



Eksperiment

Gramfarvning

Bakterier kan opdeles i to grupper, *grampositive* og *gramnegative*, efter opbygningen af deres cellevæg. En hurtig metode til at afgøre hvilken gruppe en bakterie tilhører, er gramfarvning. Gramfarvning og dens anvendelse samt opbygningen af den grampositive og gramnegative cellevæg er beskrevet side 20-21 i bogen.

Fremgangsmåden ved gramfarvning er følgende:

- Bakterierne farves med et blåviolet stof.
- Farven bejdses fast med en opløsning der indeholder jod.
- Præparatet affarves med ethanol (alkohol).
- Præparatet farves med et rødt farvestof.

De grampositive bakterier beholder den blåviolette farve trods affarvning med alkohol. De gramnegative mister den blåviolette farve men bliver efterfølgende farvet røde.

Formål

At identificere forskellige bakterier som grampositive eller gramnegative

Materialer

Agarplade med bakteriekolonier fra velkendte og harmløse arter

Podenål

Objektglas

Spritbrænder (evt. bunsenbrænder)

Mikroskop

Krystalvioletoopløsning (1 %)

Jod-jodkaliumopløsning

Ethanol (evt. som husholdningssprit)

Erythrosin-opløsning (0,5 %)

Demineraliseret vand i sprøjteflaske

Trækpapir

Sikkerhed

Væskerne til gramfarvning er stærkt farvende og sundhedsskadelige. Læs derfor grundigt på flaskerne inden brug. Korrekt påklædning under farveprocessen er handsker, kittel og briller.



Fremgangsmåde

1. Anbring en lille dråbe vand på et objektglas og rør 2-3 kolonier ud i dråben med podenålen.
2. Lufttør præparatet og fiksér det ved kortvarig flambering af undersiden. Lav to præparater for hver art af bakterier.
3. Anbring præparaterne i vasken og overhæld hele overfladen med krystalvioletoopløsning. Lad det stå 1 minut, og skyl grundigt med vand.
4. Overhæld nu overfladen med jod-jodkaliumopløsning. Lad det stå 1 minut og skyl grundigt med vand.
5. Hold derefter præparatet skråt og skyl med ethanol til præparatet er affarvet, dog ikke nødvendigvis der hvor bakterien er påført.
6. Skyl efter med vand for at fjerne alkoholen.
7. Anbring igen præparatet i vasken og overhæld hele overfladen med erythrosin-opløsning.
8. Lad det stå 2 min og skyl grundigt med vand.
9. Tør præparatet med trækpapir og undersøg det i mikroskop.

Iagttagelser og resultater

1. Tegn, fotografér eller beskriv de bakteriekolonier du har brugt.
2. Sammenlign præparaterne med figur 17 a og b side 21 i bogen, og tag stilling til om bakterierne er grampositive (violette) eller gramnegative (røde).
3. Beskriv også bakterierne mht. til deres form (kugleformede, stavformede eller skrueformede) og sammenlign disse med figur 12 side 17 i bogen.
4. Sammenlign evt. resultaterne for gramfarvning med beskrivelser af de valgte bakteriearter i lærebøger eller på nettet.

Diskussion

1. Nævn nogle grunde til hvorfor det kan være vigtigt at kunne identificere en bakterie som grampositiv eller gramnegativ.
2. Diskutér hvilke usikkerheder og fejlkilder der kan være ved fremgangsmåden.

Konklusion

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