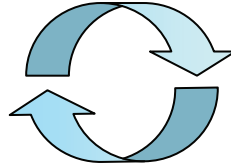


Durchführen mikrobiologischer Arbeiten I

Betrieb

[Ausbildungsrahmenplan Nr. 7](#)



Berufsschule

[Rahmenlehrplan Lernfeld 5](#)

7 g) unter Anwenden unterschiedlicher Beleuchtungstechniken mikroskopieren

Versuchsbedingungen

1. Bakterienstamm auf einer Agarplatte
Warmlicht
Durchlichtspiegelung
2. Pilzkolonie auf einer Agarplatte
Warmlicht
Auflicht und Durchlicht
3. Hefezellen (Bäckerhefe)
Warmlicht
Durchlicht im Hellfeld
4. Bacillus sphaericus
Warmlicht
Durchlicht im Phasenkontrast

1. Versuchsanleitung: Mikroskopieren einer Bakterienkolonie mit Durchlichtspiegelung im Warmlicht

Grundlagen

Die **Stereomikroskopie** ist besonders gut geeignet für die Darstellung räumlicher Strukturen von Objekten. Sie bestehen aus zwei getrennten **Durchlichtmikroskopen**, die in einem definierten Winkel auf ein Präparat gerichtet sind und dadurch den stereoskopischen Effekt erzielen. Die Beleuchtung erfolgt in diesem Mikroskop von unten über einen Spiegel. Die Vergrößerung liegt zwischen 7-24 fach.

Aufgabenstellung

Mikroskopieren Sie mit dem Stereomikroskop die Bakterienkolonie auf einer Agarplatte!

1. Ermitteln Sie die optimale Vergrößerung zur Skizzierung der Bakterienkolonie und fertigen Sie nach Einstellung der optimalen Vergrößerung eine Skizze der Bakterienkolonie an. Verwenden Sie für die Skizze das Skizzenblatt.
2. Berechnen Sie die optimale Vergrößerung bei der Sie skizzieren!
3. Fertigen Sie eine Skizze des Mikroskops an und benennen Sie die Bauteile!
4. Beschreiben Sie die einzelnen Funktionen der Bauteile!

Geräte und Chemikalien

Geräte:	Stereomikroskop
Chemikalien	1 Agarplatte mit Bakterienkolonie Aqua dest. Methylbenzol (F, Xn)

Hinweise zum Arbeitsschutz

Beimpfte Petrischalen dürfen nicht geöffnet werden.

Beim Arbeiten ist die allgemeine Laborordnung zu beachten. Schützen Sie das Mikroskop vor Stoß, Schlag und Staub. Verschmutzungen insbesondere am Okular und Objektiv sind durch vorsichtiges Reiben mit trockenem bzw. feuchtem Lappen zu entfernen.

Geeignete Reinigungsmittel: Aqua. dest.

Methylbenzol (Toluol); Gefahrenhinweise F, Xn

F R: 11 Leichtentzündlich

Xn R:20 Gesundheitsschädlich beim Einatmen

Durchführung

- Legen Sie die Agarplatte mit der Bakterienkolonie auf den Mikroskopiertisch.
- Stellen Sie den Spiegel so ein, dass das Präparat gleichmäßig ausgeleuchtet wird.
- Beginnen Sie das Mikroskopieren mit der kleinsten Vergrößerung. Wählen Sie dazu das schwächste Objektiv.
- Die Scharfeinstellung erfolgt über den Triebknopf.
- Fertigen Sie nach vorgegebener Aufgabenstellung und Protokollschema ein Protokoll an.

