



BIOLOGIA

CURS D'ESTIU ADREÇAT A PROFESSORAT DE SECUNDÀRIA DE LA FCRI

Guió de practiques

Dades del curs

Docents: Anna Borrull i Gema López (Facultat d'Enologia, URV)

Contacte: activitatsdivulgativesga@gmail.com

Programa

Ús dels estris i material de cuina per fer ciències bio

Introducció

L'assimilació d'aquestes pràctiques farà que els alumnes accedeixin més preparats a graus o cicles formatius de ciències de primer curs. Conceptes bàsics com: fer medis de cultiu per cèl·lules, distingir entre cèl·lules i colònies, fer un banc de dilucions, un seguiment de creixement d'un cultiu, distingir entre cèl·lules eucariotes i procariotes al microscopi etc., estan englobats en aquest apartat.

Esterilitzar material

Per esterilitzar material de vidre o plàstic resistent, buit o amb medi, podem fer servir l'autoclau, l'olla a pressió o el microones. En el cas del microones seran suficients 3 minuts a 900W per un sol pot i incrementarem el temps si tenim més material. També el podem fer servir per esterilitzar escuradents dins d'un pot de vidre. En el cas dels erlenmeyers construirem un tap per tal que es pugui posar al microones sense fer-lo malbé. Per això embolicarem cotó fluix en una gasa i el segellarem amb cinta de carrosser. Aquest tap el posarem a la boca de l'erlenmeyer i tot es pot esterilitzar al microones.

Si el material de plàstic es poc resistent, no podem utilitzar mètodes de calor. En aquest cas l'única solució és esterilitzar posant el material amb llum UV durant 20 minuts.

Com fer un medi per creixement de microorganismes

- Medi líquid

- En el cas dels llevats el medi de creixement serà:

2 cullerades de postres de sucre de taula

½ pastilla de caldo concentrat de pollastre marca hacendado o 2 cullerades del mateix concentrat en pols del comerç xinès.

- En el cas dels bacteris el medi de creixement serà:

TSB (tryptic soy broth) que el podem comprar a cases comercials com ara Sigma o Scharlau per 66€ els 500g. S'afegeix 9g d'aquest medi deshidratat a un pot.

Tan en el medi dels llevats com bacteris, omplirem l'ampolla amb 300mL d'aigua destil·lada (planxa) o en el seu defecte d'aigua de l'aixeta

Bullirem al microones en un pot o tupper alt amb la tapa de plàstic aproximadament 5 minuts. Tapar i conservar en nevera. També es poden autoclavar en una olla a pressió.

- Medi sòlid

Afegir 3g d'agar-agar (no gelatina) dels comerços xinesos (hi ha de colors) a la mescla del medi líquid. Triturar i esterilitzar emprant els mateixos mètodes que al medi líquid.

Avocar el contingut en un tupper pla prèviament esterilitzat o a una placa de petri estèril (es poden reutilitzar les de plàstic esterilitzant-les sota plaques d'UV).

Conservar les plaques dins d'una bossa tancada a la nevera per tal que no s'assequin.

Eines per sembrar en medi líquid o placa petri

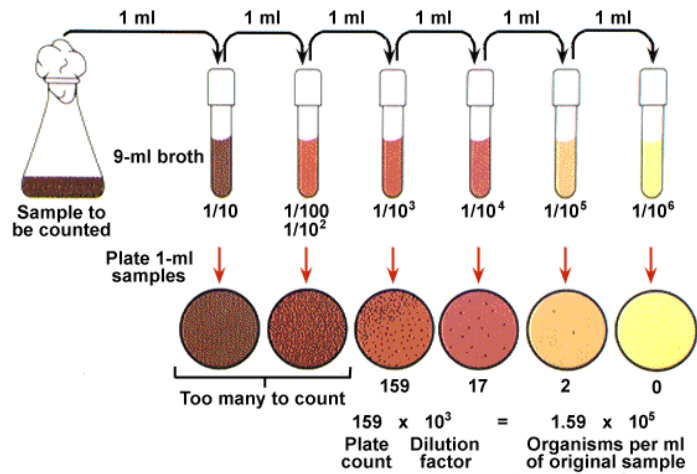
Per inocular en medi líquid a partir d'una colònia podem fer servir escuradents esterilitzats al microones o be amb nansa de sembra feta amb filferro i pinces de la roba.

Per inocular de medi líquid a sòlid podem fer servir la nansa de Digrafsky donant-li forma a la vareta de vidre o amb caniques per sembrar en gespa o la nansa de sembra si volem estriar per esgotament.

