

Biotechnologie Protokoll Versuch 2

Erfassung von Mikroorganismen in der Umwelt

Aufgabe: Erfassung von Mikroorganismen / Keimzahlen

Durchführung:

Mikroorganismen können aufgrund ihrer geringen Größe (0,2-10 Mikrometer) mit bloßem Auge nicht gesehen werden. Deshalb wurden die Mikroorganismen auf ein geeignetes Kulturmedium gebracht (hier R2A und DEV), damit sie sich zu Kolonien vermehren und somit nachgewiesen werden können.

1 Erfassung von Mikroorganismen an verschiedenen Objekten

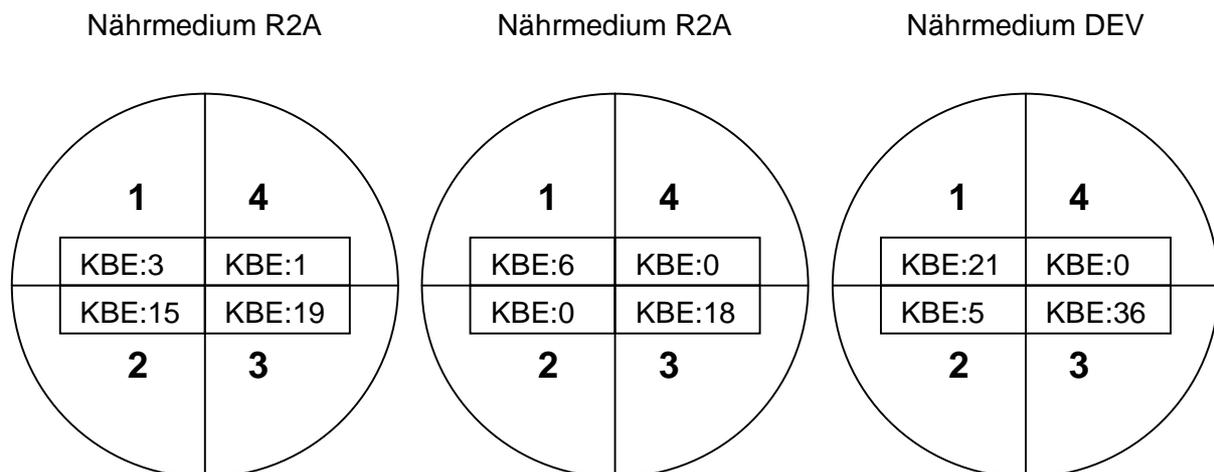
Zwei mit R2A und eine mit DEV aufgetragene Petrischalen wurden jeweils in 4 Quadranten aufgeteilt. Danach wurden in jedem Quadranten unterschiedliche Objekte „abgestrichen“ und 24h bei 30°C im Brutschrank bebrütet.

Auswertung

- 1 Kugelschreiber
- 2 Brille / Ohr
- 3 Handy / Ohr
- 4 Taschenrechner / Tast

- 1 Finger Ungewaschen
- 2 Schlüssel
- 3 Taschentuch
- 4 Feuerzeug

- 1 Finger Ungewaschen
- 2 Schlüssel
- 3 Taschentuch
- 4 Feuerzeug



KBE: (koloniebildende Einheiten)

2 Mikroorganismen in der Luft

Zwei Petrischalen (1-mal R2A und 1mal DEV) wurden an verschiedenen Orten für 20-30 min parallel aufgestellt, danach geschlossen und 24h bei 30°C im Brutschrank bebrütet.

Auswertung

Aufenthaltsraum nach 30 min (nach Bebrütung (44 h) KBE auf Agarplatte gezählt):

R2A: 28 KBE
DEV: 12 KBE

Umrechnung auf KBE pro m²h:

$$\text{Fläche Agarplatte } \varnothing = 8,5\text{cm} : \quad A = \frac{P}{4} d^2 \quad A = 56,74\text{cm}^2$$

$$\text{Umrechnung:} \quad \frac{\text{KBE}}{56,74\text{cm}^2 \cdot 0,5\text{h}} = \frac{2 \cdot (10^2\text{cm})^2}{(\text{m})^2\text{h}} = \frac{352,5 \cdot \text{KBE}}{\text{m}^2\text{h}}$$

R2A pro m²h: 9870 KBE/m²h
DEV pro m²h: 4230 KBE/m²h

Ort	Medium	KBE/m ² h
Fahrstuhl	DEV	5900
	R2A	10500
Aufenthalts-Raum	DEV	4200
	R2A	9800
Toilette	R2A	4600
Whirlpool (nah)	DEV	177000
	R2A	85000
Whirlpool (fern)	DEV	5800
	R2A	3500
Auto	DEV	700
	R2A	1400
Labor	DEV	5800
	R2A	13200
Teich	DEV	23000
	R2A	15800

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass sich bei R2A im Gegensatz zum DEV-Nährmedium mehr KBE angesiedelt haben (außer Teich und Whirlpool), ein Grund dafür ist die Tatsache, dass R2A vom Nährgehalt magerer ist als DEV. Ein fetteres Medium liefert in der Regel geringere Zahl an Keimen. Allgemein geht man von einigen Hundert bis einigen Tausend Luftkeimen in normalen Räumen aus, was sich in den Ergebnissen von Auto, Toilette, Aufenthaltsraum und Fahrstuhl auch gut widerspiegelt. Die sehr hohe Keimzahl beim Whirlpool (nah) ist auf eine starke Aerosolbelastung über der Wasseroberfläche des Pools zurückzuführen.

