



Luftkeime: Fangplattenversuch Wie keimreich ist die Luft im Braukeller?

BrauLabor 26 Luftkeime:

Isolierung von Keimen aus der Braukellerluft

Aufwand: mittel	Material: mittel	Zeit: mittel	Experimenttyp: forschendes Experimentieren	Anspruch: mittel
---------------------------	----------------------------	------------------------	--	----------------------------

Einführung

Der folgende Versuch zeigt, warum steriles oder zumindest strikt keimarmes Arbeiten auch im Braukeller notwendig ist. Mikroorganismen* und deren Sporen* befinden sich nicht nur im Wasser, im Boden, an Gegenständen und auf Lebensmitteln (Malz!), an Körperoberflächen (z.B. Hände) oder in anderen Substraten, sondern auch in der Luft. In feuchten Räumen kann man hauptsächlich Schimmelpilze aus der Raumluft isolieren. Beim Brauprozess ist vor allem die zuckerreiche Bierwürze kontaminationsanfällig, aber auch im Verlaufe der Gärung und Abfüllung der Flaschen können unerwünschte Keime ins Bier gelangen (siehe "Mikrobiologische Grundlagen > 2.3. Nährmedien für ausgewählte Bakterienstämme > 2.3.1. Einführung in Fremdmikroorganismen).

Zur Abschätzung des Keimgehaltes im Gärkeller/Gärraum werden verschiedene Nährbodenplatten unterschiedlich lang geöffnet und der Raumluft ausgesetzt.



Mit diesem Versuch soll ein Eindruck von der Anzahl und Vielfalt der Mikroorganismen vermittelt werden, die sich überall in der umgebenden Raumluft befinden. Er soll auch aufzeigen, dass ständig eine Kontaminationsgefahr durch Luftkeime besteht, wenn man mit offenen Kulturgefäßen (Erlenmeyerkolben, Gärgefäße) hantiert.

Materialien

Glaswaren/Geräte/ andere Materialien	mikrobiologischer Arbeitsplatz, Schnellkochtopf, Chemikalienspatel, 3 Erlenmeyerkolben (300 mL) mit Stopfen, Waage, Messzylinder
Verbrauchsmaterial	sterile Petrischalen, Tesafilm oder Frischhaltefolie
Chemikalien	Ethanol oder Isopropanol 70%, Standard-Nähragar: cf. Medium R5 (Nährbouillon, Agar-Agar, ention. Wasser), Malzfestmedium: cf. Medium M3 (Malzextrakt-Agar, Maltose, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ oder $\text{K}_2\text{HPO}_4\text{NH}_4\text{Cl}$, ention. Wasser - auch einfacheres Medium wie M1 möglich), Universal-Bieragar
Biologische Objekte	Luftkeime in verschiedenen Untersuchungsräumen, z.B. Braukeller, Küche, Aussenluft

Isolierung von Keimen aus der Luft

1. Herstellung Nährböden:

Je 100 mL Nährboden (Nähragar, Malzagar, Bieragar) werden in den drei Erlenmeyerkolben angesetzt, im Schnellkochtopf während 15 min autoklaviert und in je vier Petrischalen gegossen

2. Fangplatten:

die fertigen Nährbodenplatten werden an den Standorten geöffnet und unterschiedlich lang der Raumluft ausgesetzt (z.B. 10, 30 und 60 min); dabei kann auch die Raumhöhe variiert werden. Ebenso können die Räume bei unterschiedlicher Personenbelastung untersucht werden: ohne Person, Person(en) in Aktivitäten (Brauen)



3. Beschriftung:

Die verschiedenen Agarplatten werden nach der Exposition mit dem Deckel der Petrischale geschlossen und zugeklebt (z.B. Tesakleber, Frischhaltefolie) und sachgerecht beschriftet (Datum, Nährbodentyp, Raum, Expositionszeit)

4. Bebrütung:

Die Platten werden mehrere 3-6 Tage bei Zimmertemperatur lichtgeschützt verkehrt herum (kopfstehend) stehen gelassen oder im Brutschrank ca. 3-4 Tage bei 30°C bebrütet.

