

Bertold Sprenger

Umwelt- mikrobiologische Praxis

Mikrobiologische und biotechnische
Methoden und Versuche

Mit 42 Abbildungen



Springer

Inhaltsverzeichnis

A	Einrichtungen und Geräte im Mikrobiologielabor.....	1
1	Sicherheit im Labor.....	3
1.1	Sicherheitseinrichtungen.....	4
1.1.1	Chemikalienschrank.....	4
1.1.2	Abzug.....	5
1.1.3	Reinraum-Werkbank.....	4
1.1.4	Entsorgungsbehälter.....	9
1.1.5	Allgemeine Sicherheitseinrichtungen.....	9
1.1.6	Persönliche Schutzausrüstung.....	10
1.2	Sicheres Verhalten im Labor.....	10
2	Mikrobiologische Arbeitsgeräte.....	13
2.1	Optische Geräte.....	13
2.1.1	Mikroskop.....	13
2.1.2	Fotometer.....	16
2.2	Mechanische Geräte.....	18
2.2.1	Schüttelmaschine.....	18
2.2.2	Magnetrührer.....	21
2.2.3	Bioreaktor.....	22
2.2.4	Vibromischer.....	26
2.2.5	Zentrifuge.....	27
2.3	Thermische Geräte.....	28
2.3.1	Autoklav.....	28
2.3.2	Trockenschrank.....	30
2.3.3	Brutschrank.....	31
2.3.4	Kühlschrank.....	31
2.3.5	Bunsenbrenner.....	32
2.4	Chemisch-physikalische Meßgeräte.....	34
2.4.1	pH-Meter.....	34
2.4.2	CSB-Meßplatz.....	34
2.4.3	TOC-Meßgerät.....	38

2.5	Glasgeräte.....	40
2.6	Kleingeräte.....	42
2.7	Waagen.....	43

B Häufig genutzte Arbeitsmethoden und Medien in der Umweltmikrobiologie.....45

1	Erstellen von Medien.....	47
1.1	Erstellen von Flüssigmedien.....	47
1.2	Erstellen von Agar-Medien.....	48
1.2.1	Agarplatten in Petrischalen.....	49
1.2.2	Schrägar-Röhrchen.....	50
2	Kulturmethoden.....	52
2.1	Standkultur.....	52
2.2	Schüttelkultur.....	53
2.3	Kulturen auf Agar-Nährmedien.....	53
3	Umgang mit beimpften Medien.....	54
3.1	Beschriften von Glas- und Kunststoffgefäßen.....	54
3.2	Anlegen und Bebrüten von Kulturen.....	55
3.3	Lagern von Medien und Kulturen.....	56
4	Wichtige Medien in der Mikrobiologie.....	58
4.1	Vollmedien.....	58
4.1.1	Standard-1-Medium.....	58
4.1.2	PC-Medium.....	59
4.1.3	R2A-Medium.....	59
4.1.4	Malz-Medium.....	60
4.2	Synthetische Medien.....	60
4.2.1	Nährsalzlösung.....	61
4.2.2	Anreicherungs-Zusätze.....	61
4.3	Vitaminlösung.....	62
4.4	Spurenelementlösung.....	62
5	Wichtige Methoden in der Mikrobiologie.....	63
5.1	Anlegen von Präparaten zur Mikroskopie.....	63
5.1.1	Herstellen eines einfachen Flüssigpräparates.....	63
5.1.2	Herstellen von gefärbten Präparaten.....	64
5.1.3	Mikroskopieren der Präparate mit und ohne Immersionsöl.....	65
5.2	Sterilfiltration.....	66
5.3	Beimpfen von flüssigen Medien.....	67
5.4	Beimpfen von Agarmedien.....	67

5.4.1	Einfacher Ausstrich mit der Impföse.....	67
5.4.2	Vereinzelausstrich mit der Impföse.....	68
5.4.3	Ausspateln auf Agaroberfläche mit Glasspatel.....	69
5.4.4	Anlegen einer Schrägagar-Kultur.....	70

