

# ARTIS MICROPIA

## Probiotica

### Vol nuttige bacteriën

Veel mensen kennen wel Yakult, Vifit of Actimel. Het zijn een paar voorbeelden van probiotische zuivel drankjes, wat betekent dat er micro-organismen in zitten die goed zijn voor je gezondheid. Een veel gebruikt geslacht van bacteriën in probiotische drankjes is *Lactobacillus*, een melkzuurbacterie. Het grote verschil tussen normale zuivel drankjes en de probiotische varianten, is dat de bacteriën uit normale yoghurt niet kunnen overleven in de maag. De probiotische *Lactobacillus*-bacteriën overleven het maagzuur wel en komen uiteindelijk aan in de darmen, waar ze kunnen helpen met je spijsvertering en zorgen een gezonde balans.

Volgens de makers van Yakult zitten er meer dan 20 miljard bacteriën in elk flesje. Dat zijn er dus meer dan 300.000.000 in 1ml! In de volgende drie proefjes gaan we deze bacteriën proberen te kweken. De proefjes zijn los van elkaar uit te voeren en nemen toe in moeilijkheidsgraad. Bij het eerste proefonderdeel leer je hoe je bacteriën in een petrischaal kan kweken. Bij het tweede proefje gebruiken we een verdunningsreeks om te kijken of er echt 20 miljard bacteriën in Yakult zitten. Bij het derde proefje kijken we wat er gebeurt als er bepaalde schimmels in de buurt van deze bacteriën zitten.



## Deel 1 (eenvoudig)

---

### Bacteriën kweken

Je kan bacteriën kweken in een petrischaaltje met wat voedingsbodem, waardoor bacteriekolonies zichtbaar worden met het blote oog. Dit noem je bacteriën inoculeren. Bij dit proefje gaan we kijken naar de bacteriën uit Yakult.

Wat heb je nodig?

- een flesje Yakult
- een pipet, 1ml
- een reageerbuisje van 10 ml met stopper
- fysiologische zoutoplossing (9 gram NaCl (keukenzout) in 1 liter gekookt water)
- een petrischaaltje met voedingsbodem (agar of gelatine)
- parafilm
- een steriel spateltje of entoog

Als agar voedingsbodem is mout extract agar (MEA) goed te gebruiken. Het is ook erg leuk om zelf voedingsbodem te maken op basis van gelatine. Je kan onderaan deze proefhandleiding lezen hoe dat moet.

### Aan de slag!

1. Vul het reageerbuisje met 10 ml fysiologische zoutoplossing.
2. Voeg hier een klein druppeltje (0.1 ml) Yakult aan toe.
3. Doe de stopper op het reageerbuisje en schud het goed.
4. Haal een klein druppeltje vloeistof (0.1ml) uit het reageerbuisje en strijk dit met het spateltje uit in het petrischaaltje.
5. Doe de deksel op het petrischaaltje, sluit het af met parafilm en zet het ondersteboven op een warme droge plek, bijvoorbeeld in de buurt van een verwarming. Hiervoor kan het beste een stoofkast of incubator worden gebruikt. Zet die dan op 25° Celsius.

*Door iedere keer weer snel de deksel terug op het schaalte te doen, voorkom je dat microben uit de lucht in je bakje terecht komen. Deze kunnen namelijk je voedingsbodem 'vervuilen'. Vermijd luchtstroming en tocht. Werk eventueel in een zuurkast of zet een doos op zijn kant waarin je je werkzaamheden uitvoert.*

6. Kijk na 5 tot 7 dagen naar de kolonies die in de schaal zijn gegroeid.

## Vragen

**Vraag 1:** Als het goed is zijn er een heleboel kolonies gegroeid in de schaal. Uit hoeveel bacteriën ontstaat elke kolonie?

.....

**Vraag 2:** Hoeveel bacteriën denk je dat er na zeven dagen in de schaal zitten?

**A** evenveel als het aantal kolonies

**B** duizenden

**C** miljoenen

**D** miljarden

## Deel 2 (gemiddeld)

---

### Miljarden tellen

Bij dit proefonderdeel gaan we controleren of het klopt dat een flesje Yakult minstens 20 miljard bacteriën heeft. Dit doe je door de Yakult eerst te verdunnen voordat het in het petrischaaltje gaat. De hoeveelheid kolonies in het schaalpje kan je dan omrekenen naar het totale aantal bacteriën in het flesje.

Wat heb je nodig?