Hinweis: Das Umdrehen der Platten ist erforderlich, weil durch Schwitzwasser, welches vom Deckel auf die Agaroberfläche tropft, die Kolonien zusammenlaufen und die Platten nicht auswertbar sind.

5. Auswertung:

Qualitative Beobachtungsanregungen:

1. Sind es Bakterien und/oder Pilze: vgl. Abb. I
2. Pigmente (Farben)- Man beachte die qualitativen Unterschiede auf den parallel aufgestellten Bakterien- und Pilzagarplatten!

Hinweise:

- Die drei Agararten werden eingesetzt, um verschiedenen Typen an Mikroorganismen optimale Wachstumsbedingungen zu bieten. So wachsen Pilze am besten auf dem relativ sauren Malzagar. Nähragar zeigt eine neutrale Reaktion.
- Wattige Kolonien, deren Myzel* mehr oder weniger erhaben ist, sind Schimmelpilze. Eine weitere Beobachtung der Platten über mehrere Tage wird dies bestätigen, wenn die Myzelien Sporen bilden.
- Kolonien, die dem Nährboden fest anliegen, sind meist Bakterien. Jedoch wachsen Hefen ähnlich. Erst eine mikroskopische Betrachtung gibt darüber näher Auskunft.
- Auf Nährböden, die für Bakterien selektiver sind (z.B. Nähragar), sind i.d.R. auffällig viele farbige Kolonien zu finden: das sind Bakterien, die pigmentiert sind - gelb, orange oder rot. Pigment*bildung schützt vor UV-Strahlung, so dass farbige Mikroorganismen unempfindlicher sind als farblose.

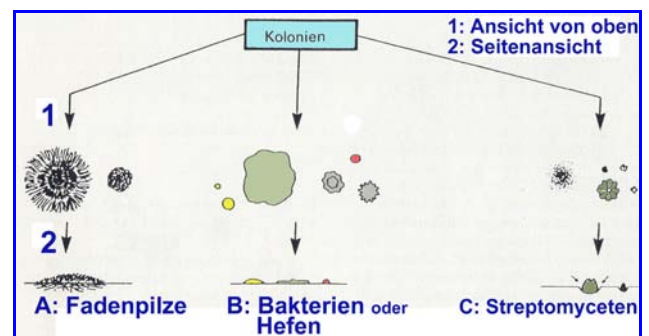


Abb. I. Grobbestimmung Kolonieform —> Mikroorganismen.

A: Fadenpilze (Schimmelpilze): wattig-fädige Kolonien; das farblose Mycel wächst auch im Nährboden; das Luftmycel besitzt meist farbige Sporen (blau-grün/gelb-braun/schwarz). Durchmesser: 1 - 9 cm.

B: Bakterien oder Hefen: glänzend-matte oder schleimige Kolonien, oft oberhalb der Agaroberfläche liegend, grau-gelblich (meist Bakterien) oder rot/orange/gelb/braun (meist Hefen). Durchmesser: 1 - 30 mm.

C: Streptomyceten: typische Bodenbakterien, erdiger Geruch ("Waldgeruch") aus der Petrischale, stumpfe, kegelförmige Kolonien, durch Luftmycel und Sporenbildung wattig aussehend, in den Nährboden linsenförmig eingewachsen, oft grau- oder gelb-farbig, manchmal auch Braun- bis Schwarzfärbung des umgebenden Agars (= Melaninausscheidung). Durchmesser: 1 - 5 mm. [Bilder](#).

Quantitative Untersuchungen:

Anzahl Kolonien: Nach der Bebrütung sind auf den Fangplatten **Kolonien** entstanden, die gezählt werden. Das geschieht am besten so, dass man mit einem Faserschreiber auf der Bodenplatte, die man gegen das Licht hält, die gezählten Kolonien mit einem kräftigen Punkt kennzeichnet (cf. Abb. 6). Sehr kleine Kolonien können bei Lupenvergrößerung oder unter einem Stereomikroskop gezählt und mit der Impföse durchgestrichen werden.