Hinweise zur Berechnung

Die maximale Vergrößerung eines Mikroskops errechnet sich aus der Objektivvergrößerung \times der Okularvergrößerung.

$$V_{\text{Mikroskop}} = V_{\text{Objektiv}} \times V_{\text{Okular}}$$

2. **Versuchsanleitung: Mikroskopieren einer Pilzkolonie mit Auf- und Durchlichtbeleuchtung im Warmlicht**

Grundlagen

Die **Stereomikroskopie** ist besonders gut geeignet für die Darstellung räumlicher Strukturen von Objekten. Stereomikroskope bestehen aus zwei getrennten Durchlichtmikroskopen, die in einem definierten Winkel auf ein Präparat gerichtet sind und dadurch den stereoskopischen Effekt erzielen. Die Beleuchtung erfolgt von unten über eine Untertischbeleuchtung und zusätzlich über eine **Auflichtbeleuchtung** von schräg oben, sodass der räumliche Effekt durch Schattenbildung verstärkt wird. Die Vergrößerung des Mikroskops liegt zwischen 6,5 – 45 fach.

Aufgabenstellung

Mikroskopieren Sie mit dem Stereomikroskop die Pilzkolonie auf einer Agarplatte!

1. Ermitteln Sie die optimale Vergrößerung zur Skizzierung der Pilzkolonie.
2. Ermitteln Sie die optimale Beleuchtungstechnik zur Skizzierung der Pilzkolonie.
3. Fertigen Sie nach Einstellung der optimalen Vergrößerung und optimaler Beleuchtung eine Skizze der Pilzkolonie an. Verwenden Sie für die Anfertigung der Skizze das Skizzenblatt.
4. Beschreiben Sie, weshalb nicht nur die Vergrößerung, sondern auch die Auflösung für die Mikroskopie entscheidend ist?

Geräte und Chemikalien

Geräte:	Stereomikroskop
Chemikalien	1 Agarplatte mit Pilzkolonie Aqua dest. Methylbenzol (F, Xn)

Durchführung

- Schalten Sie das Mikroskop an und legen Sie die Agarplatte mit der Pilzkolonie auf den Mikroskopiertisch.
- Beginnen Sie das Mikroskopieren mit der kleinsten Vergrößerung. Wählen Sie dazu das schwächste Objektiv.
- Regeln Sie die Scharfeinstellung über den Triebknopf.
- Optimieren Sie die Beleuchtung am Mikroskop mit Hilfe der Auf- und / oder Durchlichttechnik.
- Skizzierung bei optimaler Einstellung des Mikroskops (Vergrößerung / Beleuchtung)
- Fertigen Sie nach vorgegebener Aufgabenstellung und Protokollschema ein Protokoll an.

3. Versuchsanleitung: Mikroskopieren von Hefezellen (Bäckerhefe) mit Durchlichtbeleuchtung im Hellfeld

Grundlagen

Lichtmikroskope eignen sich zur Darstellung von Gewebestrukturen, Zellen und Organellen. Für die Untersuchung biologischer Objekte bietet die Lichtmikroskopie folgende Vorteile: eine relativ einfache Handhabung, eine relativ einfache Herstellung der Präparate sowie die Lebendbeobachtung, und die Möglichkeit, durch Mikroskopieverfahren im **Hellfeld, Dunkelfeld oder Phasenkontrast** kontrastschwache und unterschiedliche Strukturen darzustellen. Die Hellfeld-Mikroskopie ist das klassische Mikroskopieverfahren schlechthin. Die Aufgabe eines Hellfeld-Mikroskops liegt "lediglich" in einer möglichst objektgetreuen Vergrößerung eines Präparates. Hefezellen besitzen eine Größe von 5 – 15 µm. Der Vergrößerungsbereich von Lichtmikroskopen liegt in der Regel zwischen 100 – 1000 fach.

Aufgabenstellung

Mikroskopieren Sie mit dem Lichtmikroskop die Hefezellen im Hellfeld.

1. Fertigen Sie zuerst ein Frischpräparat zum Mikroskopieren an.
2. Ermitteln Sie die optimale Vergrößerung im Hellfeld zur Skizzierung der Hefezellen und fertigen Sie nach Einstellung der optimalen Vergrößerung eine Skizze an. Verwenden Sie dazu das Skizzenblatt.

Geräte und Chemikalien

Geräte

Lichtmikroskop
Objektträger
Deckgläschen
Spatel
Becherglas
Eppendorftube
Impföse

Chemikalien

Bäckerhefe
Aqua dest.: Trinkwasser, Zucker
Immersionsöl
Methylbenzol (F,Xn)

Hinweise zum Arbeitsschutz

Beim Arbeiten ist die allgemeine Laborordnung zu beachten.

