

---

Eckhard Bast

# Mikrobiologische Methoden

Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken

3., überarbeitete und erweiterte Auflage



**Springer** Spektrum

# Inhaltsverzeichnis

|          |   |          |
|----------|---|----------|
| <b>1</b> | <b>Einleitung</b> .....                                       | <b>1</b> |
| <b>2</b> | <b>Erste Hilfe bei Laborinfektionen</b> .....                 | <b>3</b> |
| <b>3</b> | <b>Sterilisation und Keimreduzierung</b> .....                | <b>5</b> |
| 3.1      | Abtötung durch Hitze .....                                    | 6        |
| 3.1.1    | Feuchte Hitze .....   | 7        |
| 3.1.1.1  | Autoklavieren (Dampfsterilisation) .....                      | 7        |
|          | Der Autoklav .....  | 8        |
|          | Verlauf der Dampfsterilisation .....                          | 9        |
|          | Durchführung der Sterilisation im Laborautoklav .....         | 11       |
|          | Kontrolle der Dampfsterilisation .....                        | 13       |
| 3.1.1.2  | Tyndallisieren .....  | 14       |
| 3.1.1.3  | Kochen, strömender Dampf .....                                | 14       |
| 3.1.2    | Trockene Hitze .....  | 15       |
| 3.1.2.1  | Heißluftsterilisation .....                                   | 15       |
|          | Der Heißluftsterilisator .....                                | 15       |
|          | Vorbereitung und Durchführung der Heißluftsterilisation ..... | 16       |
|          | Kontrolle der Heißluftsterilisation .....                     | 17       |
| 3.1.2.2  | Ausglühen und Abflammen .....                                 | 17       |
|          | Ausglühen .....   | 18       |
|          | Abflammen .....   | 18       |
| 3.2      | Chemische Sterilisation und Desinfektion .....                | 19       |
| 3.2.1    | Sterilisation durch Gase .....                                | 19       |
| 3.2.2    | Desinfektion und Keimreduzierung durch chemische Mittel ..... | 19       |
| 3.2.2.1  | Händedesinfektion .....                                       | 20       |
| 3.2.2.2  | Flächen- und Raumdesinfektion .....                           | 21       |
| 3.2.2.3  | Gerätedesinfektion .....                                      | 22       |
| 3.3      | Bestrahlung .....   | 23       |
| 3.3.1    | UV-Strahlung .....  | 24       |
| 3.4      | Sterilfiltration .....  | 25       |
| 3.4.1    | Sterilfiltration von Flüssigkeiten .....                      | 26       |
| 3.4.1.1  | Filtermaterialien .....                                       | 26       |
| 3.4.1.2  | Filtrationsgeräte .....                                       | 29       |
| 3.4.1.3  | Sterilisation von Filter und Filtrationsgerät .....           | 30       |
| 3.4.1.4  | Durchführung der Sterilfiltration .....                       | 31       |
| 3.4.1.5  | Integritätsprüfung .....                                      | 33       |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 3.4.2    | Sterilfiltration von Gasen .....                                  | 33        |
| 3.4.2.1  | Tiefenfilter .....  | 33        |
| 3.4.2.2  | Membranfilter .....   | 34        |
| <b>4</b> | <b>Steriles Arbeiten – Sicherheit im Labor .....</b>              | <b>37</b> |
| 4.1      | Gefährlichkeit von Mikroorganismen – die Biostoffverordnung ..... | 37        |
| 4.2      | Räumliche Voraussetzungen .....                                   | 41        |
| 4.3      | Grundregeln des sterilen Arbeitens .....                          | 42        |
| 4.4      | Die Reine Werkbank .....  | 45        |
| 4.4.1    | Prinzip, Gerätetypen .....  | 45        |
| 4.4.2    | Ausstattung .....   | 47        |
| 4.4.3    | Überprüfung .....   | 48        |
| 4.4.4    | Regeln für das Arbeiten an der Reinen Werkbank .....              | 49        |
| <b>5</b> | <b>Kultivierung von Mikroorganismen .....</b>                     | <b>51</b> |
| 5.1      | Nährböden .....   | 51        |
| 5.1.1    | Einteilung der Nährböden .....                                    | 51        |
| 5.1.2    | Die Nährbodenbestandteile .....                                   | 55        |
| 5.1.2.1  | Wasser .....  | 55        |
|          | Wasseraufbereitung durch Destillation .....                       | 56        |
|          | Wasseraufbereitung durch Entsalzung .....                         | 56        |
|          | Auffangen und Lagerung des reinen Wassers .....                   | 58        |
| 5.1.2.2  | Kohlenstoff- und Energiequellen .....                             | 58        |
| 5.1.2.3  | Stickstoff- und Schwefelquellen .....                             | 60        |
| 5.1.2.4  | Mineralstoffe .....   | 61        |
| 5.1.2.5  | Wachstumsfaktoren .....   | 64        |
| 5.1.2.6  | Verfestigungsmittel .....   | 69        |
|          | Agar .....  | 69        |
|          | Gellan .....  | 71        |
|          | Gelatine .....  | 72        |
|          | Kieselgel .....   | 72        |
| 5.1.3    | pH-Wert .....   | 74        |
| 5.1.3.1  | Messung und Einstellung des pH-Werts .....                        | 74        |
|          | Das pH-Meter .....  | 74        |
|          | Indikatorfarbstoffe .....   | 80        |
| 5.1.3.2  | Puffer .....  | 81        |
| 5.1.4    | Kommerzielle Komplexnährböden .....                               | 85        |
| 5.1.5    | Herstellung von Nährböden .....                                   | 87        |
| 5.1.6    | Lagerung gebrauchsfertiger Nährböden .....                        | 88        |

