



Undersøgelse af den konserverende virkning af æteriske olier

I nogle lande er maden ofte stærk krydret med urter da erfaring har vist at madens holdbarhed herved forlænges. Det skyldes at nogle af naturens egne stoffer har en konserverende virkning som hæmmer den mikrobielle vækst af bl.a. gærsvampe. Fx kan nogle duftstoffer som findes i de æteriske olier i planter hæmme væksten af mikroorganismer.

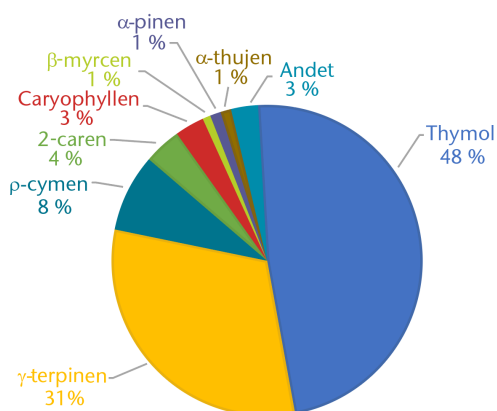
I eksperimentet undersøges betydningen af forskellige æteriske olier for væksten af gærceller. De æteriske olier anbringes på et filterpapir i midten af agarplader hvor der er udstrøget gærceller. Herved kommer cellerne i kontakt med den æteriske olie gennem diffusion. Hæmningszonen opmåles som en diameter på agarpladen.

Der kan fx anvendes en æterisk olie fra timian, fx *Thymus vulgaris* og en æterisk olie fra rosmarin, *Salvia rosmarinus*, der indeholder følgende stoffer:

a.



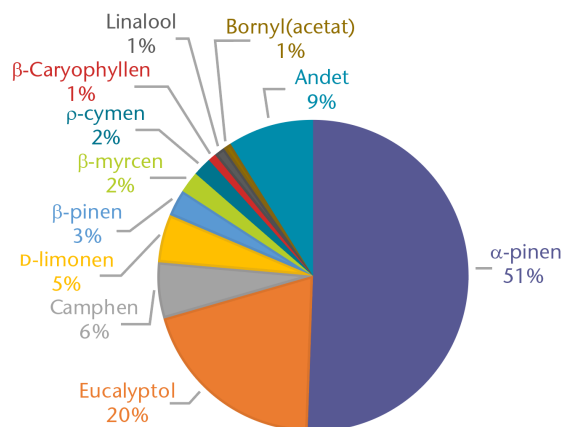
Shutterstock.com/Julitt



b.



Shutterstock.com/pilialoha



Figur 1. a. Timian og b. rosmarin og indhold af æteriske olier i de to planter.

Anvendelse af timian- eller rosmarinolie kan fordeles på forskellige hold.

Eksperimentet forløber over tre lektioner.



Risici og sikkerhed

- Under eksperimentet bæres sikkerhedsbriller, kittel og handsker.
- Der arbejdes sterilt, og arbejdspladsen sprittes af inden arbejdet påbegyndes og efter arbejdet er afsluttet. Alt udstyr og brugte petriskåle autoklaveres efter endt brug.
- Bemærk at ethanol (96 %) er brandfarligt.

Materialer

- YPD-agar
- BlueCap flasker (250 mL)
- Mikroovn
- Petriskåle, sterile
- 2 stk. sterile koniske kolber (100 mL)
- Bagegær
- Podenål, steril
- Rysteinkubator eller vandbad med rystefunktion
- Ethanol (96 %)
- Mikropipetter (20-200 µL)
- Pipettespidser, sterile
- Digralskispatter, sterile
- Filtrerpapir (9 mm)
- Pincetter, sterile
- Æteriske olier fra fx timian eller rosmarin
- Tuscher
- Varmeskab
- Linealer

Fremgangsmåde

Udføres af læreren før 1. lektion

- Afvej 6,5 g YPD-agar i en BlueCap flaske, tilsæt demineraliseret vand op til 100 mL og autoklaver. Lav det antal flasker som der skal være af elevgrupper.

Udføres af læreren dagen før 2. lektion

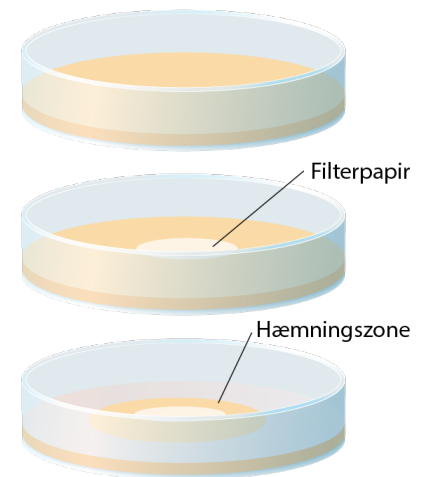
- Udtag med en steril podenål en klump fra midten af en stykke gær der svarer til et knappenålshoved og overfør til 100 mL YPD-medie i en steril 100 mL konisk kolbe. Luk med sterilt stanniol.
- Kulturen anbringes i rysteinkubator eller vandbad med rystefunktion ved 37 °C.

1. lektion

1. Opvarm BlueCap flasken med YPD-agar i mikroovn til den er klar (det blå låg på flasken skal sidde løst) og lad den køle noget af.
2. Støb agarplader med YPD-agar. 100 mL YPD-agar rækker til de 4 plader, som skal anvendes til hvert delforsøg. Lad låget ligge halvt på for at undgå kondensvand.
3. Når agarpladerne er stivnede (det tager ca. 25-30 min) lægges låget helt på og de stables på hovedet oven på hinanden for at undgå kondensvand.

**2. lektion**

1. Overfør 100 μL af gærkulturen til hver plade med en mikropipette med steril spids, og fordel gærcellerne med en digralskispattel.
2. Anbring et filterpapir i centrum af agarpladen med en steril pincet, se figur 3. Tilsæt 0, 20, 40 eller 60 μL af en æterisk olie på filterpapiret.
3. Markér agarpladerne med 0, 20, 40 eller 60 μL .
4. Lad pladerne stå i 1 time ved stuetemperatur og inkubér dem herefter i varmeskab ved 25 °C i 72 timer.
Anbring pladerne med låget opad (for at undgå at filterpapiret falder ned).



Figur 3. Model af petriskål med filterpapir.

3. lektion

1. Opmål hæmningszonen for alle agarpladerne som vist i figur 3. Der måles fra filterpapirets kant ud til hvor hæmningszonen forsvinder. Notér i tabel 1.

Resultater

YPD-plader	A	B	C	D
Volumen af æterisk olie	0 μL	20 μL	40 μL	60 μL
Timianolie, hæmningszone i mm				
Rosmarinolie, hæmningszone i mm				

Tabel 1.

Efterbehandling

1. Angiv om der er en sammenhæng mellem koncentrationen af æterisk olie og hæmningszonen, og om der er forskel på de to typer af æterisk olie.
2. Vurdér resultaterne for hæmningszonerne på agarpladerne.
3. Diskutér fejlkilder for forsøget, og giv forslag til hvordan forsøget kan varieres eller udvides.
4. Anvend fx MarvinSketch til at finde strukturen af molekylerne fra figur 2 (brug funktionen "name to structure"), og vurdér molekylernes evne til at opløses i cellemembranen.
5. Vurdér fordele og ulemper ved at anvende konventionelle konserveringsmidler som fx ethansyre i forhold til at anvende æteriske olier fra planter.

Konklusion

Lav en konklusion hvor der tages stilling til om eksperimentets formål er opfyldt.