- een flesje Yakult
- een pipet, 1ml
- 5 reageerbuisjes van 10 ml met stoppers
- fysiologische zoutoplossing (9 gram NaCl (keukenzout) in 1 liter gekookt water)
- 2 petrischaaltjes met voedingsbodem (agar of gelatine)
- parafilm
- een steriele entoog of spateltje

### Aan de slag!

1. Vul alle reageerbuisjes met 9 ml fysiologische zoutoplossing.
2. Pipeteer 1 ml Yakult in de eerste reageerbuis.
3. Meng de buis door de vloeistof herhaaldelijk met de pipet op te zuigen en terug te laten vloeien.
4. Doe de stopper op het reageerbuisje en schud het goed. Gebruik eventueel een vortex.
5. Pipeteer 1 ml uit de eerste reageerbuis in de tweede reageerbuis. Meng opnieuw door de vloeistof een paar keer op te zuigen en terug te laten vloeien. Schud het goed.
6. Herhaal deze stappen tot aan de vijfde reageerbuis, steeds door 1 ml uit de vorige te pipeteren en aan de volgende buis toe te voegen. Schud elke keer het buisje goed voordat je verder gaat. (zie foto)
7. Haal uit de vijfde reageerbuis 0,1 ml vloeistof en strijk dit met de entoog uit in het petrischaaltje. Zorg ervoor dat de deksel snel weer op het schaalpje zit, om vervuiling te voorkomen.
8. Doe dit ook voor een tweede petrischaaltje, zodat je verschillende resultaten met elkaar kan vergelijken.
9. Doe de deksels op de petrischaaltjes, sluit ze af met parafilm en zet ze ondersteboven op een warme, droge plek. Hiervoor kan ook een kweekkast of incubator worden gebruikt op 25° Celsius.
10. Tel na 5 tot 7 dagen hoeveel kolonies er zijn gegroeid.



## Vragen

**Vraag 1:** Hoeveel bacteriekolonies tel je op de petrischalen? Wat is het gemiddelde?

.....

**Vraag 2:** Wanneer je 1ml Yakult toevoegt aan 9ml zoutoplossing, is die ene ml Yakult tien keer verdund. Hoeveel is de Yakult in totaal verdund?

.....

.....

.....

**Vraag 3:** Reken uit hoeveel bacteriën er in 1ml Yakult zaten. En hoeveel zitten er ongeveer in een flesje?

**TIP:** Vergeet niet dat je 0,1ml op de petrischaal hebt gedaan in plaats van 1ml.

.....

.....

.....

## Deel 3 (gevorderd)

---

### Schimmel tegen bacterie

Bij dit proefje gaan we kijken wat er gebeurt als je een broodschimmel en bacteriën uit Yakult in dezelfde schaal inoculeert. Bij stap 1 gaan we schimmels in een aparte petrischaal inoculeren. Bij stap 2 voegen we deze schimmel toe aan een petrischaal waar de Yakult bacteriën op zitten. We gaan deze schaal vergelijken met een petrischaal waarop amoxicilline is toegevoegd. Let op dat je bij het gebruik van de schimmel niet te veel sporen inademt. Het gebruik van een mondkapje is aan te raden.

### Stap 1: schimmel inoculeren

Voor deze proef heb je een petrischaal met schimmel nodig. Dit duurt ongeveer twee weken om voor te bereiden. Hier lees je hoe je dat moet doen.

Hiervoor heb je nodig:

- een wattenstaafje met wat huisstof
- een boterham
- een plastic boterhamzakje
- een petrischaaltje met voedingsbodem
- parafilm
- een steriel pincet

### Aan de slag!

1. Haal het wattenstaafje langs een plek waar veel huisstof ligt.
2. Snijdt de boterham in tweeën en strijk het wattenstaafje met huisstof langs beide kanten.
3. Stop de boterham in het plastic zakje en knoop het zakje dicht.
4. Laat het zakje een week liggen.
5. Zoek een schimmelvlekje dat wit is langs de rand, maar groenig blauw en pluizig in het midden. (zie de foto) Dit is waarschijnlijk een *Penicillium*-schimmel.
6. Open het zakje en haal met het pincet voorzichtig een stukje brood met schimmel weg.
7. Leg dit stukje in het midden van de petrischaal. Doe de deksel er weer op en sluit het af met parafilm, zodat geen andere microben de petrischaal kunnen vervuilen.



Laat de petrischaal ongeveer een week op een warme droge plek staan. Dan is de schimmel klaar voor gebruik bij stap 2.

## Stap 2: schimmel en bacteriën in dezelfde petrischaal

Wat heb je nodig?

- een flesje Yakult
- een pipet, 1ml
- 4 reageerbuisjes van 10 ml met stoppers
- fysiologische zoutoplossing
- 2 petrischaaltjes met voedingsbodem (agar of zelfgemaakt)
- een steriele entoog of spateltje
- een petrischaal met *Penicillium*-schimmel
- een steriel spateltje
- amoxicilline oplossing (een spatelpuntje poeder in 4ml zoutoplossing)

*TIP: Je kan ook meer petrischaaltjes gebruiken om bijvoorbeeld de effecten van verschillende soorten schimmels met elkaar vergelijken.*

## Hypothese

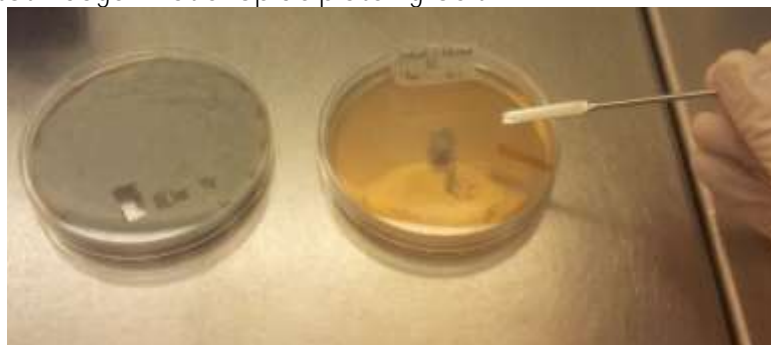
Wat denk je dat je zult zien?