|         |  |     |
|---------|--|-----|
| 5.2     | Kulturgefäße .....                                       | 89  |
| 5.2.1   | Die Werkstoffe .....                                     | 90  |
| 5.2.1.1 | Glas .....   | 90  |
| 5.2.1.2 | Kunststoffe .....  | 91  |
| 5.2.2   | Petrischalen, Vielfachschalen .....                      | 94  |
| 5.2.2.1 | Herstellung von Agarplatten .....                        | 94  |
| 5.2.3   | Kulturröhrchen .....                                     | 96  |
| 5.2.3.1 | Schrägagarröhrchen .....                                 | 97  |
| 5.2.4   | Kolben und Flaschen .....                                | 98  |
| 5.2.5   | Verschlüsse .....  | 98  |
| 5.2.5.1 | Watteverschlüsse .....                                   | 99  |
| 5.2.5.2 | Siliconschwammverschlüsse .....                          | 100 |
| 5.2.5.3 | Überwurfkappen .....                                     | 100 |
| 5.2.5.4 | Schraubkappen .....                                      | 101 |
| 5.2.6   | Reinigung der Kulturgefäße und anderer Laborgeräte ..... | 101 |
| 5.2.6.1 | Reinigung neuer Glasgeräte .....                         | 101 |
| 5.2.6.2 | Reinigung gebrauchter Glas- und Kunststoffgeräte .....   | 102 |
|         | Manuelle Reinigung .....                                 | 102 |
|         | Maschinelle Reinigung .....                              | 104 |
| 5.3     | Entnahme von Zellmaterial, Impftechniken .....           | 104 |
| 5.3.1   | Das Impfmateriäl .....                                   | 104 |
| 5.3.2   | Grundregeln des Überimpfens .....                        | 106 |
| 5.3.3   | Impfösen und -nadeln .....                               | 106 |
| 5.3.4   | Pipetten .....   | 111 |
| 5.3.4.1 | Mess- und Vollpipetten .....                             | 111 |
| 5.3.4.2 | Pasteurpipetten .....                                    | 117 |
| 5.3.4.3 | Spritzen .....   | 118 |
| 5.3.5   | Drigalskispatel .....                                    | 118 |
| 5.3.6   | Lederbergstempel .....                                   | 118 |
| 5.4     | Bebrütung .....  | 120 |
| 5.4.1   | Temperatur .....   | 121 |
| 5.4.2   | Licht .....  | 123 |
| 5.4.3   | Aerobe Bebrütung .....                                   | 124 |
| 5.4.3.1 | Oberflächenkultur .....                                  | 126 |
|         | Feste Nährböden .....                                    | 126 |
|         | Zweiphasenkultur .....                                   | 126 |
|         | Deckenkultur .....                                       | 127 |
| 5.4.3.2 | Submerskultur .....                                      | 127 |
|         | Kultur in flacher Schicht .....                          | 128 |
|         | Schütteln .....  | 128 |
|         | Rühren, Einleiten von Luft .....                         | 129 |
| 5.4.4   | Mikroaerobe Bebrütung .....                              | 132 |
| 5.4.5   | Anaerobe Bebrütung .....                                 | 132 |
| 5.4.5.1 | Redoxpotential .....                                     | 133 |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 5.4.5.2  | Das Arbeiten mit Anaerobiern .....   | 134        |
| 5.4.5.3  | Redoxindikatoren .....   | 135        |
| 5.4.5.4  | Zusatz reduzierender Stoffe .....  | 136        |
| 5.4.5.5  | Kultur in hoher Schicht, Flaschenkultur .....  | 137        |
| 5.4.5.6  | Wright-Burri-Röhrchen .....  | 139        |
| 5.4.5.7  | Der Anaerobentopf .....  | 140        |
| <b>6</b> | <b>Anreicherung und Isolierung von Mikroorganismen .....</b>   | <b>145</b> |
| 6.1      | Anreicherungskultur .....  | 145        |
| 6.1.1    | Aerobe freilebende N <sub>2</sub> -Fixierer: <i>Azotobacter chroococcum</i> .....                    | 147        |
| 6.1.2    | Saccharolytische Clostridien .....   | 149        |
| 6.1.2.1  | Kartoffelkultur .....  | 149        |
| 6.1.2.2  | N <sub>2</sub> -fixierende Clostridien: <i>Clostridium pasteurianum</i> .....                        | 150        |
| 6.1.3    | Sulfatreduzierende Bakterien: <i>Desulfovibrio</i> .....   | 152        |
| 6.1.4    | Ammoniakoxidierende Bakterien .....  | 153        |
| 6.1.5    | Farblose schwefeloxidierende Bakterien:<br><i>Thiobacillus thioparus</i> .....                       | 156        |
| 6.2      | Direktisolierung .....   | 157        |
| 6.2.1    | Fluoreszierende Pseudomonaden .....  | 158        |
| 6.2.2    | Aerobe und fakultativ anaerobe endosporenbildende<br>Bakterien: <i>Bacillus, Paenibacillus</i> ..... | 160        |
| 6.2.3    | Milchsäurebakterien aus Milch und Sauermilchprodukten .....  | 164        |
| 6.2.3.1  | Streptokokken .....  | 164        |
| 6.2.3.2  | <i>Lactobacillus</i> -Arten (Auswahl) .....  | 166        |
| 6.2.4    | Schwefelfreie Purpurbakterien .....  | 168        |
| 6.3      | Gewinnung von Reinkulturen .....   | 170        |
| 6.3.1    | Ausstrichverfahren .....   | 172        |
| 6.3.1.1  | Durchführung des Ausstrichverfahrens .....   | 173        |
| 6.3.1.2  | Reinheitskontrolle .....   | 176        |
| 6.3.2    | Schüttelagarkultur .....   | 178        |
| 6.3.3    | Verdünnung in flüssigem Nährmedium .....   | 180        |
| <b>7</b> | <b>Aufbewahrung und Beschaffung von Reinkulturen .....</b>   | <b>183</b> |
| 7.1      | Kurz- und mittelfristige Aufbewahrung .....  | 185        |
| 7.1.1    | Periodisches Überimpfen .....  | 185        |
| 7.1.1.1  | Aufbewahrungsgefäße .....  | 185        |
| 7.1.1.2  | Nährböden .....  | 186        |
| 7.1.1.3  | Überimpfung und Bebrütung .....  | 187        |
| 7.1.1.4  | Lagerung .....   | 187        |
| 7.1.1.5  | Aufbewahrung unter Paraffinöl .....  | 188        |
| 7.1.2    | Trocknen .....   | 189        |
| 7.1.2.1  | Trocknen in Gelatine .....   | 189        |