Schützen Sie das Mikroskop vor Stoß, Schlag und Staub.

Verschmutzungen, insbesondere am Okular und Objektiv, sind durch vorsichtiges Reiben mit trockenem bzw. feuchtem Lappen zu entfernen.

Geeignete Reinigungsmittel: Aqua. dest.

Methylbenzol (Toluol); Gefahrenhinweise F, Xn

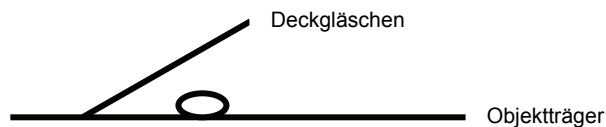
F R: 11 Leichtentzündlich

Xn R:20 Gesundheitsschädlich beim Einatmen

Das hergestellte Frischpräparat der Hefe wird im Ausguss entsorgt.

Durchführung

- Herstellung des Frischpräparates der Hefesuspension
- In einem 10 ml Becherglas werden eine Spatelspitze Trockenhefe und eine Spatelspitze Zucker in ca. 4 ml lauwarmem Wasser gelöst und mit der Impföse suspendiert.
- Schalten Sie das Mikroskop an und bereiten Sie den binokularen Tubus vor (Augenabstand; Okularstutzen).
- Bewegen Sie den Kondensator mittels Kondensortriebknopf zum oberen Anschlag. Öffnen Sie die Leuchtfeldblende und Aperturblende.
- Bewegen Sie mittels Grobtrieb den Mikroskopiertisch nach unten.
- Schwenken Sie mit dem Objektivrevolver das kleinste Objektiv in den Strahlengang
- Nehmen Sie dann einen winzigen Tropfen der Backhefesuspension mit der Impföse auf und bringen Sie diese auf den Objektträger. Verdünnen Sie mit einem winzigen Tropfen dest. Wasser. Legen Sie ein Deckgläschen auf den Tropfen.



- Legen Sie das Präparat auf den Mikroskopiertisch und fixieren Sie es mit dem Präparatehalter.
- Säubern Sie nach dem Mikroskopieren das Objektiv vorsichtig vom Immersionsöl mit weichem Zellstoff.
- Skizzieren Sie das Präparat bei optimaler Einstellung des Mikroskops (Vergrößerung, Beleuchtung)
- Fertigen Sie nach vorgegebener Aufgabenstellung und Protokollschemata ein Protokoll an. Drehen Sie mit dem Grobtrieb das fixierte Präparat bis kurz unter das Objektiv (Vorsicht! Keine Berührung mit dem Objektiv.)
- Schauen Sie in das Mikroskop und regulieren Sie die Helligkeit.
- Drehen Sie nun vorsichtig mit dem Grobtrieb das Präparat nach unten.
- Regulieren Sie mit dem Feintrieb die Schärfe, bis Sie die Hefezellen sehen können.
- Wiederholen Sie die Mikroskopie bei zunehmender Vergrößerung.
- Führen Sie bei 1000-facher Vergrößerung die Mikroskopie mit Immersionsöl durch. Bringen Sie dazu einen Tropfen Immersionsöl auf das Deckgläschen und fahren Sie den Mikroskopiertisch soweit hoch, dass das Objektiv in den Öltropfen eintaucht. Drehen Sie dann mit dem Grobtrieb den Mikroskopiertisch vorsichtig nach unten, bis Sie die Zellen erkennen können. Achten Sie darauf, dass der Ölfaden, der sich zwischen Objektträger und Objektiv bildet, nicht abreißt.
- Regulieren Sie mit dem Feintrieb die Scharfeinstellung.

