

Biotechnologie Protokoll Versuch 1

Einführung in mikrobiologische Arbeitstechniken

Aufgabe: kennen lernen von grundlegenden mikrobiologischen Arbeitstechniken an der Sicherheitswerkbank

1 Nährmedienherstellung, Sterilisation

In einen 500 ml Erlenmeyerkolben werden 200 ml destilliertes Wasser mit einem R2A Medium gekocht und auf 20g/l aufkonzentriert. Anschließend werden die Erlenmeyerkolben mit doppelter Aluminiumfolie verschlossen, autoklaviert (20min 121°C bei 1,03 bar Überdruck) und abgekühlt. Des Weiteren werden Petrischalen bei 160 °C, 2 Stunden im Trockenschrank heißluftsterilisiert.

2 Arbeiten an einer Reinraumwerkbank

Die Sicherheitswerkbank und alle Gegenstände mit denen in ihr gearbeitet wird, werden mit 70%igen Alkohol gereinigt. Die Hände werden mit Sterilium eingerieben und das in der Reinraumwerkbank befindliche UV Licht für 20- 30 Minuten angeschaltet.

- **Gießen von Agarplatten**

Das im Wasserbad (42°C) verflüssigte Agar wird in eine Platte gegossen, wobei die obere Deckplatte nur leicht angehoben werden sollte. Durch das Verschieben der Platten auf einer ebenen Fläche, ist eine gleichmäßige und glatte Verteilung des Agar's gewährleistet.

- **Isolierausstrich**

Beim Isolierausstrich (Verdünnungsausstrich) wird eine Reinkultur mit Hilfe einer vorher ausgeglühten Impföse im Zick-Zack Muster im Arbeitsraum der Reinraumwerkbank auf das verfestigte Nährmedium aufgestrichen, ohne dieses zu beschädigen. Danach erfolgt eine 4-7 tägige Bebrütung bei 30 °C im Brutschrank.

- **Impfstich**

Eine ausgeglühte Impföse, die mit der Reinkultur benetzt wurde, wird in ein Reagenzglas mit festem Nährmedium „gestochen“ und dieses ebenfalls unter gleichen Brütbedingungen wie beim Isolierausstrich im Brutschrank bebrütet.

3 Auswertung

- **Impfstich**

Der Impfstich war erfolgreich, da sich die Hefe im Impfkanal gut entwickelt hat. Daraus folgt, dass sich die Hefe unter anaeroben (im Impfkanal), sowie aeroben (an der Oberfläche des Nährmediums) Bedingungen gut entwickelt → fakultativ anaerob.

- **Isolierausstrich**

Beim Verdünnungsausstrich wurde das Zick-Zack-Streifen Muster anhand der entstanden Bakterienkoloniendichte sichtbar. Mit fortlaufendem Abstrich nahm die entstandene Bakterienkoloniendichte ab. Grund dafür ist die abnehmende Benetzung der Impföse während des Abstriches.