C Praktikumsversuche.....71

1	Anreicherung und Isolierung von Mikroorganismen aus festen und flüssigen Probenmaterialien.....	73
1.1	Einführung und Zielvorgabe.....	73
1.2	Versuchsdurchführung.....	75
1.2.1	Probennahme und Probenbehandlung.....	76
1.2.2	Anreicherung von phenolabbauenden Mikroorganismen.....	76
1.2.3	Vereinzelerstellung der Anreicherungskultur.....	77
1.2.4	Anlegen einer Subkultur in Flüssigmedium.....	77
1.2.5	Anlegen einer Reinkultur als Schrägagar-Kultur.....	77
1.3	Aufgaben.....	78
1.4	Fragen zu Anreicherung und Isolierung von Mikroorganismen aus der Umwelt.....	78
2	Quantifizierung von Mikroorganismen aus Probenmaterial.....	79
2.1	Einführung und Zielvorgabe.....	79
2.2	Versuchsdurchführung.....	82
2.2.1	Probennahme und Probenbehandlung.....	82
2.2.2	Anlegen einer Verdünnungsreihe.....	83
2.2.3	Mikroskopische Bewertung der Zellzahl.....	84
2.2.4	Ausspatelung auf einer Agarplatte mit Vollmedium.....	84
2.2.5	Ausspatelung auf einer "Diesel-Agarplatte".....	85
2.2.6	Bestimmung des Feuchtgewichtes von Biomasse.....	85
2.2.7	Bestimmung des Trockengewichtes von Biomasse.....	85
2.3	Aufgaben.....	86
2.4	Fragen zur Quantifizierung von Zellzahl und Biomasse.....	86
3	Erstellen eines Abbauspektrums.....	87
3.1	Einführung und Zielvorgabe.....	87
3.2	Versuchsdurchführung.....	88
3.2.1	Anlegen von Kulturen auf Agarplatten.....	89
3.2.2	Anlegen von Schüttelkulturen.....	89
3.3	Aufgaben.....	90
3.4	Fragen zur qualitativen Abbauleistung von Mikroorganismen.....	90

4	Stoffabbau und Zellentwicklung in einem phenolhaltigen Modellabwasser	91
4.1	Einführung und Zielvorgabe	91
4.2	Versuchsdurchführung	94
4.2.1	Anlegen einer Schüttelkultur mit phenolabbauenden Bakterien und Modellabwasser	94
4.2.2	Bestimmung der Phenolkonzentration als Phenol-Index	94
4.2.3	Bestimmung der Biomasseentwicklung	99
4.3	Aufgaben	100
4.4	Fragen zur Biomasse- und Substratänderung in einfacher Batch-Kultur	100
5	Stoffabbau und Zellentwicklung in einem Zweikomponenten-Modellabwasser mit Bakterien und Hefen als Mischkultur	102
5.1	Einführung und Zielvorgabe	102
5.2	Versuchsdurchführung	103
5.2.1	Anlegen einer Vorkultur aus <i>Saccharomyces cerevisiae</i> in Glukosemedium	104
5.2.2	Anlegen einer Vorkultur mit einem phenolabbauenden Bakterium in Phenol-Medium	104
5.2.3	Quantifizierung der Organismen und Erstellung einer definierten Mischkultur	104
5.2.4	Aufbau eines einfachen Blasensäulen-Reaktors	105
5.2.5	Erfassung der Zucker- und Phenolkonzentration	105
5.2.6	Erfassung des Hefe- und Bakterienwachstums	106
5.3	Aufgaben	107
5.4	Fragen zum Stoffabbau und zur Zellentwicklung in einem Zweikomponenten-System in Batch-Kultur	107
6	Stoffabbau und Biomasseentwicklung in einem realen Abwasser	108
6.1	Einführung und Zielvorgabe	108
6.2	Versuchsdurchführung	110
6.2.1	Beschaffung und Transport des Abwassers	110
6.2.2	Aufbau eines Blasensäulen-Reaktors	111
6.2.3	Erfassung der Biomasseentwicklung	111
6.2.4	Erfassung der CSB/TOC-Konzentration	111
6.2.5	Mikroskopische Beobachtung des Prozesses	111
6.3	Aufgaben	112
6.4	Fragen zum Stoffabbau und zur Biomasseentwicklung in einem realen Abwasser in Batch-Kultur	112

