



Wachstumskurve von *Escherichia coli*

Praktikum Mikrobiologie – Versuch 7
16.03.2017, Tag 4

Julia Heise

Wachstumskurve

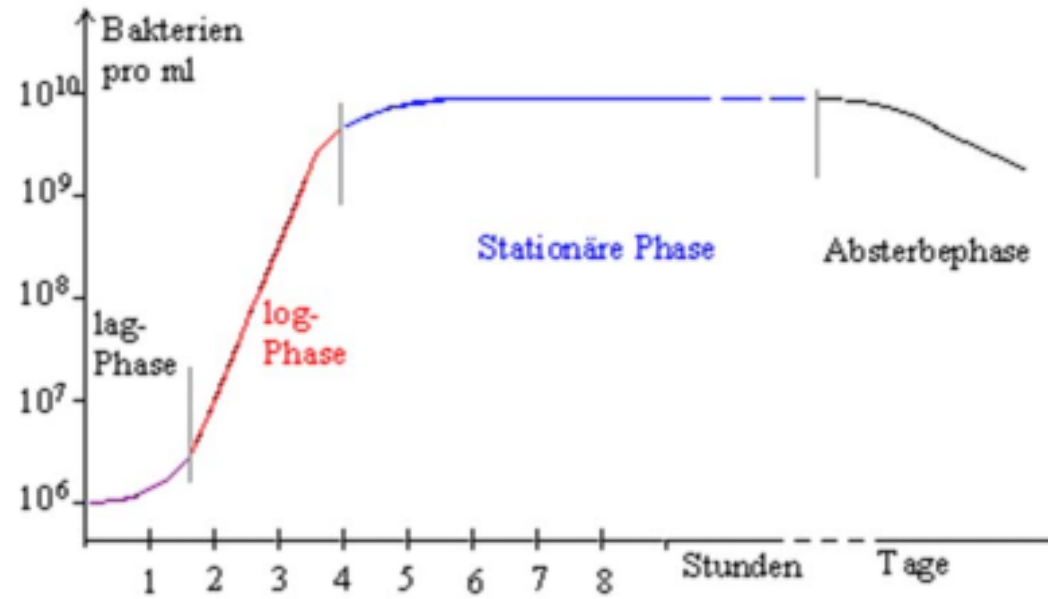


Abb. 7.1. Wachstumskurve einer Bakterienkultur.