|          |   |            |
|----------|---|------------|
| 7.2      | Langfristige Aufbewahrung .....   | 192        |
| 7.2.1    | Trocknen unter Vakuum .....   | 193        |
| 7.2.1.1  | Schutzstoffe .....  | 193        |
| 7.2.1.2  | Vakuumtrocknung ohne vorheriges Einfrieren .....                        | 194        |
| 7.2.1.3  | Gefriertrocknung .....  | 198        |
| 7.2.1.4  | Reaktivierung der Trockenkulturen .....                                 | 201        |
| 7.2.2    | Tiefgefrieren .....   | 203        |
| 7.2.2.1  | AufbewahrungsgefäÙe .....   | 204        |
| 7.2.2.2  | Schutzstoffe .....  | 205        |
| 7.2.2.3  | Einfrieren und Lagern im Tiefkühlschrank .....                          | 206        |
| 7.2.2.4  | Aufbewahrung über Flüssigstickstoff .....                               | 208        |
| 7.2.2.5  | Reaktivierung der tiefgefrorenen Kulturen .....                         | 209        |
| 7.3      | Beschaffung der Kulturen von Kultursammlungen .....                     | 211        |
| <b>8</b> | <b>Lichtmikroskopische Untersuchung von Mikroorganismen .....</b>       | <b>215</b> |
| 8.1      | Grundlagen der Lichtmikroskopie .....                                   | 215        |
| 8.1.1    | Vergrößerung .....  | 215        |
| 8.1.2    | Auflösungsvermögen .....  | 216        |
| 8.1.3    | Kontrast .....  | 218        |
| 8.2      | Aufbau des Mikroskops .....   | 218        |
| 8.2.1    | Mechanische Bauteile .....  | 219        |
| 8.2.2    | Abbildende Optik .....  | 220        |
| 8.2.2.1  | Objektive .....   | 220        |
| 8.2.2.2  | Okulare .....   | 223        |
| 8.2.3    | Beleuchtung .....   | 224        |
| 8.2.3.1  | Lichtquellen .....  | 224        |
| 8.2.3.2  | Lichtfilter .....   | 224        |
| 8.2.3.3  | (Hellfeld-)Kondensor .....  | 225        |
| 8.2.3.4  | Köhler'sche Beleuchtung .....   | 226        |
| 8.3      | Das Arbeiten mit dem Mikroskop .....                                    | 227        |
| 8.3.1    | Inbetriebnahme des Mikroskops .....                                     | 227        |
| 8.3.2    | Mikroskopieren im Hellfeld .....  | 229        |
| 8.3.3    | Das Arbeiten mit der Ölimmersion .....                                  | 229        |
| 8.3.4    | Objektträger und Deckgläser .....                                       | 232        |
| 8.3.4.1  | Objektträger .....  | 232        |
| 8.3.4.2  | Deckgläser .....  | 232        |
| 8.3.4.3  | Reinigung .....   | 233        |
| 8.3.5    | Längenmessungen unter dem Mikroskop .....                               | 234        |
| 8.3.6    | Pflege und Reinigung des Mikroskops .....                               | 236        |
| 8.3.7    | Die häufigsten Störungen beim Mikroskopieren<br>und ihre Ursachen ..... | 239        |