Seguiment del creixement dels microorganismes

- Recompte de cèl·lules

- Banc de dilucions i sembra en medi sòlid (cèl·lules viables)

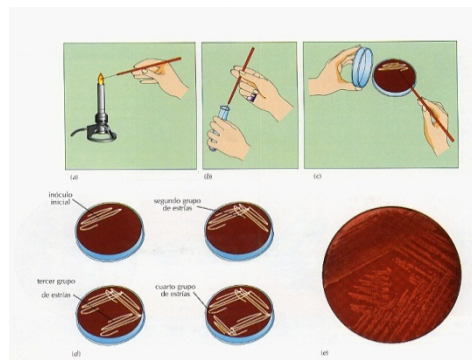


Per tal de obtenir colònies a les plaques sembrarem la dilució escollida amb nansa de Digralsky (recompte de viables). Aquesta tècnica permet fer el recompte de colònies vives abans i després de la imposició d'un estrès. Es fa una sembra per dilució seriada del cultiu inicial i després de l'estrès en diferents plaques amb aquesta nansa. La comparació entre nombre de cèl·lules inicials i després del tractament ens permet obtenir el percentatge de viabilitat.



Identificació dels microorganismes de l'ambient:

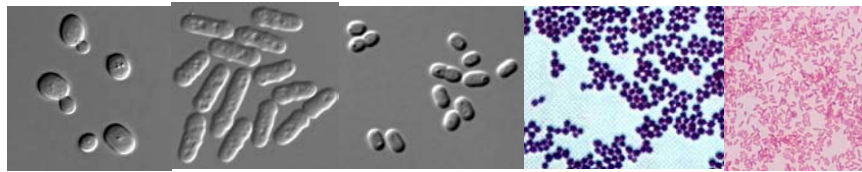
- Sembra per esgotament: obtindrem colònies aïllades dels diferents microorganismes que habiten en un mateix ambient.



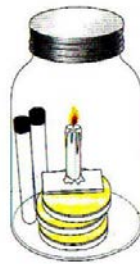
- L'aspecte de la colònia ens indica si estem parlant de bacteris o llevats



- L'observació al microscopi ens pot ajudar a la identificació de la soca. Per exemple la forma que tenen de dividir-se els llevats o la fisiologia dels bacteris.



- Oxigenació: hi ha microorganismes que només poden viure en condicions aeròbiques però no en anaerobiosi; en canvi d'altres són facultatius i poden respirar o fermentar depenent de les condicions del medi. Per comprovar si són facultatius o tenen problemes per fermentar posem les plaques inoculades amb el microorganisme d'estudi a un recipient amb una espelma per tal que consumeixi l'oxigen i el microorganisme es sigui obligat a fermentar.



Quan els microorganismes són bons...

Aquest apartat va dirigit a activitats relacionades amb microorganismes i alimentació. S'ensenyarà com es poden fer aliments gràcies a microorganismes com ara el iogurt i el vi. S'explicarà com fer el seguiment d'una experiència molt innovadora: La creació de vins de fruites. Aprendre com saber quina fruita és la més eficient per ser fermentada i com fer un seguiment de la qualitat del producte que estem obtenint. També farem una activitat per veure altres propietats bones dels microorganismes: Com poden ajudar els llevats a protegir-nos dels mosquits?

Fermentació

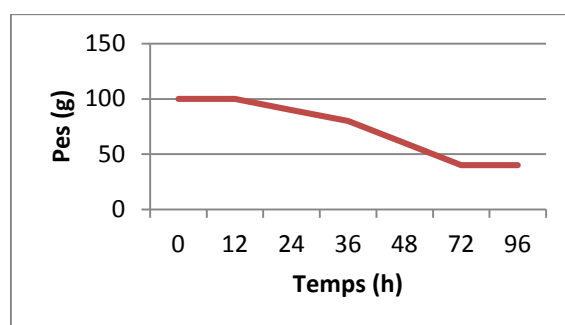
- Fermentació del llevat

A la hora de fer una fermentació podem jugar canviant variables com el tipus de fruita fermentada (ràim blanc o negre o bé comparar la fermentació típica del ràim amb la d'altres fruits diferents), podem modificar la temperatura (estudiar temperatura òptima i veure com fa variar la composició aromàtica del vi final), podem regular l'oxigen que arriba al cultiu (fent un cultiu estàtic i comparant-lo amb un altre amb agitació), podem afegir activadors de la fermentació que s'utilitzen en bodega (per comprovar la seva eficiència), podem mirar com

influeix la contaminació per bacteris acètics en les fermentacions (acabarem tenint vinagre), i així podem anar jugant amb diferents variables.

En tots els casos el procediment a seguir és el següent: Es trituren diferents fruites en el recipient que utilitzarem com a fermentador. S'afegeix 20g/L de sucre de taula i LSA (llevat sec actiu) prèviament rehidratat (1g de LSA rehidratat en 10mL d'aigua serà suficient per fermentar 1L de vi).