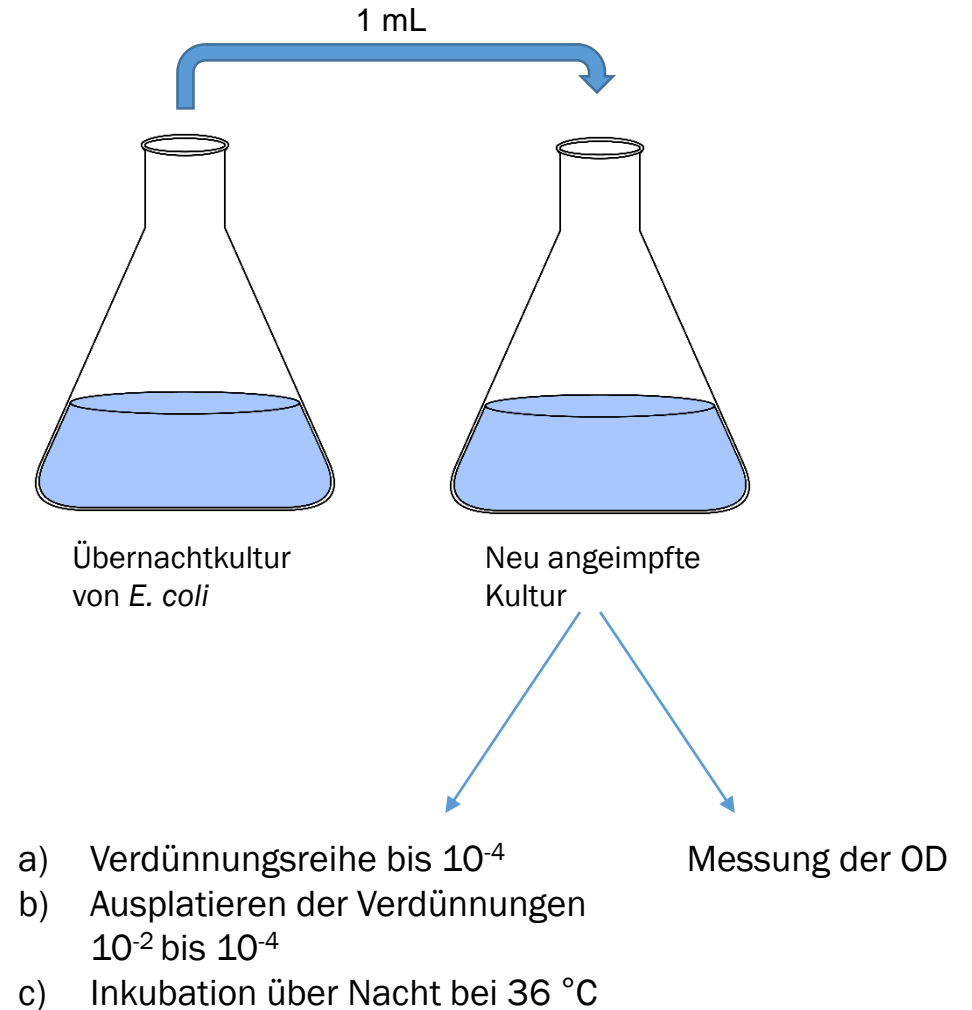
Der Versuch



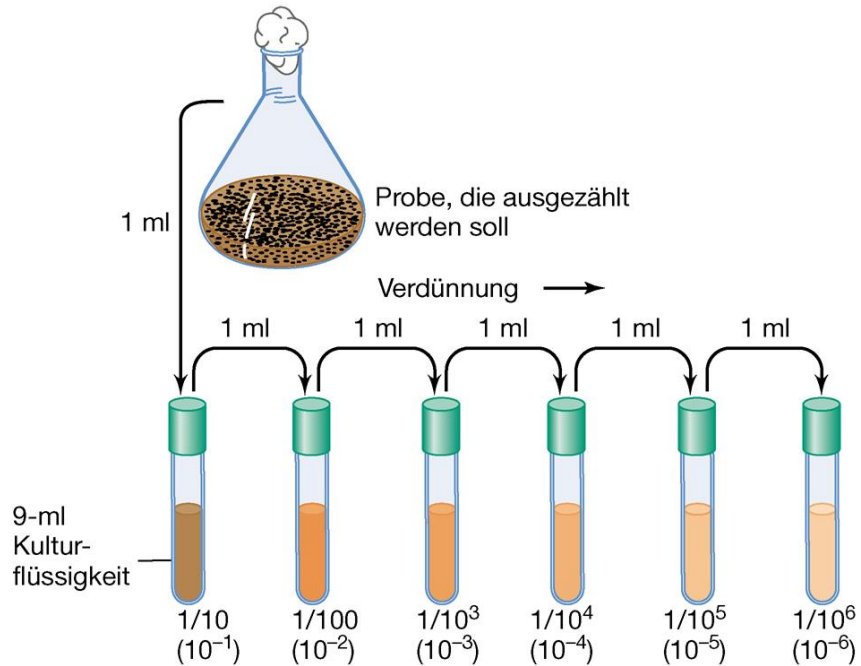
- Ziel des Versuchs:

- Erstellung einer Wachstumskurve von *E. coli*
- Bestimmung der KBE/mL
- Bestimmung der optischen Dichte

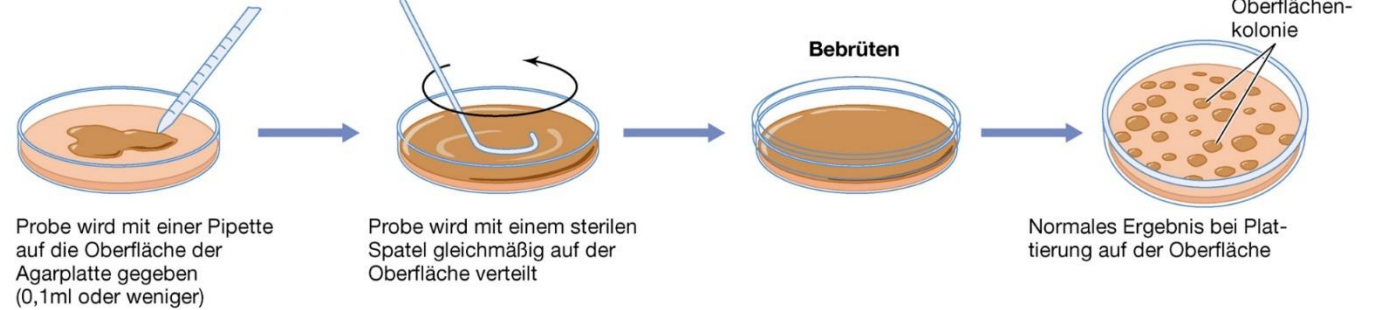
- Zu Beginn (9:00 Uhr) 100 ml LB-Medium mit 1 ml einer *E. coli*-Übernachtskultur animpfen