|         |   |     |
|---------|---|-----|
| 8.4     | Das Phasenkontrastverfahren .....   | 240 |
| 8.4.1   | Theoretische Grundlagen .....   | 240 |
| 8.4.2   | Voraussetzungen der Phasenkontrastmikroskopie .....                       | 243 |
| 8.4.2.1 | Kondensator .....   | 243 |
| 8.4.2.2 | Objektive .....   | 243 |
| 8.4.2.3 | Lichtquelle .....   | 244 |
| 8.4.2.4 | Präparate .....   | 244 |
| 8.4.2.5 | Einschlussmittel .....  | 244 |
| 8.4.3   | Einstellen des Phasenkontrastmikroskops .....                             | 245 |
| 8.4.4   | Besonderheiten des Phasenkontrastbildes .....                             | 246 |
| 8.4.4.1 | Haloeffekt .....  | 246 |
| 8.4.4.2 | Farbstiche .....  | 247 |
| 8.5     | Untersuchung lebender Bakterien und Hefen .....                           | 247 |
| 8.5.1   | Einfaches Lebendpräparat .....  | 248 |
| 8.5.1.1 | Prüfung auf Beweglichkeit .....   | 250 |
| 8.5.2   | Immobilisierung der Zellen im Lebendpräparat .....                        | 251 |
| 8.5.3   | Färbungen am Lebendpräparat .....   | 253 |
| 8.5.3.1 | Nachweis organischer Speicherstoffe .....                                 | 253 |
|         | Polysaccharide .....  | 253 |
|         | Lipide .....  | 254 |
| 8.5.3.2 | Darstellung von Kapseln durch Negativfärbung .....                        | 254 |
| 8.5.4   | Objekträgerkultur .....   | 256 |
| 8.6     | Untersuchung fixierter und gefärbter Bakterien (klassische Färbungen) ... | 258 |
| 8.6.1   | Allgemeine Methoden .....   | 258 |
| 8.6.1.1 | Herstellung und Fixierung von Ausstrichpräparaten .....                   | 258 |
| 8.6.1.2 | Die Farbstoffe .....  | 260 |
| 8.6.1.3 | Durchführung der Färbung, Untersuchung<br>des gefärbten Präparats .....   | 262 |
| 8.6.2   | Einfache Färbungen .....  | 264 |
| 8.6.2.1 | Färbung mit Methyleneblau .....   | 264 |
| 8.6.2.2 | Färbung mit Kristallviolett .....   | 265 |
| 8.6.2.3 | Färbung mit Karbolfuchsin .....   | 265 |
| 8.6.3   | Differentialfärbungen .....   | 266 |
| 8.6.3.1 | Gramfärbung .....   | 266 |
|         | KOH-Test .....  | 269 |
|         | L-Alanin-Aminopeptidase-Test .....  | 270 |
| 8.6.3.2 | Färbung säurefester Stäbchen (Ziehl-Neelsen-Färbung) .....                | 271 |
| 8.6.4   | Cytologische Färbungen .....  | 273 |
| 8.6.4.1 | Endosporenfärbung .....   | 273 |
| 8.6.4.2 | Nachweis von Polyphosphatgranula .....                                    | 275 |
| 8.6.4.3 | Geißelfärbung .....   | 277 |

