes mindre brødre - Tobias, Gregers og Georg - er alle tre nogle store slikmunde, og de har kastet lange blikke efter slikkepinden hele dagen.
Amanda opdager et tydeligt slikkespor på slikkepinden da hun kommer hjem, men brødrene påstår alle tre, at de ikke har rørt den.
Hun ved at der er cellerester i spyt, og hun får taget en spytprøve fra brødrene, så hun kan udarbejde et genetisk fingeraftryk for hver af dem og sammenligne dem med et tilsvarende fra slikkesporet på slikkepinden.
Et lille stykke DNA fra gerningsstedet og fra hver mistænkt er vist på næste side.

Hvem af dem har forgrebet sig på storesøsters slikkepind?

Fingeraftrykksteknik

Et bestemt, meget variabelt område i DNA fra gerningssted og fra mistænkte klippes med restriktionsenzymer.
DNA stumperne adskilles efter størrelse ved elektroforese: Stykkerne afsættes i den ene ende af en gel som derefter anbringes i elektrisk spændingsfelt. Stykkerne vandrer mod den positive pol med en hastighed, der er proportional med deres størrelse: små stykker vandrer hurtigst og dermed længst; medens store stykker ikke vandrer særligt langt.
Mønstrene af små og større DNA stykker efter klipning med flere restriktionsenzymer (op til 10) er det såkaldte genetiske fingeraftryk.

Restriktionsenzymer

Enzymer som genkender en bestemt kombination af nukleotider og klipper DNA over hver gang denne kombination forekommer i et stykke DNA:

Enzym A: EcoR1

```
G AATT C
C TTAA G
```

Enzym B:BamH1

```
G GATC C
C CTAG G
```

Fremgangangsmåde

1 Klip DNA stykkerne ud og læg dem i mærkede bunker.

2 Find nukleotidsekvenserne for enzym A og B på DNA stykkerne. Marker med en blyant hvor der skal klippes og klip stykkerne ud. Læg stykkerne i nye mærkede bunker.

3 Tæl antallet af nukleotidpar for hvert stykke og arranger stykkerne efter størrelse på bordet eller på et stort stykke karton (gerningssted; person 1; person 2 og person 3).

4 Sammenlign mønstrene: Hvem er den skyldige?

□ □ □

Litteratur

*21 Frit efter http://www.pbs.org/wgbh/nova/sheppard/lab01.htm**l***
Internetsiden indeholder også en fin lille animeret beskrivelse af fingeraftrykstekniken.

*22 **Carol Ely Hepfer, Joel B. Piperberg, Gertrude M. Farganis**:*
An introduction to DNA fingerprinting.
***The American Biology Teacher 55, 4 1993**; pp.: 216-221*

*23 **Hannelore Rössel**:*
Arbeitsblätter zum genetischen Fingerabdruck.
***Praxis der Naturwiss. [Biol.] 49, 2 2000**; pp.: 22-25*

ATCGTGGTAATGCGAATTCAATGGGCTTAGCGAATTCGGATCCAAGCGAATTCGGCCTAAATGCCGGATCCTTAAAAGCGCGCTAGGATCCGGCCAT
TAGCACCATTACGCTTAAGTTACCCGAATCGCTTAAGCCTAGGTTCGCTTAAGCCGGATTTACGGCCTAGGAATTTTCGCGCGATCCTAGGCCGGTAGTA

Spyt på gerningsstedet

Tobias

ATCGTGGTAATGCGAATTCAATGGGCTTAGCGAATTCGGATCCAAGCGAATTCGGCCTAAATGCCGGATCCTTAAAAGCGCGCTAGGATCCGGCCAT
TAGCACCATTACGCTTAAGTTACCCGAATCGCTTAAGCCTAGGTTCGCTTAAGCCGGATTTACGGCCTAGGAATTTTCGCGCGATCCTAGGCCGGTAGTA

Gregers

ATCGTGGTAATGCTAATTCAATGGGCTTAGCGAATTCGGATCCAAGCGAATTCGGCCTAAATGCCGGATCCTTAAAAGCGCGCTAGGATCCGGCCAT
TAGCACCATTACGATTAAGTTACCCGAATCGCTTAAGCCTAGGTTCGCTTAAGCCGGATTTACGGCCTAGGAATTTTCGCGCGATCCTAGGCCGGTAGTA

Georg

ATCGTGGATCCGCGGATCCAATGGGCTTAGCGGATCCACTGGATCCAAGCGAATTCGGCCTAAATGCCGGATCCTTAAAAGCGCGCTAGGATCCATG
TAGCACCTAGGCGCCTAGGTTACCCGAATCGCCTAGGTGACCTAGGTTCGCTTAAGCCGGATTTACGGCCTAGGAATTTTCGCGCGATCCTAGGTACTAC

III Karyotype. Udklippe og arrangere kromosomer i et kromosomkort

Klip kromosomerne i figuren ud.
Arranger dem parvis efter størrelse, form, farvemønster etc således at der fremkommer et kromosomkort (en karyotype).

Diskussion

Hvor mange kromosomer skal der være?
Hvorfor passer de sammen parvis?
Hvordan ser man, at kromosomsættet er fra en mand?