4. Versuchsanleitung: Mikroskopieren von *Bacillus sphaericus* mit Durchlichtbeleuchtung im Phasenkontrast

Grundlagen

Bei transparenten Präparaten stößt das **Hellfeld-Mikroskop** an seine Grenzen. Derartige Präparate werden durch das Hellfeld-Verfahren nur extrem kontrastarm abgebildet und sind nicht gut oder kaum zu erkennen. Deshalb wurden optische Kontrastverfahren wie der Phasenkontrast entwickelt. Mit diesem Verfahren können kontrastarme Objekte (wie z.B. Bakterien, Geißeln, Zellkerne) kontrastreicher dargestellt werden. Beim **Phasenkontrastverfahren** werden die Phasenunterschiede in dem Präparat durch Eingriffe in den Strahlengang deutlich sichtbar gemacht. Dabei wird der Phasenunterschied zwischen dem das Objekt durchstrahlende Licht und dem am Objekt vorbeigehenden Licht ausgenutzt. Hierzu benötigt man einen zentrierbaren und in der Höhe verstellbaren Kondensator, der zusätzlich für die Phasenkontrastmikroskopie mit einer oder mehreren im Durchmesser unterschiedlichen Ringblenden ausgestattet ist. Für die Phasenkontrastmikroskopie braucht man außerdem Phasenkontrastobjektive mit einem zur jeweiligen Ringblende passenden Phasenring. Zu beachten ist auch, dass eine helle Lichtquelle (z.B. Halogenlampe 6V 15W) zur Verfügung steht, da bei der Phasenkontrastmikroskopie durch die Ringblende und den Phasenring viel Licht verloren geht. Die Phasenkontrastobjektive sind gekennzeichnet mit der Gravur Ph und meistens auch mit einer Zahl (wie z.B. bei Zeiss mit 1, 2 oder 3), für die am Kondensator einzustellende Ringblende. **Aufgabenstellung**

Mikroskopieren Sie mit dem Lichtmikroskop den *Bacillus sphaericus* im Phasenkontrast!

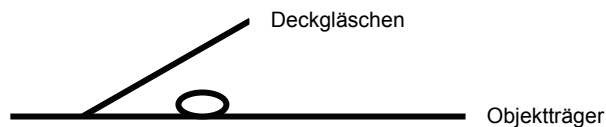
1. Fertigen Sie ein Mikroskopie-Präparat entsprechend der Durchführung an. Mikroskopieren Sie im Phasenkontrast und fertigen Sie eine Skizze an. Verwenden Sie dafür das Skizzenblatt.
2. Erläutern Sie, warum der *Bacillus sphaericus* im Phasenkontrast zu mikroskopieren ist.

Geräte und Chemikalien

Geräte	Lichtmikroskop Deckgläschen Objektträger Impföse
Chemikalien	Zellkultur Aqua dest. Methylbenzol (F,Xn)