|         |   |            |
|---------|---|------------|
| 8.7     | Das Epifluoreszenzmikroskop .....   | 282        |
| 8.7.1   | Theoretische Grundlagen .....   | 282        |
| 8.7.2   | Optische Teile des Epifluoreszenzmikroskops .....   | 283        |
| 8.7.2.1 | Strahlengang .....  | 283        |
| 8.7.2.2 | Objektive .....   | 285        |
| 8.7.2.3 | Okulare .....   | 286        |
| 8.7.2.4 | Lichtquellen .....  | 286        |
| 8.7.2.5 | Lichtfilter .....   | 290        |
|         | Absorptionsfilter .....   | 290        |
|         | Interferenzfilter .....   | 290        |
|         | Erregungsfilter .....   | 291        |
|         | Sperrfilter .....   | 292        |
|         | Strahlenteiler .....  | 293        |
|         | Kennzeichnung der Filter .....  | 293        |
|         | Filterblocks .....  | 294        |
|         | Rotabsorptionsfilter .....  | 294        |
|         | Neutralfilter .....   | 295        |
|         | Wärmeschutzfilter .....   | 295        |
| 8.7.3   | Bedingungen für das Arbeiten mit dem<br>Epifluoreszenzmikroskop .....                         | 295        |
| 8.7.4   | Kombination der Epifluoreszenzmikroskopie mit anderen<br>lichtmikroskopischen Verfahren ..... | 296        |
| 8.7.5   | Konfokale Laserscanning-Mikroskopie .....   | 297        |
| 8.8     | Färbung mit Fluoreszenzfarbstoffen .....  | 297        |
| 8.8.1   | Die Fluoreszenzfarbstoffe .....   | 297        |
| 8.8.1.1 | Übersicht .....   | 297        |
| 8.8.1.2 | Einfluss der Umgebung auf die Eigenschaften der<br>Fluoreszenzfarbstoffe .....                | 299        |
| 8.8.1.3 | Wirkung der Fluoreszenzfarbstoffe auf die Zellen .....  | 300        |
| 8.8.1.4 | Metachromasie .....   | 301        |
| 8.8.1.5 | Nucleinsäurefarbstoffe .....  | 301        |
| 8.8.1.6 | Membranpotentialindikatoren .....   | 304        |
| 8.8.1.7 | Esterasesubstrate .....   | 306        |
| 8.8.1.8 | Ausbleichen („Photobleaching“)<br>Antifade-Reagenzien .....                                   | 306<br>307 |
| 8.8.2   | Fluoreszenzfärbungen .....  | 311        |
| 8.8.2.1 | Einfache Fluoreszenzfärbungen .....   | 311        |
|         | Färbung mit <i>BacLight Green</i> bzw. <i>BacLight Red</i> .....                              | 312        |
| 8.8.2.2 | Fluoreszenzgramfärbung .....  | 313        |
| 8.8.2.3 | Fluoreszenzfärbung säurefester Stäbchen .....   | 315        |



|          |  |            |
|----------|--|------------|
| <b>9</b> | <b>Bestimmung der Zellzahl und Zellmasse in Populationen einzelliger Mikroorganismen</b> ..... | <b>319</b> |
| 9.1      | Bestimmungsfehler .....  | 319        |
| 9.1.1    | Zufällige Fehler .....   | 319        |
| 9.1.1.1  | Mittelwert, Streuungsmaße .....  | 320        |
| 9.1.1.2  | Konfidenzintervall des Mittelwerts .....   | 322        |
| 9.1.1.3  | Poissonverteilung .....  | 324        |
| 9.1.2    | Systematische Fehler .....   | 325        |
| 9.2      | Bestimmung der Zellzahl .....  | 326        |
| 9.2.1    | Gewinnung und Aufbereitung der Proben .....  | 326        |
| 9.2.1.1  | Probenahme .....   | 326        |
|          | Auswahl der Proben .....   | 326        |
|          | Entnahme und Aufbewahrung der Proben .....   | 327        |
| 9.2.1.2  | Dispergieren und Verdünnen der Proben .....  | 328        |
|          | Dispergiervverfahren .....   | 329        |
|          | Anlegen von Verdünnungsreihen .....  | 331        |
| 9.2.2    | Bestimmung der Gesamtzellzahl .....  | 335        |
| 9.2.2.1  | Mikroskopische Zellzählung in einer Zählkammer .....   | 335        |
|          | Die Zählkammer .....   | 335        |
|          | Vorbereitung der Probe .....   | 336        |
|          | Durchführung der Zellzählung .....   | 338        |
|          | Berechnung des Zählergebnisses .....   | 340        |
| 9.2.2.2  | Mikroskopische Zellzählung auf einem Membranfilter .....                                       | 340        |
|          | Probenmenge, Filter .....  | 341        |
|          | Farbstoffe, Färbung und Auszählung .....   | 343        |
|          | Durchführung der Zellzahlbestimmung .....  | 344        |
|          | Berechnung des Zählergebnisses .....   | 348        |
|          | „Vitalfärbungen“ .....   | 349        |
|          | Vitalfärbung mit SYTO 9 und Propidiumiodid .....   | 351        |
| 9.2.2.3  | Elektronische Zellzählung: der Coulter-Counter .....   | 354        |
|          | Messprinzip .....  | 354        |
|          | Vorteile und Grenzen der Methode .....   | 355        |
|          | Zähllösungen, Verdünnen der Zellsuspension .....   | 356        |
| 9.2.3    | Bestimmung der Lebendzellzahl (Keimzahl) .....   | 356        |
| 9.2.3.1  | Dispersions- und Verdünnungsmittel .....   | 357        |
| 9.2.3.2  | Plattenverfahren .....   | 358        |
|          | Gussplattenverfahren .....   | 359        |
|          | Spatelplattenverfahren .....   | 361        |
|          | Auszählung der Kolonien .....  | 363        |
|          | Berechnung des Zählergebnisses .....   | 364        |
| 9.2.3.3  | Schüttelagarkultur im Hochschichtröhrchen .....  | 366        |