Der Keimgehalt wird berechnet je Stunde und Fläche (z.B. 1 m² [der Petrischalen-Durchmesser beträgt in der Regel 85 mm!]).

Bilder zu Luftkeimen

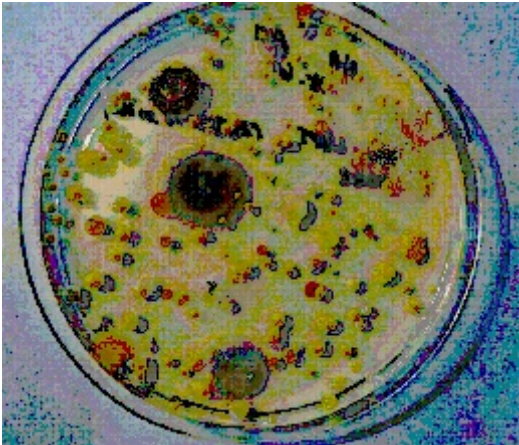


Abb. 2. Luftfangplatte (Standard-Nähragar, WC-Luft, 30 min offen): Bakterien (dominierend: *Micrococcus luteus*) sowie wenig Fadenpilze und Streptomycceten.

Gesamtkeimzahl Gärkeller pro m^2 und h: Fläche PS = $r^2\pi = 4.25^2 \times 3.14 = 56.75 \text{ cm}^2 \rightarrow 1 \text{ m}^2 = 10'000 \text{ cm}^2$:
 $56.75 \text{ cm}^2 = 176.2 \text{ Petrischalen-Flächen}$
 $\rightarrow 94 \times 176.2 = 16'564 \text{ Keime pro } m^2 \cdot h$

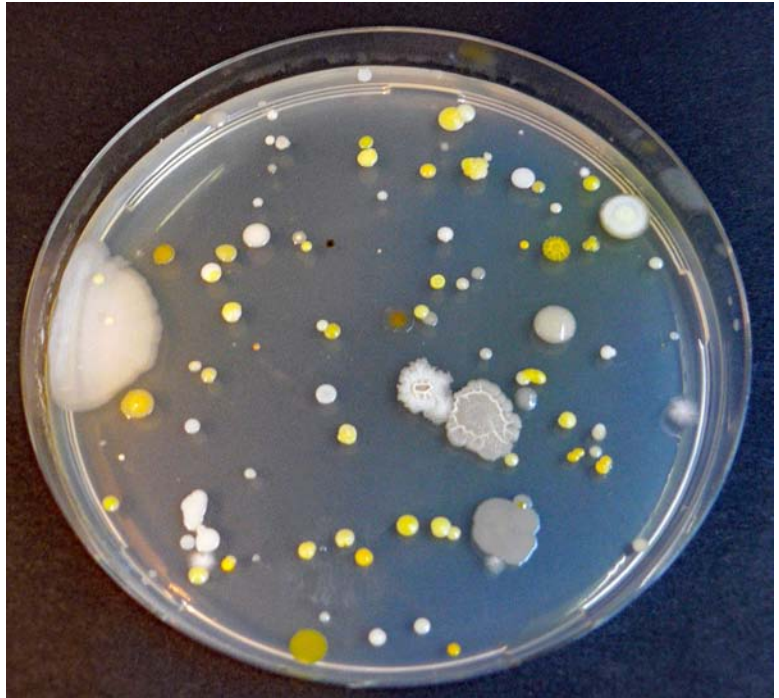


Abb. 3. Luftkeime Gärlabor (Standard-Nähragar, 60 min Exposition, Bebrütung: 4 Tage bei 32°C). **Kolonieformen:** Bakterien (meist farbig: gelb, orange), Mikropilze (z.T. grösser, Fadenpilz oben rechts), Streptomycceten (Mitte schräg nach rechts). Anzahl: total 94, davon 5 Schimmelpilze, 3 Streptomycceten.