.....

.....

## Aan de slag!

1. Verdun de Yakult over vier reageerbuisen zoals is uitgelegd in de stappen 1 tot en met 6 van proefonderdeel 2.
2. Haal uit de vierde reageerbuis 0,1 ml vloeistof en strijk dit uit in het petrischaaltje. Zorg ervoor dat de deksel snel weer op het schaalje zit, om vervuiling te voorkomen.
3. Gebruik het steriele spateltje om een vierkantje uit de voedingsbodem van de petrischaal met schimmel te snijden. Til het vierkantje voorzichtig op en leg deze ondersteboven op de eerste schaal met bacteriën (zie de foto).
4. Maak ook een tweede plaat met bacteriën. Duw met het entoogje in het midden van de plaat voorzichtig een geultje van 1 cm lang tot halverwege de voedingsbodem. Laat hier een druppeltje (0.1ml) van de amoxicilline oplossing in vallen.
5. Doe de deksels op de petrischaaltjes, sluit ze af met parafilm en leg ze 1 dag in de koelkast met de voedingsbodem omlaag (!). Zet ze daarna op een warme, droge plek met de voedingsbodem naar boven. Hiervoor kan ook een kweekkast of incubator worden gebruikt op 25° Celsius.
6. Kijk na 5 tot 7 dagen wat er op de platen groeit.



## Vragen

**Vraag 1:** Wat zie je gebeuren in het petrischaaltje met de schimmel?

.....

**Vraag 2:** Wat zie je gebeuren in het petrischaaltje met de amoxicilline?

.....

**Vraag 3:** Waardoor zou dit kunnen komen?

.....

.....



## Zelf voedingsbodem maken (gemiddeld niveau)

Voor deze proefjes heb je een voedingsbodem nodig voor in de petrischaaltjes. Dit kan je maken van agar, maar het is ook erg leuk om dit zelf te maken op basis van gelatine. Hier kan je lezen hoe dat moet. De hoeveelheden die hier staan, zijn genoeg voor een liter voedingsbodem, waarmee je wel vijftig petrischaaltjes kan vullen! Het duurt 5 dagen voordat de schaaltes klaar zijn voor gebruik.

Hiervoor heb je nodig:

- 50 petrischaaltjes
- 60 gram gelatine uit 6 pakjes van 6 velletjes (totaal 36 velletjes gelatine)
- 5 blokjes runderbouillon
- 5 eetlepels suiker
- 1 liter water
- een waterkoker
- een bekeerglas of een grote kom met een inhoud van minimaal 1 liter
- een koelkast
- een bekeerglas of een schaal om de gelatinevelletjes te kunnen weken
- een eetlepel
- een roerspatel
- keukenpapier
- aluminiumfolie

Aan de slag!

1. Kook 1 liter water. Ga ondertussen verder met de volgende stappen.
2. Vul een schaal met koud water.
3. Haal de 36 velletjes gelatine los van elkaar. Leg ze samen in de schaal met koud water.
4. Laat de velletjes gelatine ca. 5 minuten weken zodat ze zacht worden.
5. Doe 5 blokjes runderbouillon en 5 eetlepels suiker in een bekeerglas.
6. Schenk het kokende water in de grote kom bij de bouillonblokjes en suiker.
7. Roer het goed door.
8. Knijp de geweekte gelatinevelletjes voorzichtig uit zodat er (bijna) geen water meer in zit.
9. Doe de gelatinevelletjes in het bekeerglas bij de mix van water, bouillon en suiker.
10. Roer alles door totdat de gelatine helemaal is opgelost.
11. Verdeel de vloeistof voorzichtig over de petrischaaltjes en leg zo snel mogelijk de deksels erop. Zo wordt de vloeistof niet vervuild door de lucht.
12. Laat het mengsel volledig tot kamertemperatuur afkoelen.
13. Als het is afgekoeld, zet je ze minimaal 4 dagen in de koelkast. In de koelkast zorgt de gelatine ervoor dat de vloeistof verandert in een niet-vloeibare gelei; de voedingsbodem.

Vier dagen later:

1. Haal de bakjes uit de koelkast.
2. Haal de deksel eraf. Veeg de waterdruppeltjes met een stukje keukenpapier van de deksel.
3. Doe hierna de deksel er weer op. Nu kan je het gebruiken voor een proefje