

Stephanie [REDACTED]
BTA-UH 1
Gruppe A
Partner: Ljiljana [REDACTED]

Einzelprotokoll
über den Versuch

„MPN-Verfahren“

wahrscheinlichste Keimzahl

Mikrobiologisches Praktikum
Berufskolleg Kartäuserwall
Kartäuserwall 30, Köln

Hr. Reckendorfer

Keimzahlbestimmung durch das MPN-Verfahren

Aufgabe

Die MPN-Methode liefert auf statistischem Wege einen groben Schätzwert der Lebendzellzahl in einer Probe. Sie findet vor allem bei sehr niedrigen Konzentrationen Anwendung, z.B. bei Wasserproben, Lebensmitteln oder pharmazeutischen Produkten. Gemessen wird die Trübung der beimpften Röhrrchen unterschiedlicher Verdünnungen. Die Zahl der getrübbten Röhrrchen liefert den Wert.

Versuchsaufbau

1. *Mikroorganismen:* Keime in Aquarienwasser

2. *Medium:*

	Originalrezept	Umrechnung für 130 ml
Aqua dest.	1000 ml	130 ml
Nährboullion 8,0 g		1,04 g

3. *Geräte und Chemikalien:*

- Pepton aus Fleisch 5g / Fleischextrakt 3g, von Merck
- 14 Kulturröhrrchen
- Erlenmeyerkolben
- Messzylinder
- Präzisionswaage

Durchführung

- benötigte Gefäße bei 128°C 20 min autoklavieren
- 1,04g Nährboullion in 130 ml Aqua dest. lösen
- pH-Wert 7,0 einstellen
- Nährmedium ebenfalls im Autoklav sterilisieren
- das Aquarienwasser wird im Verhältnis 1:20 verdünnt
- die 14 Röhrrchen mit je 9 ml Boullion befüllen
- Röhrrchen 1-3 sind Leerkontrollen
- Röhrrchen 4-6 und 13 werden mit je 1 ml Aquarienwasser beimpft = 1:10
- Röhrrchen 7-9 und 14 werden mit je 1 ml aus Röhrrchen 13 beimpft = 1:100
- Röhrrchen 10-12 werden mit je 1 ml aus Röhrrchen 14 beimpft = 1:1000
- die Röhrrchen werden 48 Stunden bei 37°C im Brutschrank bebrütet
- die Trübung der Röhrrchen wird festgestellt und mit den vorgegebenen Tabellen verglichen

Beobachtung

Verdünnung	V-1	V-2	V-3
Proben	4	7	10
	5	8	11
	6	9	12
Trübung	3 x	2 x	1 x

Im Vergleich zu dem Leerproben waren in der ersten Reihe 3 Röhrrchen getrübt, in der zweiten Reihe 2 und in der letzten Reihe nur eines. Die Trübung ist nach zwei Tagen im Brutschrank deutlich sichtbar von den negativen Röhrrchen zu unterscheiden.

Auswertung

Schlägt man diese Kombination in einer MPN-Tabelle nach, so erhält man als Ergebnis, dass sich in 1 ml unserer Probe näherungsweise 150 Keime befinden. Diesen Zahlenkombination 321 bezeichnet man als die Stichzahl. Der Titer der Probe würde also 1/150 betragen.

Fehlerdiskussion

Damit die Verdünnungsreihe gelingt, muss man nach jeder Verdünnung eine frische, sterile Pipette verwenden. Sonst können Zellen in höhere Verdünnungen verschleppt werden. So würde das Ergebnis verfälscht.