|         |   |     |
|---------|---|-----|
| 9.2.3.4 | Membranfiltertechnik .....  | 366 |
|         | Filter .....  | 367 |
|         | Filtrationsgeräte .....   | 369 |
|         | Probenmenge .....   | 371 |
|         | Nährböden .....   | 371 |
|         | Filtration .....  | 372 |
|         | Auswertung .....  | 374 |
|         | Dokumentation .....   | 376 |
| 9.2.3.5 | Bestimmung der „wahrscheinlichsten Keimzahl“<br>(„most probable number“) .....        | 376 |
|         | Prinzip, Durchführung .....   | 376 |
|         | Verteilungstyp, Genauigkeit .....   | 378 |
|         | Verwendung und Nachteile der Methode .....  | 379 |
| 9.3     | Bestimmung der Zellmasse .....  | 380 |
| 9.3.1   | Bestimmung der Feuchtmasse .....  | 381 |
| 9.3.2   | Bestimmung der Trockenmasse .....   | 381 |
| 9.3.2.1 | Trockenmassebestimmung mit Abtrennung der Zellen<br>durch Zentrifugation .....        | 382 |
|         | Grundlagen der Zentrifugation .....   | 382 |
|         | Die Zentrifuge .....  | 383 |
|         | Rotoren .....   | 384 |
|         | Zentrifugengefäße .....   | 385 |
|         | Durchführung der Bestimmung .....   | 388 |
| 9.3.2.2 | Trockenmassebestimmung mit Abtrennung<br>der Organismen durch Membranfiltration ..... | 391 |
|         | Filter .....  | 391 |
|         | Durchführung der Bestimmung .....   | 392 |
| 9.3.2.3 | Systematische Fehler .....  | 394 |
| 9.3.3   | Proteinbestimmung .....   | 395 |
| 9.3.3.1 | Ernte der Zellen .....  | 396 |
| 9.3.3.2 | Biuretmethode .....   | 396 |
|         | Prinzip .....   | 396 |
|         | Durchführung .....  | 397 |
|         | Störende Substanzen .....   | 399 |
|         | Bewertung der Methode .....   | 400 |
| 9.3.3.3 | Methode nach Lowry et al. ....  | 400 |
|         | Prinzip .....   | 400 |
|         | Durchführung .....  | 401 |
|         | Berechnung des Proteingehalts .....   | 403 |
|         | Störende Substanzen .....   | 405 |
|         | Bewertung der Methode .....   | 405 |
| 9.3.4   | Trübungsmessung .....   | 405 |
| 9.3.4.1 | Grundlagen der Trübungsmessung .....  | 406 |

## Inhaltsverzeichnis

|           |   |            |
|-----------|---|------------|
| 9.3.4.2   | Das Photometer .....                                      | 408        |
|           | Lichtquellen .....  | 409        |
|           | Monochromator .....                                       | 410        |
|           | Lichtfilter .....   | 410        |
|           | Probenraum .....  | 411        |
|           | Strahlungsdetektor .....                                  | 411        |
|           | Einstrahl-/Doppelstrahlphotometer .....                   | 411        |
|           | Anforderungen an das Photometer bei Trübungsmessungen ..  | 412        |
| 9.3.4.3   | Küvetten .....  | 414        |
|           | Küvettenmaterialien .....                                 | 414        |
|           | Form und Größe von Küvetten .....                         | 415        |
|           | Handhabung und Reinigung von Küvetten .....               | 416        |
| 9.3.4.4   | Durchführung der Trübungsmessung .....                    | 417        |
|           | Vorbereitung der Proben .....                             | 417        |
|           | Wahl der Wellenlänge .....                                | 418        |
|           | Messbereich .....   | 419        |
|           | Messung .....   | 419        |
|           | Aufstellung einer Eichkurve .....                         | 420        |
|           | Einfluss des Brechungsindex auf die Trübungsmessung ..... | 422        |
| <b>10</b> | <b>Weiterführende Literatur .....</b>                     | <b>423</b> |
| 10.1      | Allgemeine und zusammenfassende Literatur .....           | 423        |
| 10.1.1    | Lehrbücher .....  | 423        |
| 10.1.2    | Lexika, Wörterbücher .....                                | 425        |
| 10.2      | Spezielle Literatur .....                                 | 426        |
| <b>11</b> | <b>Bezugsquellen .....</b>                                | <b>435</b> |
|           | <b>Konzentrations- und Gehaltsangaben .....</b>           | <b>437</b> |
|           | <b>Verwendete Zeichen und Abkürzungen .....</b>           | <b>439</b> |
|           | <b>Abbildungsnachweis .....</b>                           | <b>445</b> |
|           | <b>Sachverzeichnis .....</b>                              | <b>447</b> |