Koloniezahlbestimmung



Oberflächenplattierungsverfahren



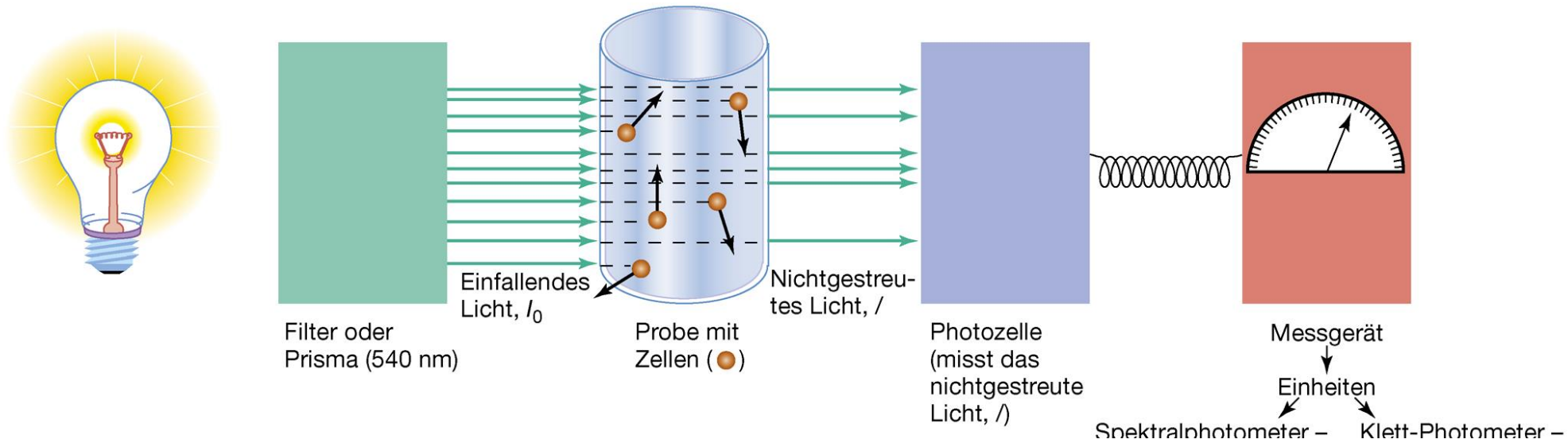
Abflämmen des Spatels nach jeder Platte!

- Spatel in Ethanol tauchen und an der Flamme entzünden
- Spatel SOFORT wieder aus der Flamme nehmen und Ethanol verbrennen lassen
- Warten bis Spatel abgekühlt ist, dann ausplattieren

Platten beschriften: Gruppe, Versuch, Verdünnungsstufe

Auswertbare Platten: zwischen 10 und 300 KBE

Trübungsmessung



- Prinzip der Trübungsmessung:

Die Intensität der einfallenden Strahlung nimmt aufgrund der Streuung an Partikeln (Bakterien) durch die Probe hindurch ab. Gemessen wird das nicht gestreute Licht mit einem Photometer.

- Unter bestimmten Voraussetzungen ist die Lichtstreuung proportional zur Zelldichte

Gesetz nach LAMBERT-BEER

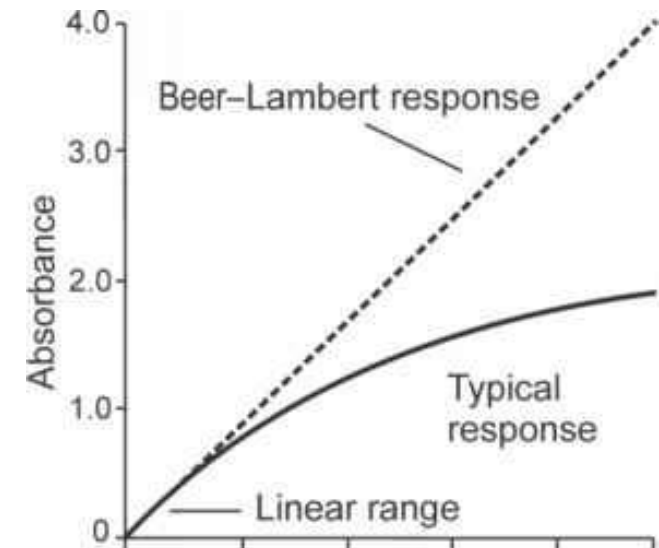
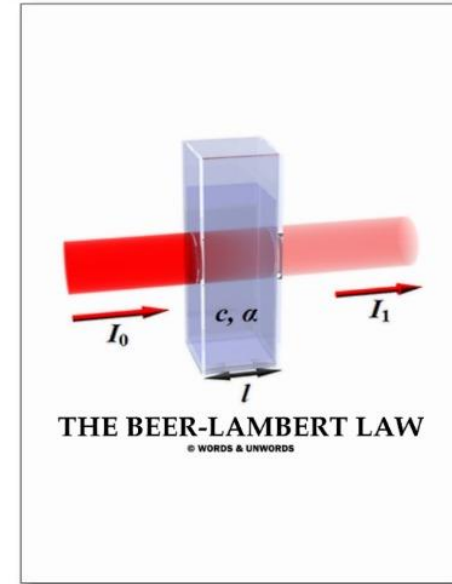
Grundlegende Messgröße ist die Extinktion:

$$E = \varepsilon \cdot d \cdot c$$

mit: E = Extinktion
 ε = Extinktionskoeffizient
d = Schichtdicke
c = Zelldichte

Dieser Zusammenhang gilt nur für eine geringe Zelldichte!

→ Verdünnung ab OD > 0,5 (!)



Bestimmung der KBE/mL

Vorgehen (gemeinsam von einer Laborbank):

- Zur Ermittlung der KBE/mL wird alle 60 min eine Probe genommen
- Verdünnungsreihe
→ siehe Tabelle für Verdünnungsstufen
- Ausspateln der Verdünnungen in Doppelbestimmung
- Inkubation bei 36 °C
- Ergebnisse am nächsten Tag in die Tabelle eintragen (hängen aus)
- Benutzte Reagenzgläser zum Autoklavieren stellen (Beschriftung abwischen!)

Probenahmezeit	Anzahl der Kolonien			KBE/mL
0 h	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	
2 h	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
3 h	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	
4 h	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
5 h	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
6 h	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
6.5 h	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
7 h	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	

OD-Messung

Vorgehen (gemeinsam von einer Laborbank):

- Die OD₆₀₀ wird alle 30 min gemessen
- Verdünnung ab OD > 0,5 (!)
- Werte **sofort** nach der Messung in die Tabelle eintragen (liegen/hängen an den OD-Stationen aus)
- LB medium zum Verdünnen und Nullabgleich befindet sich an den OD-Stationen
- Zellsuspension nach der Messung in den Flüssigabfall, Küvette in den Tischaufklavenbeutel

Probenahmezeit	Zeit	Gruppe	OD (gemessen)	Verdünnung
0 h				
1 h		Betreuer		
1.5 h				
2 h				
2.5 h				
3 h	12:02	23	0,14	1:10
3.5 h		Betreuer		
4 h				
4.5 h				
5 h				
5.5 h				
6 h				
6.5 h				
7 h				

Auswertung



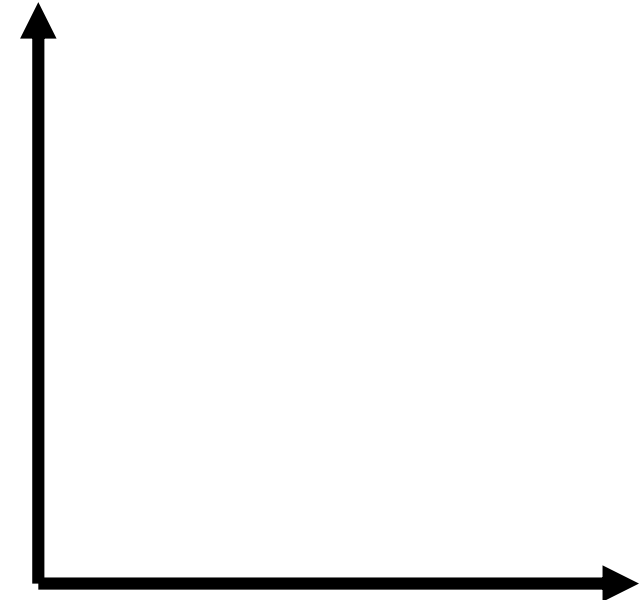
Bestimmung der Koloniebildenden Einheiten

- Erstellung einer Wachstumskurve: KBE/mL gegen t
- Bei der Berechnung die Verdünnungsstufe und das Volumen zum Auspateln beachten

OD-Messungen

- Erstellung einer Wachstumskurve: OD_{600} gegen t
- Bei der Berechnung Verdünnung beachten:
 - Erste Messung liefert $OD = 1,2 \rightarrow$ Verdünnung, da $OD > 0,5$
 - 1:10 Verdünnung liefert 0,14
 - \rightarrow OD der Ausgangssuspension = 1,4

Beschriftung!



Beschriftung!

Legende