Per seguir la fermentació la manera més fàcil és per pèrdua de pes; anem fent mesures del pes fins que s'estabilitza, això vol dir que pràcticament s'hauran acabat els sucres (i per tant no desprenen més diòxid de carboni, que és el que fa baixar el pes del recipient) i la donarem la fermentació per acabada. Un cop finalitzada la fermentació obtindríem una corba d'aquest tipus.



Si tenim algun mètode de valoració o enzimàtic (kit comercial) per mesurar quantitativament la concentració de sucres, comprovarem que tenim menys de 2g/L en acabar la fermentació. El grau alcohòlic al que ha arribat el vi també ens dona una idea de si la fermentació a acabat i de quan sucre s'ha consumit. Podem mesurar-lo amb un ebuliòmetre o bé bullint el vi i mirant a quina temperatura bull, ja que es pot correlacionar.

Per comprovar que s'inicia la fermentació podem fer una petita experiència i posar un globus al coll de l'ampolla i veurem com es van inflant a mesura que avanci la fermentació, aquella fermentació que vagi més ràpida inflarà abans el globus.

Per fer un seguiment de forma quantitativa del creixement cel·lular al llarg de la fermentació podem fer, com s'ha explicat anteriorment un recompte de cèl·lules o de cèl·lules viables. Així com, també, anar agafant alíquotes de diferents punts de la fermentació i fer un anàlisi quantitatiu de la concentració de sucres o del grau d'etanol.

- Fermentació del bacteri làctic:

Inoculem en un tub o pot estèril una culleradeta de iogurt (que conté bacteris làctics) per cada 100mL de cadascuna de les diferents llets a testar. La mesura de pH al llarg de la fermentació ens permet esbrinar quina comença a acidificar abans i per lo tant quina llet i/o quin bacteri làctic es més òptim per dur a terme la fermentació a nivell industrial. Existeixen kits comercials de mesura de pH.



Per fer un seguiment quantitatiu podríem veure com creix la població sembrant en plaques de medi sòlid i fent recompte de cèl·lules viables.

Quan els microorganismes són dolents...

En aquesta part realitzarem un antibiograma per tal d'avaluar el poder desinfectant tant dels medicaments, antibiòtics i detergents fins als remeis més casolans com l'all, farigola, vinagre... Veurem diferents maneres de testar el poder desinfectant dels productes front aquests microorganismes.

Antibiograma

Aquesta tècnica permet tastar la toxicitat d'alguns antibiòtics o remeis casolans en les cèl·lules. Per aconseguir-ho, s'inoculen els microorganismes provinents d'un cultiu líquid sense diluir amb la nansa de Digrafsky. A continuació es fan uns forats al medi i s'afegeix el tòxic a testar.

En la placa de medi sòlid on s'ha sembrat el llevat o bacteri en gespa, farem uns forats amb una palleta de suc prèviament neta amb etanol. Cada forat ha de distanciar-se aproximadament 2-3cm del següent. A cada forat afegirem una solució d'allò que considerem que pot afectar a la viabilitat del microorganisme per testar el poder desinfectant o antibiòtic. Aquestes solucions poden ser des de els antibiòtics més comuns com l'amoxicil·lina a remeis casolans com una infusió d'all o de farigola; altres desinfectants que trobem al mercat com desinfectant de fruites, els productes de neteja més comuns com el lleixiu, etc. Es deixen incubar les plaques a 28°C i podrem observar l'halo d'inhibició.



Bacteris resistent a antibiòtics

Tots sabem que abusar dels antibiòtics és dolent perquè ens diuen que els bacteris "s'acostumen" al medicament. Simplement es basa en el fet de la selecció natural. En aquest apartat farem una selecció de bacteris resistent inoculant-los cada cop en medis amb concentracions més altes del fàrmac i seleccionarem aquells que han desenvolupat mecanismes de defensa per sobreviure.

Biologia molecular

Visualització de l'ADN

- 1) Es tritura el teixit vegetal
- 2) Es mescla 5mL del triturat amb 10mL de tampó refredat en nevera (120mL d'aigua, 1,5g clorur de sodi, 5g bicarbonat sòdic, 5mL detergent líquid)
- 3) S'agita durant 2 min
- 4) Es separa el líquid de les restes de teixit vegetal mitjançant un colador amb gases o un embut amb paper de filtre
- 5) Al líquid filtrat s'afegeix 10mL d'alcohol refredat en nevera
- 6) Afegir unes gotes de blau de metilè
- 7) Introduir una vareta de fusta per la part estellada per pescar l'ADN