3 Mikroorganismen im Boden

1g Boden wurde mit 10ml Leitungswasser 10 min bei 100 U/min geschüttelt und dann 5 min sedimentiert. Daraus wurden 2 Verdünnungen hergestellt. Für die Verdünnung A wurde 1ml Bodenlösung mit 9ml sterilem Leitungswasser verdünnt. Für die Verdünnung B wurde 1ml aus der Lösung A wieder mit 9ml sterilem Leitungswasser verdünnt.

Auswertung

Probe A R2A: 133 KBE (Verdünnung 1/1000)
Probe B DEV: 70 KBE (Verdünnung 1/10000)

Probe A R2A: 133000 KBE/g Boden

Probe B DEV: 700000 KBE/g Boden

Durchschnittswerte der Gruppen: Probe A R2A: 267000 KBE/g Boden
Probe B DEV: 620000 KBE/g Boden

Mit zunehmender Verdünnung nehmen die KBE/g Boden zu, da die Wechselwirkungen zwischen den Bakterien abnehmen und diese in der Verdünnung B besser wachsen. Zum Vergleich enthält ein normaler Oberboden 10^3 bis 10^9 Bakterien pro Gramm Trockensubstanz.

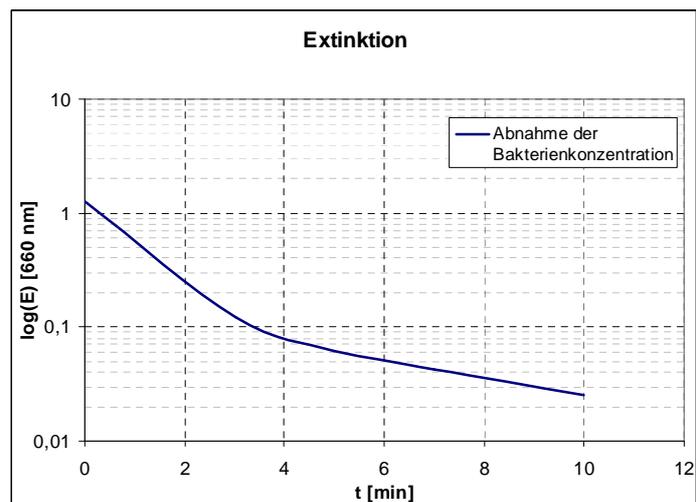
4 Mikroorganismen im Badewasser, desinfizierende Wirkung von UV-Licht

Aus einer Whirlpoolwanne (150 l bei $37,5^\circ\text{C}$) wurde direkt über der Abflussöffnung eine Wasserprobe in einem sterilisierten 100ml Erlenmeyerkolben entnommen und mit Alufolie verschlossen. Dann wurde Whirlpool mit samt UV-Licht eingeschaltet und nach 1, 3, 5, 7, 10 min jeweils wieder 1 Probe mit einem Erlenmeyerkolben entnommen. Von jeder Badewasserprobe wurde 1ml abgenommen und in einem 100ml Erlenmeyerkolben mit 20ml sterilisiertem flüssigem Nährmedium gegeben und in den Brutschrank bei 30°C gestellt. Des Weiteren wurde von jeder Probe jeweils 1ml und 0,1ml in eine sterilisierte Petrischale gegeben. Diese wurden jeweils mit 20-30ml R2A-Agar (aus Schüttelwasserbad bei 48°C) vorsichtig begossen und gut durchmischt. Die Versuchsplatten wurden bis zur Verfestigung des Agar nicht mehr bewegt und in den Brutschrank bei 30°C gestellt.

Auswertung

Extinktionsmessung

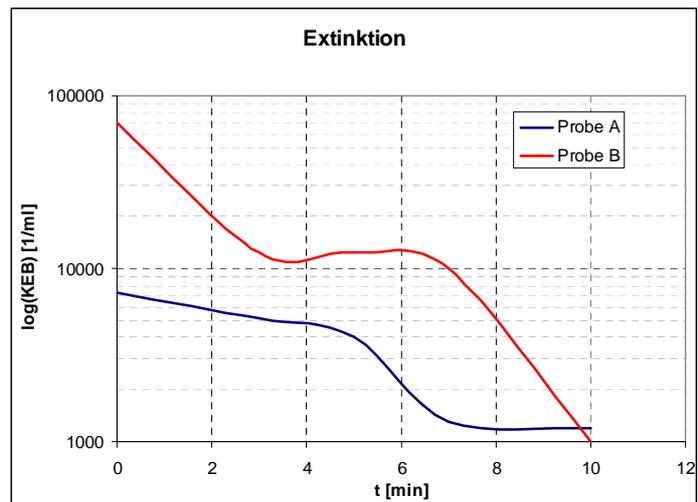
Zeit [min]	Extinktion [660 nm]
UNK t=0	1,4808
0	1,2805
3	0,1205
5	0,0614
7	0,0427
10	0,0251



Nach 10 Minuten UV Licht-Bestrahlung ist die Trübung und damit auch die Bakteriendichte auf $1/60$ des Anfangswerts gesunken und somit die Bakterienanzahl durch das UV Licht erheblich reduziert.

Gussplatten

Zeit [min]	Probe A KEB [1/ml]	Probe B KEB [1/ml]
0	7300	70000
3	5200	12300
5	4000	12300
7	1300	10000
10	1200	1000



Wie auch bei der Extinktionsmessung, ergibt sich beim Gussplattenverfahren eine erheblich reduzierte Keimzahl mit der Zeit. Bei Probe A um 1/7 bei der Probe B um 1/70. Der nach 10 Minuten erreichte Wert von ca. 1000 KEB/ml reicht für Badewasser vollkommen aus, für Trinkwasserqualität müsste die Anzahl der Bakterien aber weiter reduziert werden, bis auf einen Wert < 100 KEB/ml.