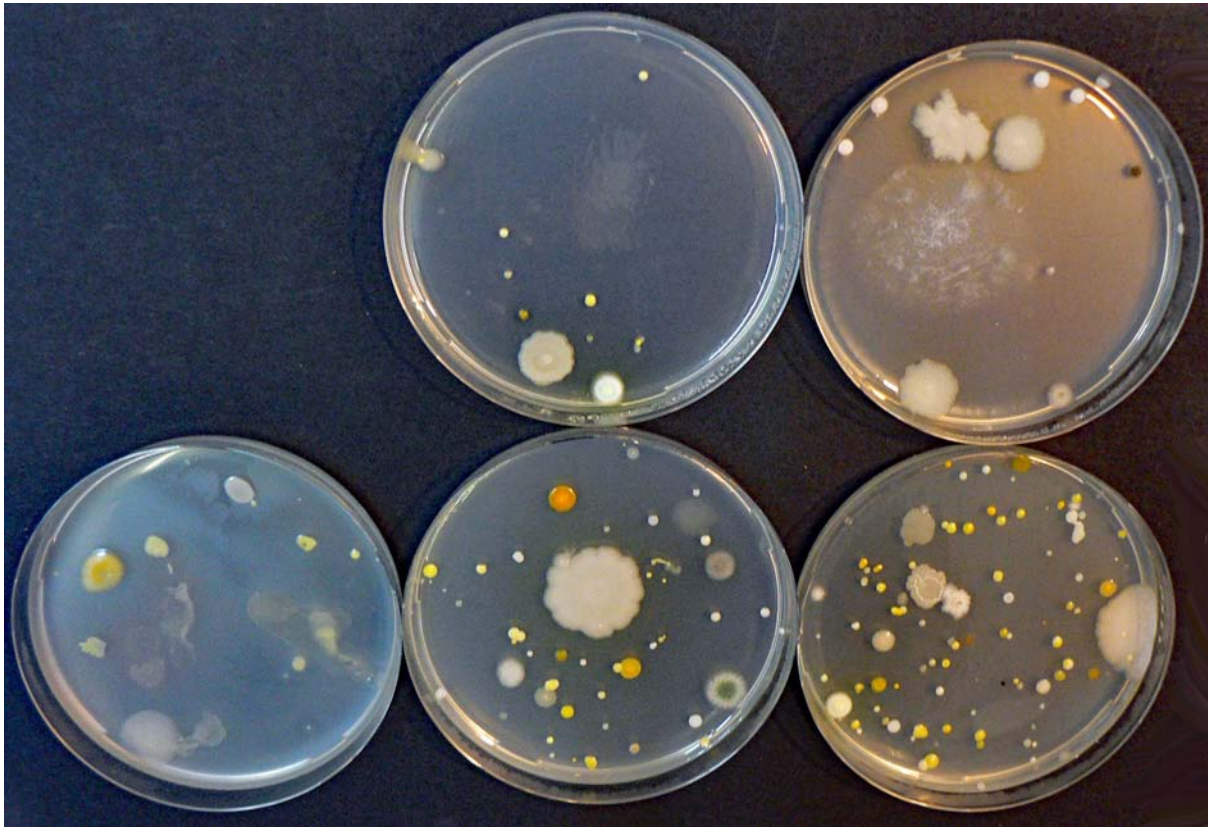


Abb. 4. Luftfangplatten Gärlabor - Keller - Aussenluft. Wachstum 4 Tage bei 32°C , jeweils am Boden platziert, Standard-Nähragar. Platten von links nach rechts: **Obere Reihe:** Kellerluft, 30 min; Frischluft nach Regen, 30 min. **Untere Reihe:** Gärkeller 15 min, 30 min und 60 min. Kellerluft enthält deutlich weniger Keime als Gärlaborluft; Begründung: im Gärlabor wird gearbeitet und durch das ständige Hin- und Herlaufen und weitere Bewegungen/Manipulationen werden mehr keimtragende Staubpartikel aufgewirbelt. Je länger die Expositionszeit, desto mehr Keime nachweisbar. Keimgruppen: cf. Abb. 2.
 Farbige Kolonien: siehe Website "Mikrobiol. Grundlagen" > Braulabor 6 mit Abb. IIA und IIB.

