© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Ein Beitrag zur hydrobakteriologischen Feldmethodik

Josef Weber

Im Rahmen der von der Bundesanstalt für Wasserbiologie und Abwasserforschung, Wien-Kaisermühlen, durchzuführenden Gewässergüteaufnahmen ergab sich die Notwendigkeit, andernorts angewandte hydrobakteriologische Arbeitsmethoden einzuführen und auf ihre Eignung bei Felduntersuchungen zu überprüfen.

In diesem Beitrag soll nun über praktische Erfahrungen berichtet werden, die während umfangreicher Untersuchungen mit einem Probeentnahmegerät und einer Feldmethode zur Keimzahlbestimmung gesammelt wurden.

I. Abschlagapparat für evakuierte Entnahmeflaschen

Für die Entnahme von Wasserproben, die chemisch-physikalisch, biologisch, in erster Linie aber bakteriologisch untersucht werden sollten, standen verschiedene Apparat-Typen zur Auswahl. Neben dem klassischen Gestänge zur Entnahme von Trinkwasserproben — das allerdings nur für relativ geringe Tiefen geeignet ist —, wurden der Lunzer Wasserschöpfer nach Ruttner, ein Schöpfer der Firma Friedinger sowie ein kleiner Abschlagapparat für evakuierte Ampullen nach Sclavo-Czaplewski versuchsweise erprobt.

Von den genannten Geräten schien ein Abschlagsapparat am besten zu entsprechen, da bei diesem Prinzip die Wasserprobe unmittelbar in der gewünschten Tiefe in das Entnahmegefäß gelangt und weitere Manipulationen — wie z. B. Umfüllen auf einem schwankenden Boot von einer Person — entfallen. Weiters bietet ein solches Gerät den Vorteil, daß hintereinander sterile Entnahmegefäße in unbeschränkter Zahl eingesetzt werden können und die Apparatur durch Abflammen für Wasserprobeentnahmen aus Brunnen, Zisternen, Behältern u. dgl. leicht zu entkeimen ist.

In Anlehnung an die von Sclavo-Czaplewski und Issatschenko beschriebenen Abschlagapparate und den Auslösemechanismus des Ruttner-Schöpfers wurde in der institutseigenen mechanischen Werkstätte * ein Gerät entwickelt, das es, im Gegensatz zu den vorgenannten, gestattet, auch größere Wassermengen zu entnehmen.

* Herrn Franz Nosek wird für die wertvolle Mitarbeit bestens gedankt.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Die Arbeitsweise des Abschlagapparates (Abb. 1) besteht im wesentlichen darin, daß die Kapillare nicht mehr, wie bisher, durch die Wucht des aufschlagenden Fallgewichtes abgebrochen wird, sondern durch Federkraft;

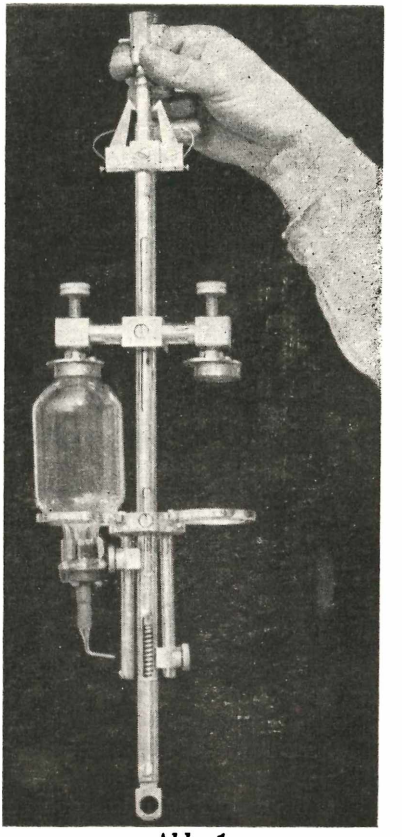

Abb. 1

bei einem entsprechend großen Federdruck ist ein Versagen nahezu ausgeschlossen, so daß bei Seeuntersuchungen zeitraubende Tiefenzüge nicht wiederholt werden müssen. Ein Sicherungsstift, der vor dem Absenken entfernt wird, verhindert auch das vorzeitige Auslösen des Apparates beim Adjustieren und Befestigen am Windenseil. Durch Verstellung der Flaschenhaltevorrichtung können, entsprechend dem Bedarf, verschieden große

