

Konservierung Von Mikroorganismen mit Paraffin

In dem heutigen Versuch soll es um die einfache Konservierung von Mikroorganismen gehen. Für dieses Verfahren werden keine teuren Geräte wie Tiefkühlschränke oder flüssiger Stickstoff benötigt. Es können Konservierungszeiten von bis zu 5 Jahren erreicht werden. Somit kann man sich seine eigene kleine Mikroorganismen-Sammlung zusammenstellen.

Geräte:

Impföse (Stahl- oder Einweg-Ösen), Bunsenbrenner, Dampfdruckkochtopf, wasserfester Stift, Kulturröhrchen oder Reagenzgläser, Vollpipetten (5ccm), Zellstofftücher, Gummiehandschuhe, Aluminiumfolie

Chemikalien:

Paraffin (dickflüssig, DAB, steril)

Nährmedium mit Bakterienkulturen



Sterile Schrägagar-Röhrchen

Hinweise:

Bei der Arbeit mit Mikroorganismen sind die allgemeinen Sicherheitsvorschriften für Laborarbeiten einzuhalten. Es ist auf peinlichste Sauberkeit am Arbeitsplatz zu achten. Bei besonders empfindlichen Proben oder bei Pathogenen ist eine Sicherheitswerkbank zu verwenden!

Bei der Arbeit mit dem Paraffin ist darauf zu achten, dass bevor die Impföse ausgeglüht wird, diese vorher mit dem Zellstofftuch gereinigt wird. Wird überschüssiges Paraffin nicht entfernt, bevor die Impfnadel ausgeglüht wird, so kann es zu einem verspritzen von heißem, kontaminierten Paraffin führen (Infektionsgefahr).

Durchführung:

Als erstes werden die zu konservierenden Kulturen von der Petrischale in ein Schrägagar-Röhrchen überimpft und für 2 Tage bei 25°C, besser 35°C bebrütet. Beim überimpfen ist unbedingt darauf zu achten, dass nach dem Ausglühen der Impfnadel, diese zuerst abkühlen muss, bevor eine Bakterienkultur damit aufgenommen werden kann. Durch eine zu heiße Impfnadel wäre ein Großteil der vermehrungsfähigen Bakterienzellen zerstört werden.

Wenn die 2 Tage Bebrütungszeit abgelaufen sind, müssten sich nun auf der Agarfläche eine große Anzahl von Bakterien befinden. Nun werden die 5 ml Vollpipetten sorgfältig in Aluminiumfolie eingewickelt und anschließend im Dampfdruckkochtopf für 30 Minuten bei 121°C sterilisiert. Die Anzahl der zu sterilisierenden Pipetten hängt von der Anzahl der zu konservierenden Bakterienkulturen (Schrägagar-Röhrchen) ab. Für jedes Röhrchen wird eine neue Pipette verwendet. Ist die Sterilisation abgeschlossen, so lässt man den Druck aus dem Druckbehälter und lässt diesen auf Raumtemperatur abkühlen. Nun wird eine der sterilisierten Pipette entnommen und gibt soviel Paraffin in die Schrägagar-Röhrchen, so dass der Paraffinpiegel 1-3 cm über den obersten Rand des Schrägagars liegt. Die so beschickten Röhrchen werden aufrecht mit einem Wattestopfen verschlossen, im Kühlschrank gelagert und haben eine Haltbarkeit von maximal 5 Jahren. Wird nun eine der konservierten Kulturen benötigt, so wird diese aus dem Kühlschrank

genommen und mit einer ausgeglühten Impfnadel eine kleine Menge an Zellmaterial aus dem Röhrchen

Entsorgung:

Alle anfallenden, kontaminierten Materialien wie: bebrütete Petrischalen/Schrägagar-Röhrchen, Zellstoffe, Watte müssen in einem autoklavierbaren Beutel sterilisiert werden. Dieser kann dann problemlos dem Hausmüll zugeführt werden.

Erklärung:

Das Paraffin hat die interessante Eigenschaft, dass es die Stoffwechselforgänge stark verlangsamt und ebenfalls das Zellmaterial vor der Austrocknung schützt. Diese Verfahren ist daher auch sehr schonend und es treten daher auch nur geringe Zellverluste auf.

Bilder:



Das vernünftige Ausglühen der Impföse ist sehr wichtig.



Hier einmal ein Ausstrich einer Bakterienkultur zur Isolierung eines Reinstammes.



Die ersten gebrauchsfertigen Stammkulturen, eingetragen in einer Dispersionslösung (Zusammensetzung habe ich im Artikel: Dispersionslösung gepostet)