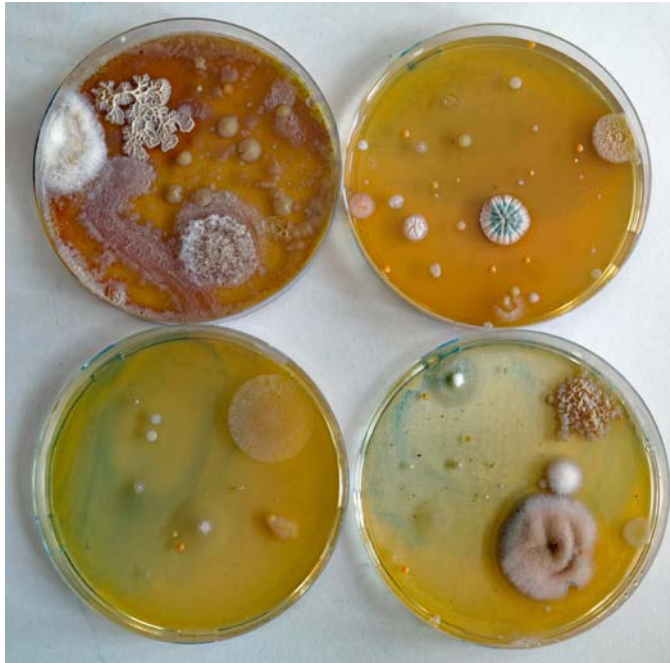


Abb. 5. Luftfangplatten Gärlabor - Aussenluft.
Exposition: je 30 min, Bieragar. Wachstum 4 Tage bei 32°C.

Obere Reihe: links Aussenluft (windiger Tag). Rechts: Gärlabor, Platte am Boden (38 Kolonien). Kleine Abb: Schimmelpilz (li: Aspergillus - Giesskannenschimmel) und Streptomyceten (re)

Untere Reihe: Links Gärlabor mikrobiologischer Arbeitsplatz (ohne brennende Gasbrenner). Rechts: Gärkeller, Agarplatte am Boden, Luft aber während 60 min mit einem Luftreiniger* behandelt (19 Kolonien).

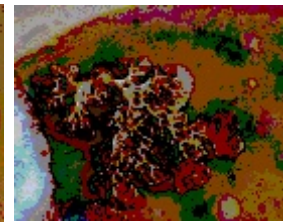
Luftfangplatten auf Arbeitshöhe fangen weniger Keime auf als am Boden platzierte Agarplatten.

Gereinigte Luft ist um 50% keimärmer als unbehandelte Gärlaborluft.

(*: newgen medicals Luftreiniger, Filter und Ionisator-Technik [Info])



Schimmelpilz



Streptomyceten (Bakterien)



Wo kommen Mikroorganismen vor: Luftfangplatten

Foto: Frk/2010

Luftfangplatten Technik KBE-Auszählung.

Technik: KBE (Kolonie Bildende Einheit = "Koloniezahl") bestimmen: Mit wasserfestem Faserschreiber einzelne Kolonien abpunkten -> hier 92 KBE.

Hinweis: wurde eine wässrige Probe von genau 1 Tropfen aus einer im 45°-Winkel gehaltenen Pasteurpipette aufgetropft (= 0.04 mL) und mit einem sterilen Glasspatel verteilt (**Technik ausplattieren**), so muss der ausgezählte Koloniewert mit 25 multipliziert werden, um den KBE-Wert auf 1 mL der ursprünglichen Probe zu beziehen. Beim obigen Bsp. wäre der KBE-Wert also: 92 x 25 = 2'300.

Abb. 6. Kolonien (KBE: Kolonie bildende Einheiten) auszählen.

Die sichtbar gewachsenen Kolonien (Bakterien, Pilze, Streptomyceten) werden mit einem wasserfesten Faserschreiber auf der Rückseite des Bodenteils der Nähragarplatte abgepunktet.