

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 Probeentnahmegesetz 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 Gesetz zur Entnahme von Trinkwasserproben — das allerdings nur für relativ geringe Tiefen geeignet ist —, wurden der Lunzer Wasserschwöpfer nach Ruttner, ein Schwöpfer 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-Schwöpfers wurde in der institutseigenen mechanischen Werkstatt* 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.

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;

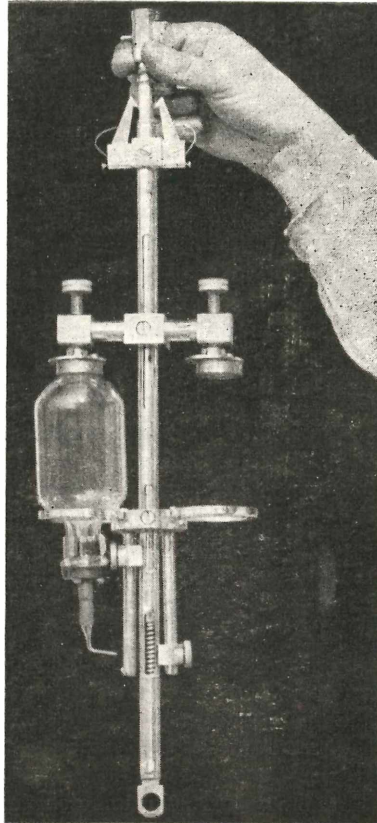


Abb. 1

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

Flaschen verwendet werden. Normalerweise genügt aber für Keimzahl, Gär-
titer, 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 fest-
stellen. 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 ver-
jüngten 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 Ent-
keimung 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 Wasserschich-
ten in Berührung gekommen ist — zu entkeimen. Zur Aufarbeitung der
Proben braucht nur der Stopfen abgenommen zu werden; es ist nicht not-
wendig 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 Entnahme-
gerät 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.

Es ist jedoch nicht Aufgabe dieser Arbeit, auf die Problematik der Keimzahlbestimmung einzugehen, wie etwa, ob der Keimgehalt besser durch direkte mikroskopische Auszählung oder durch Züchtung ermittelt werden soll; ebensowenig kann im Einzelnen auf die Frage eingegangen werden, welcher der gebräuchlichen Nährböden auf Grund seiner Zusammensetzung als optimal zu betrachten wäre. Es erscheint vielmehr wichtig zu betonen, daß — ein geeigneter Nährboden vorausgesetzt — die Möglichkeit besteht, entnommene Wasserproben so rasch wie möglich, auch unter ungünstigen Bedingungen, aufarbeiten zu können, um eine Veränderung der Keimzusammensetzung und des Keimgehaltes zu vermeiden. Durch Kühlung können diese Veränderungen wohl eingeschränkt, aber nicht verhindert werden. Es können daher umfangreiche Gewässergüteaufnahmen — wie Längenprofile oder 24 stündige Untersuchungen an einem Pegel — nur dann sichere Ergebnisse liefern, wenn entweder an Ort und Stelle ohne Verzug aufgearbeitet werden kann oder ein rascher Transport der Proben ins Labor möglich ist.

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

Im Verlauf der anfänglich durchgeführten Arbeiten am Gewässer gestaltete sich die Keimzahlbestimmung nach dem Plattenverfahren mit Nähragar und Nährgelatine umständlich. Gelatine als Substrat schied infolge der in stärker verschmutzten Gewässern reichlich auftretenden verflüssigenden Keime, bzw. wegen der in der warmen Jahreszeit bei Felduntersuchungen oft nur schwer einzuhaltenden Erstarrungstemperatur sehr bald aus. Beim Anlegen der Keimzahlplatten mit Nähragar brachte besonders im Winter das Aufschmelzen, Warmhalten und Einstellen der Gießtemperatur für eine größere Anzahl von Keimplatten Schwierigkeiten und unliebsame Verzögerungen mit sich. Umfangreichere Untersuchungen, wie z. B. Querprofilaufnahmen in der Donau, waren daher aus arbeitstechnischen Gründen nur teilweise durchführbar. Es ergab sich also die Notwendigkeit, einen für Felduntersuchungen besser geeigneten Nährboden ausfindig zu machen. Der bei Hettche und Münch sowie bei Lorenz beschriebene *Kieselsäure-Nährboden* gestattet nun, diese Mängel beim Arbeiten im Feldlaboratorium zu umgehen.

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

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

Der Hep-Nährboden, dessen Gesteungskosten 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.

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

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

Als Vorratsbehälter dient eine etwa 500 cm³ fassende PVC-Flasche. Be gleichzeitigem Abquetschen des Belüftungsschlauches (mit Wattefilter wird durch schwaches Zusammendrücken der Flaschenwand die Wasserglaslösung bis über die 0-Marke in das Ableserohr gehoben. Durch Freigabe des Belüftungsschlauches vor Nachlassen des Druckes wird eine Durchströmung der Lösung mit nachgesaugter Luft vermieden. Nach der automatischen Einstellung der 0-Marke kann die gewünschte Menge Wasserglaslösung mittels eines Quetschhahnes in der Art des Bunsenventiles abgelassen werden. Die dabei nachgesaugte Luft wird durch ein Natronkalkfilter von der Kohlensäure befreit, die Flüssigkeit in der Flasche wird durch Ueberschichtung mit Paraffinöl gegen Kohlensäurezutritt geschützt. Wie aus der Abbildung (Abb. 2) ersichtlich ist, wird nach dem Quetschhahn ein Auslaßröhrchen 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 nächsten 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 der Bürette verzichtet werden. In ein an beiden Enden ausgezogenes Glasrohr wird die für je eine Flasche mit saurer Nährlösung notwendige Wasserglaslösung eingefüllt und die Enden zugeschmolzen. Sind die ausgezogenen Enden nicht zu eng, kann die Wasserglaslösung nach Absägen beider Spitze mühelos der Nährlösung zugesetzt werden. Es empfiehlt sich, vor dem Zurichten 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 Filterpapierscheibchen, die nach Hettche und Münch mit einer 10 prozentigen Calciumchloridlösung imprägniert wurden, in den Petrischalendeckel einlegt. Nach 72stündiger Bebrütung bei 22⁰ C wird ausgezählt.

Im Zuge der von der Bundesanstalt zahlreich durchgeführten bakteriologischen Gewässeruntersuchungen wurden bei der Keimzahlbestimmung mit Hep-Nährboden folgende Erfahrungen gemacht:

a) Vorteile:

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

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.

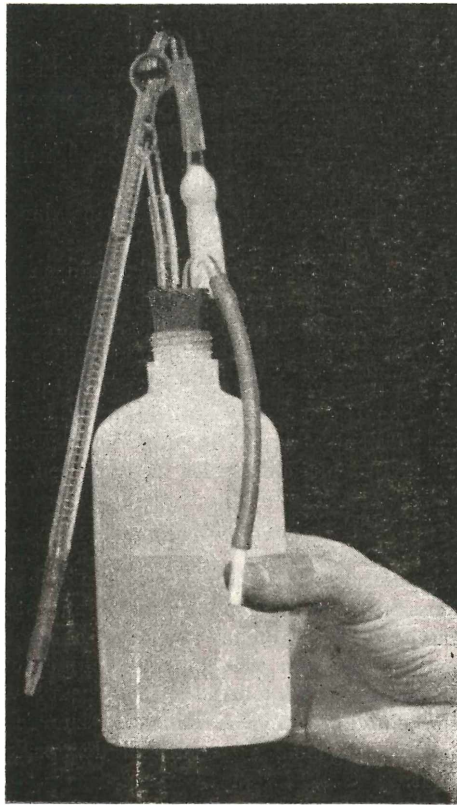


Abb. 2

b) Nachteile:

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

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 Filterpapierschleibchen 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.

3. Sclavo-Czaplewski: „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](#)