7	Stoffabbau und Zellentwicklung in einem phenolhaltigen Modellabwasser in kontinuierlicher Kultur	113
7.1	Einführung und Zielvorgabe	113
7.2	Versuchsdurchführung	115
7.2.1	Erstellung und Lagerung des Modellabwassers	115
7.2.2	Aufbau einer einfachen Bioreaktoranlage mit kontinuierlicher Betriebsweise	116
7.2.3	Erstellen einer Inokulumskultur	119
7.2.4	Einfahren der Anlage	119
7.2.5	Betrieb der kontinuierlichen Kultur bis zur Auswaschverdünnung	119
7.2.6	Erfassung der Zellentwicklung	120
7.2.7	Erfassung der Phenolkonzentration	120
7.3	Aufgaben	120
7.4	Fragen zur kontinuierlichen Einkomponenten-Kultur	120
8	Stoffabbau und Zellentwicklung in einem Zweikomponenten-Modellabwasser in kontinuierlicher Kultur mit Bakterien und Hefen	122
8.1	Einführung und Zielvorgabe	122
8.2	Versuchsdurchführung	123
8.2.1	Herstellung und Lagerung des Modellabwassers	123
8.2.2	Erstellen der Inokulumskultur	124
8.2.3	Aufbau eines kontinuierlich arbeitenden Bioreaktors	124
8.2.4	Einfahren des Bioreaktors mit phenolabbauenden Bakterien und Phenol als einziger Kohlenstoffquelle	125
8.2.5	Kontinuierlicher Betrieb nach Hefezugabe mit Zweikomponenten-Modellabwasser	125
8.2.6	Erfassung des pH-Wertes	125
8.2.7	Erfassung der Hefe- und Bakterienzellzahl	126
8.2.8	Erfassung der Glukose- und Phenolkonzentration	126
8.3	Aufgaben	126
8.4	Fragen zur kontinuierlichen Kultur im Zweikomponentensystem	126
9	Stoffabbau und Biomasseentwicklung bei der kontinuierlichen Abwasserbehandlung	128
9.1	Einführung und Zielvorgabe	128
9.2	Versuchsdurchführung	129
9.2.1	Beschaffung, Transport und Lagerung des Abwassers	130
9.2.2	Aufbau einer Abwasserbehandlungsanlage nach OECD-Vorgabe	130
9.2.3	Einfahren der Anlage	131
9.2.4	Erfassung des Schlammindexes	132

9.2.5	Erfassung der CSB/TOC-Konzentration.....	132
9.2.6	Mikroskopische Beobachtung der Biomasse.....	133
9.3	Aufgaben.....	133
9.4	Fragen zur mikrobiologischen Abwasserbehandlung.....	133
D	Anregungen zu weiterführenden Versuchen.....	136
1	Biologische Behandlung kontaminierter Böden	137
1.1	Einführung.....	137
1.2	Mineralölabbau in sandigen Böden.....	138
1.3	Zellzahlentwicklung bei der Bodenbehandlung.....	141
1.4	Bestimmung der Bodenatmung.....	144
2	Biologische Abfallbehandlung	147
2.1	Einführung.....	147
2.2	Kompostierung organischer Abfälle.....	148
2.3	Feststellung der mikrobiellen Materialzerstörung.....	150
3	Anaerobe Techniken im Umweltschutz.....	153
3.1	Einführung.....	153
3.2	Anaerobe Abfallbehandlung.....	154
3.3	Anaerobe Abwasserbehandlung.....	157
4	Mikrobiologische Metallentfernung	160
4.1	Einführung.....	160
4.2	Biosorption von Metallen.....	161
4.3	Laugung von Metallen.....	162
5	Toxizitätsuntersuchungen mit mikrobiellen Indikatoren	165
5.1	Einführung.....	165
5.2	Biolumineszenstest.....	166
5.3	<i>Pseudomonas</i> - Wachstumshemmtest.....	167
	Literaturverzeichnis.....	171
	Sachregister.....	175