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Flaschen verwendet werden. Normalerweise genügt aber für Keimzahl, Gärtiter, bzw. Einengung auf Membranfiltern eine Flasche mit 250 ml Inhalt. Da es aber auch möglich ist, eine zweite Flasche in das Gerät einzuspannen, kann jederzeit eine Parallelprobe entnommen und mitangesetzt werden.

Die Füllzeit der Gefäße nach dem Aufschlagen des Fallgewichtes auf den Auslösemechanismus wird man am besten im Laboratorium empirisch feststellen. Bei nicht zu engem Lumen der Kapillare dauert dieser Vorgang ungefähr 30 Sekunden.

Das Vorbereiten der Entnahmeflaschen kann ohne viel Mühe im Labor vorgenommen werden. Ein etwa 6 mm dickes Glasrohr wird zu einer 1,5 mm starken Kapillare ca. 120 mm lang ausgezogen und bei einer verjüngten Stelle rechtwinkelig abgebogen. In einen passenden Gummistopfen bringt man nun ein Glasrohr von gleichfalls 6 mm Stärke so ein, daß es nur auf der breiteren Seite des Stopfens ca. 10—15 mm herausragt. Dieses Ende wird mittels eines Schlauchstückes mit dem abgewinkelten Ende des ausgezogenen Rohres verbunden. Eine für diese Zwecke ausreichende Entkeimung erfolgt dann am einfachsten durch Auskochen. Zum Evakuieren der entkeimten Entnahmeflaschen wird unter sterilen Kautelen der mit der Kapillare versehene Gummistopfen aufgesetzt und das freie Ende mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden. Wenn ein entsprechendes Vakuum erreicht ist, wird noch während des Saugvorganges die Kapillare so abgeschmolzen, daß noch ein Schenkel von ca. 50—60 mm verbleibt. Es empfiehlt sich dann, den Gummistopfen durch eine Metallklammer zu sichern und die Flasche in steriles Papier einzuwickeln. Nach der Probenentnahme verschließt man die Kapillare durch einfaches Zuschmelzen. Die Hitzeentwicklung ist dabei ausreichend, das äußere Ende der Kapillare — das beim Aufziehen der Probe mit verschiedenen möglicherweise stark verschmutzten Wasserschichten in Berührung gekommen ist — zu entkeimen. Zur Aufarbeitung der Proben braucht nur der Stopfen abgenommen zu werden; es ist nicht notwendig wie bei den bisher gebräuchlichen Vollglasampullen, die Kapillare zu zertrümmern, so daß die Flaschen dadurch immer wieder verwendet werden können. Bei den Entnahmen aus tieferen Zonen empfiehlt es sich, starkwandige Flaschen mit nach außen gewölbtem Boden zu verwenden, die imstande sind, auch größeren Drücken Widerstand zu leisten.

Es soll an dieser Stelle noch vermerkt werden, daß sich dieses Entnahmegerät praktisch auch bei stärker durchströmten Staustufen, wie z. B. im Donaustrom bei Ybbs-Persenbeug, bereits gut bewährt hat.

II. Keimzahlbestimmung mit Kieselsäure-Nährboden

Die Bestimmung des Bakteriengehaltes ist eine wesentliche Voraussetzung zur Beurteilung eines Gewässers hinsichtlich seiner Selbstreinigungskraft.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Es ist jedoch nicht Aufgabe dieser Arbeit, auf die Problematik der Keim zahlbestimmung einzugehen, wie etwa, ob der Keimgehalt besser durc direkte mikroskopische Auszählung oder durch Züchtung ermittelt werde soll; ebensowenig kann im Einzelnen auf die Frage eingegangen werde welcher der gebräuchlichen Nährböden auf Grund seiner Zusammensetzun als optimal zu betrachten wäre. Es erscheint vielmehr wichtig zu betonen daß — ein geeigneter Nährboden vorausgesetzt — die Möglichkeit bestehe muß, entnommene Wasserproben so rasch wie möglich, auch unter ungünst gen Bedingungen, aufarbeiten zu können, um eine Veränderung der Keim zusammensetzung und des Keimgehaltes zu vermeiden. Durch Kühlun können diese Veränderungen wohl eingeschränkt, aber nicht verhinde werden. Es können daher umfangreiche Gewässergüteaufnahmen — w Lägenprofile oder 24 stündige Untersuchungen an einem Pegel — nur dan sichere Ergebnisse liefern, wenn entweder an Ort und Stelle ohne Verzu aufgearbeitet werden kann oder ein rascher Transport der Proben ins Labc möglich ist.

Dieser Forderung Rechnung tragend, werden daher im ambulanten Labc der Bundesanstalt — es handelt sich um einen VW-Transporter — die fü den Ansatz der bakteriologischen Proben notwendigen Geräte und Nähr böden auf allen größeren Ausfahrten mitgeführt.

Im Verlauf der anfänglich durchgeführten Arbeiten am Gewässer ge staltete sich die Keimzahlbestimmung nach dem Plattenverfahren m Nähragar und Nährgelatine umständlich. Gelatine als Substrat schied in folge der in stärker verschmutzten Gewässern reichlich auftretenden ve flüssigenden Keime, bzw. wegen der in der warmen Jahreszeit bei Feld untersuchungen oft nur schwer einzuhaltenden Erstarrungstemperatur seh bald aus. Beim Anlegen der Keimzahlplatten mit Nähragar brachte beson ders im Winter das Aufschmelzen, Warmhalten und Einstellen der Guß temperatur für eine größere Anzahl von Keimplatten Schwierigkeiten un unliebsame Verzögerungen mit sich. Umfangreichere Untersuchungen, wi z. B. Querprofilaufnahmen in der Donau, waren daher aus arbeitstechni schen Gründen nur teilweise durchführbar. Es ergab sich also die Not wendigkeit, einen für Felduntersuchungen besser geeigneten Nährbode ausfindig zu machen. Der bei Hettche und Münch sowie bei Loren beschriebene *Kieselsäure-Nährboden* gestattet nun, diese Mängel beim Ar beiten im Feldlaboratorium zu umgehen.

Der in Anlehnung an Lorenz weiterhin als *Hep* (Hefeextrakt-Pepton bezeichnete Nährboden setzt sich im wesentlichen aus der stark alkalische Wasserglaslösung und der stark phosphorsauren Hefe-Extrakt-Pepton-Nähr lösung zusammen. Beide getrennt zu haltende Lösungen sind infolge ihre

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

extremen pH-Werte autosteril und erstarren in entsprechend dosiertem Verhältnis gemischt zu einer farblosen klaren Gallerte.

Der Hep-Nährboden, dessen Gestehungskosten verhältnismäßig niedrig sind, wird nach Lorenz folgendermaßen zubereitet:

In 1000 cm³ destilliertem Wasser werden

20 g Vitamin-Hefeextrakt, kochsalzfrei (Cenovis),
10 g Pepton Witte,
10 g Traubenzucker

unter Erwärmen im Dampftopf gelöst. Die heiße Lösung wird durch ein Faltenfilter filtriert. Nach dem Auskühlen wird die notwendige Phosphorsäuremenge zur Neutralisation der beim Probenansatz zuzugebenden Wasserglaslösung hinzugefügt. Zu diesem Zweck werden 10 cm³ obiger Lösung mit destilliertem Wasser auf 100 cm³ aufgefüllt, mit einigen Tropfen einer 0,4 % Bromthymolblaulösung als Indikator versetzt. Nach Zugabe von 7 cm³ der nachfolgend beschriebenen Wasserglaslösung, wird mit 25 % Phosphorsäure bis zu einem pH-Wert von 7,2—7,4 (dunkelgrüner Farbton) titriert. Der Nährlösung wird dann das Hundertfache der bei der Titerstellung verbrauchten Menge der 25 prozentigen Phosphorsäure zugesetzt und mit destilliertem Wasser auf 2000 cm³ aufgefüllt. Diese 5-fach konzentrierte Stammlösung ist infolge ihres hohen Säuregrades autosteril und kann, gegen Abdunsten gut geschützt, unbegrenzt aufbewahrt werden.

Zur Herstellung der gebrauchsfertigen Nährlösung werden dann 200 cm³ der Stammlösung mit destilliertem Wasser auf 1000 cm³ aufgefüllt, entsprechend dem Bedarf zu je 50, 100 oder 150 cm³ in Kölbchen abgefüllt und im Dampftopf wenigstens einmal sterilisiert. Für den Feldeinsatz haben sich als Nährbodengefäße besonders 100-cm³-Kubusflaschen (Tintenflaschen) mit Bakelitschraubverschluß, bzw. sogenannte Baby-Milchflaschen (Jenaer Glas) mit 250 cm³ Inhalt und Einteilung geeignet. Bei letzteren empfiehlt es sich, den Zellstoffstopfen gegen das Flascheninnere mit einer dünnen Plastikfolie gegen Feuchtigkeitsaufnahme zu schützen und über Stopfen und Flaschenhals gleichfalls Plastik zu stülpen.

Für die Herstellung der Wasserglaslösung eignet sich das übliche, technisch reine Natronwasserglas (Liquor natrii silicii, etwa 33 prozentig), dem 0,5 % wasserfreies Natriumsulfit (in wenig Wasser gelöst) zugesetzt wird. Eine besondere Reinigung des Wasserglases erübrigt sich für gewöhnlich, da eine geringe Trübung bei der Schichtdicke von 3—4 mm keine Rolle spielt. Verunreinigtes Material kann durch Absitzenlassen und Dekantieren, einfache Filtration ohne oder mit Zusatz von Kieselgur behandelt werden. Die gebrauchsfertige Lösung braucht nicht unbedingt sterilisiert werden,

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

muß aber unter Kohlensäureausschluß in Vorratsflaschen, mit Paraffinö überschichtet, gut verschlossen aufbewahrt werden.

Für die Zugabe der notwenigen Menge Wasserglas wurde eine klein Bürette entwickelt, die verhältnismäßig billig mit einfachen Mitteln zum Teil selbst hergestellt werden kann.

Als Vorratsbehälter dient eine etwa 500 cm^3 fassende PVC-Flasche. Be gleichzeitigem Abquetschen des Belüftungsschlauches (mit Wattefilter wird durch schwaches Zusammendrücken der Flaschenwand die Wasser glaslösung bis über die 0-Marke in das Ableserohr gehoben. Durch Freigab des Belüftungsschlauches vor Nachlassen des Druckes wird eine Durchströ mung der Lösung mit nachgesaugter Luft vermieden. Nach der automati schen Einstellung der 0-Marke kann die gewünschte Menge Wasserglas lösung mittels eines Quetschhahnes in der Art des Bunsenventiles abgelassen werden. Die dabei nachgesaugte Luft wird durch ein Natronkalkfilte von der Kohlensäure befreit, die Flüssigkeit in der Flasche wird durch Ueberschichtung mit Paraffinöl gegen Kohlensäurezutritt geschützt. Wie au der Abbildung (Abb. 2) ersichtlich ist, wird nach dem Quetschhahn ein Aus laufröhrchen aus Glas angeschlossen. Dieses leicht eingeschobene sterilisiert Röhrchen wird nach dem Gebrauch der Bürette nicht entfernt, sondern verschließt sie nach dem Festwerden der Wasserglaslösung. Vor der näch sten Manipulation wird es durch ein neues, sterilisiertes Röhrchen ersetzt Ein entsprechender Vorrat ist, steril verpackt, mitzuführen.

Für das Aufarbeiten von Einzelproben kann auf den Gebrauch de Bürette verzichtet werden. In ein an beiden Enden ausgezogenes Glasroh wird die für je eine Flasche mit saurer Nährlösung notwendige Wasserglas lösung eingefüllt und die Enden zugeschmolzen. Sind die ausgezogene Enden nicht zu eng, kann die Wasserglaslösung nach Absägen beider Spitze mühelos der Nährlösung zugesetzt werden. Es empfiehlt sich, vor dem Zu richten der Ampullen, mit Bromthymolblau nochmals den richtigen pH Wert zu überprüfen. Das in den — nach etwa 20 Minuten erstarrten — Platten auftretende Quetschwasser wird entfernt, indem man Filterpapier scheibchen, die nach Hettche und Münch mit einer 10prozentige Calziumchloridlösung imprägniert wurden, in den Petrischalendeckel ein legt. Nach 72stündiger Bebrütung bei 22° C wird ausgezählt.

Im Zuge der von der Bundesanstalt zahlreich durchgeführten bakterio logischen Gewässeruntersuchungen wurden bei der Keimzahlbestimmun mit Hep-Nährboden folgende Erfahrungen gemacht:

a) Vorteile:

Beim Ansatz der Keimplatten wird außer einer Flamme zum Abflamme der Glasgeräte keine Heizquelle benötigt. Da der Nährboden nicht aufge

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

schmolzen werden muß, können auch Einzelproben ohne Zeitverlust sofort aufgearbeitet werden. Der Nährboden wird durch peptonisierende Keime nicht angegriffen, so daß es möglich ist, die Keimplatten auch längere Zeit zu beobachten und aufzubewahren (Farbstoffbildner). Der mitgeführte Nährboden blieb, wie die stets mitangesetzten Blindproben ergaben, auch unter den ungünstigsten Arbeitsbedingungen ausnahmslos steril.

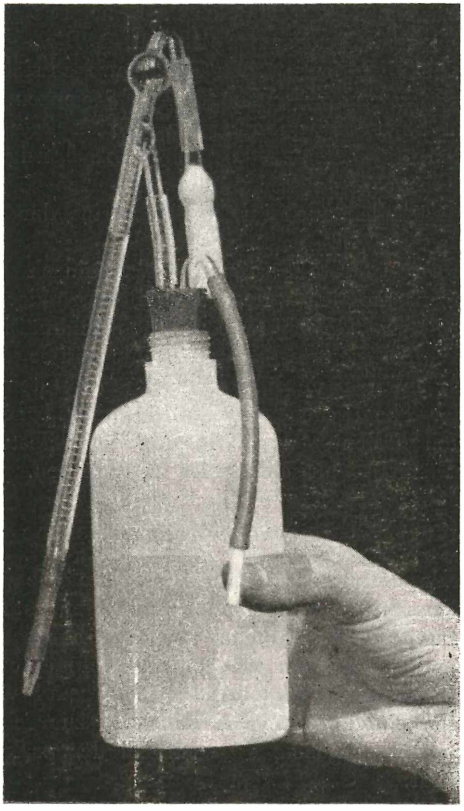

Abb. 2

b) Nachteile:

Die Nachteile dieser Nährbodentechnik bestehen darin, daß außer den Vorratsgefäßen für die saure Hep-Brühe, eine Dosierungsvorrichtung für

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

die Wasserglaslösung mitgeführt werden muß (bzw. gefüllte Ampullen). Auf der Oberfläche der frisch angesetzten Platten bildet sich beim Erstarren Quetschwasser, das durch Einlegen von präparierten Filterpapierscheibchen aufgesaugt werden muß.

Kontrollversuche, über die an anderer Stelle noch zu berichten sein wird, ergaben auch bei Feldarbeiten keinen wesentlichen Unterschied hinsichtlich der relativen Werte der auf Nährgelatine und Hep-Nährboden parallel ermittelten Keimzahlen für miteinander in Beziehung stehende, vergleichbare Standorte, wie z. B. Flußlängsprofilen u. ä. Die absoluten Ergebnisse der beiden Methoden divergieren schon eher, bewegen sich aber noch immer innerhalb der nicht zu eng zu ziehenden Fehlergrenzen. Da die Gelatineplatten im Durchschnitt der untersuchten Proben keineswegs immer die höheren Keimzahlen erbrachten — das Verhältnis betrug nahezu 50 : 50 — bestand gegen die bevorzugte Verwendung des Hep-Nährbodens im Feldlaboratorium und natürlich auch im Routinebetrieb der Anstalt selbst kein Einwand.

Abschließend kann festgestellt werden, daß es durch die Anwendung des Kieselsäurenährbodens möglich war, die im Rahmen der Gewässergüteaufnahmen durchgeführten hydrobakteriologischen feldmäßigen Routineuntersuchungen auf eine weit breitere Basis zu stellen und so nicht nur den Wert dieser Untersuchungen in hygienischer Beziehung zu steigern. sondern auch die Ergebnisse der chemischen, physikalischen und biologischen Untersuchung in gewissen Fällen — z. B. Störung der Selbstreinigungsvorgänge durch toxische Abwässer — aufschlußreich zu ergänzen.

Zusammenfassung:

Es wird ein an der Bundesanstalt für Wasserbiologie weiter entwickelter Entnahmeapparat beschrieben, der auch in tiefen, stark durchströmten Gewässern eine rasche und einfache exakte Probeentnahme ermöglicht. Weiters wird über Erfahrungen mit einem Hefepepton-Kieselsäurenährboden zur Gesamtkeimzahlbestimmung berichtet und werden auf Grund eigener Erfahrungen einige technische Hinweise zur feldmäßigen Anwendung dieses Nährbodens gegeben, der sich bei der praktischen Erprobung sehr gut bewährt hat.

Literatur:

1. Issatschenko, zit. nach Pawlowskii und Schadin „Das Leben der Binnengewässer in der UdSSR".
2. Ruttner F.: „Grundriß der Limnologie". Berlin 1942.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

3. Sclavo-Czapelewski: „Abschlagapparat", zit. nach Gärtner Hygiene des Wassers. Braunschweig 1915.

4. Hettche und Münch „Die Verwendung von Kieselsäurenährböden bei der bakteriologischen Untersuchung von Wasser und Abwasser". Arch. f. Hyg. 119, p. 168, 1937.

5. Hettche und Münch „Erfahrungen mit den Kieselsäurenährböden („Kiebo") bei der Untersuchung von Wasser und Abwasser". Zentralbl. Bakt. I Orig. 143, p. 367, 1939.

6. Hettche „Eine vereinfachte Nährbodentechnik zur Bestimmung der Keimzahl im Wasser und Abwasser". Städtehygiene 4, p. 143, 1953.

7. Janke „Arbeitsmethoden der Mikrobiologie", Dresden 1946.

8. Liepolt „Ein fahrbares Laboratorium zur modernen Gewässerforschung". Verh. d. Int. Ver. Limnologie 12, p. 394, 1955.

9. Lorenz „Die Verwendung von Kieselsäurenährböden bei der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung". Zeitschr. f. Hygiene 125, p. 457, 1944.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Wasser und Abwasser

Jahr/Year: 1958

Band/Volume: 1958

Autor(en)/Author(s): Weber Josef

Artikel/Article: Ein Beitrag zur hydrobakteriologischen Feldmethodik 9-17