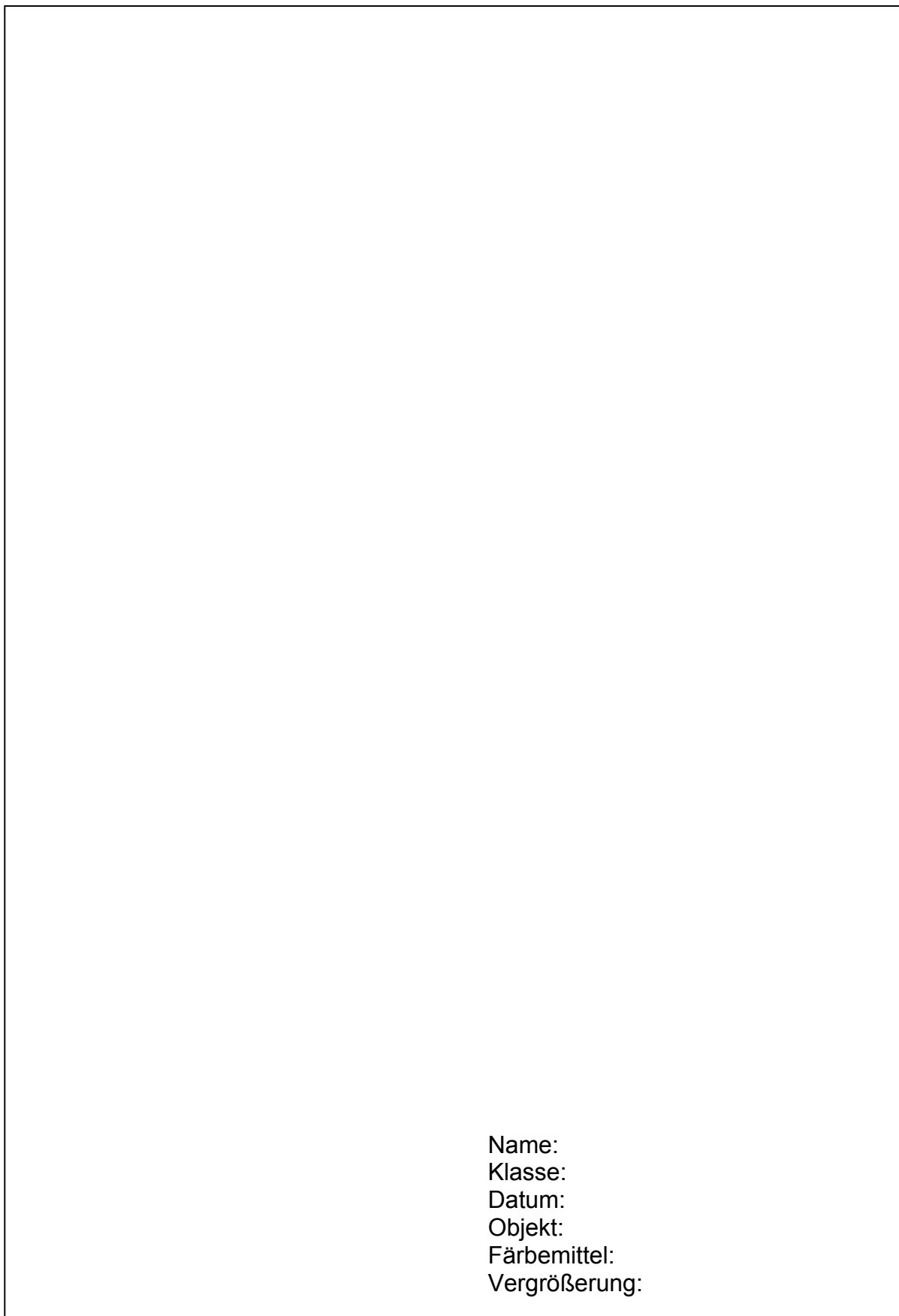
Durchführung

- Verwenden Sie das bereitgestellte Präparat vom *Bacillus sphaericus*
- Schalten Sie das Mikroskop an und bereiten Sie den binokularen Tubus vor (Augenabstand; Okularstutzen).
- Bewegen Sie den Kondensator mittels Kondensortriebknopf zum oberen Anschlag. Öffnen Sie die Leuchtfeldblende und Aperturblende.
- Bewegen Sie mittels Grobtrieb den Mikroskopiertisch nach unten.
- Schwenken Sie mit Objektivrevolver das Phasenkontrast Objektiv Ph 40X in den Strahlengang und schieben Sie die Phasensteckblende von unten in den Kondensator.
- Nehmen Sie dann einen winzigen Tropfen der Bakteriensuspension mit der Impföse auf und bringen Sie diese auf den Objektträger. Verdünnen Sie mit einem winzigen Tropfen dest. Wasser. Legen Sie ein Deckgläschen auf den Tropfen.



- Legen Sie das Präparat auf den Mikroskopiertisch und fixieren Sie es mit dem Präparatehalter.
- Drehen Sie mit dem Grobtrieb das fixierte Präparat bis kurz unters Objektiv.
- (Vorsicht! Keine Berührung mit dem Objektiv.)
- Schauen Sie in das Mikroskop und regulieren Sie die Helligkeit.
- Drehen Sie nun vorsichtig mit dem Grobtrieb das Präparat nach unten.
- Regulieren Sie mit dem Feintrieb die Schärfe, wenn Sie den *Bacillus sphaericus* sehen können.

Skizzenblatt



Name:
Klasse:
Datum:
Objekt:
Färbemittel:
Vergrößerung: