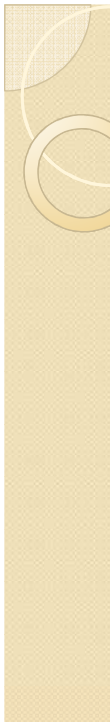




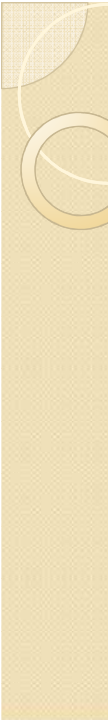
VL Limnochemie

## Mikrobiologie 3: Mikrobielle Ökologie Mikrobielle Methoden



| LFD Nr. | Thema                                                    | Datum               |
|---------|----------------------------------------------------------|---------------------|
| 0       | Organisatorisches                                        | 15.10.10            |
| 1       | pH-Wert + Puffer                                         | 22.10.10            |
| 2       | Sauerstoff                                               | 29.10.10            |
| 3       | Redox                                                    | 05.11.10            |
| 4       | Mikrobiologie I: Einführung                              | 12.11.10            |
| 5       | Mikrobiologie II: Stoffwechsel                           | 19.11.10            |
| 6       | Mikrobiologie III: Ökologie                              | 26.11.10            |
| 7       | Sorption I                                               | 03.12.10            |
| 8       | Sorption II                                              | 10.12.10            |
| 9       | <del>Trinkwasseraufbereitung</del>                       | <del>17.12.10</del> |
| 10      | Trinkwasseraufbereitung                                  | 07.01.11            |
| 11      | Abwasserbehandlung                                       | 14.01.11            |
| 12      | Aktuelle Forschung aus dem IWC, Bekanntgabe Probeklausur | 21.01.11            |
| 13      | Besprechung Probeklausur                                 | 28.01.11            |
| 14      | Fällt aus, dafür:<br>Fragedoppelstunde vor Klausur       | 04.02.11            |





## Und heute...

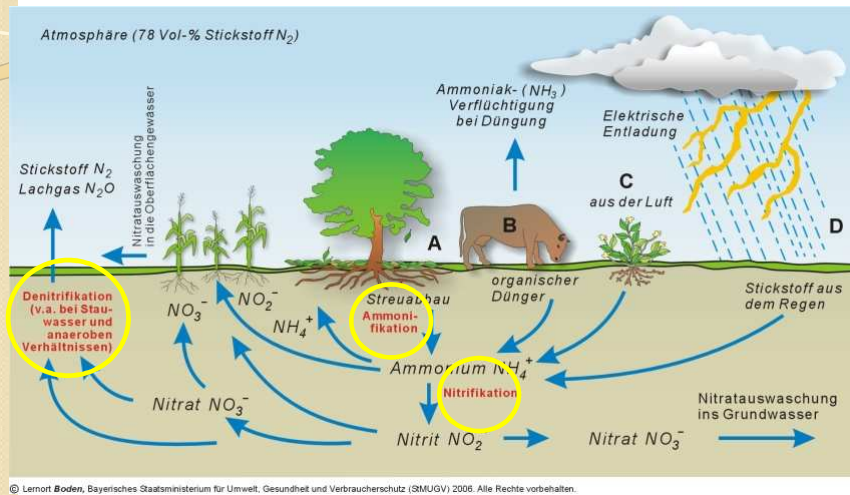
- ...über typische mikrobiologische Lebensgemeinschaften
- ...was Biofilme sind
- ...welche mikrobiologische Methoden es gibt



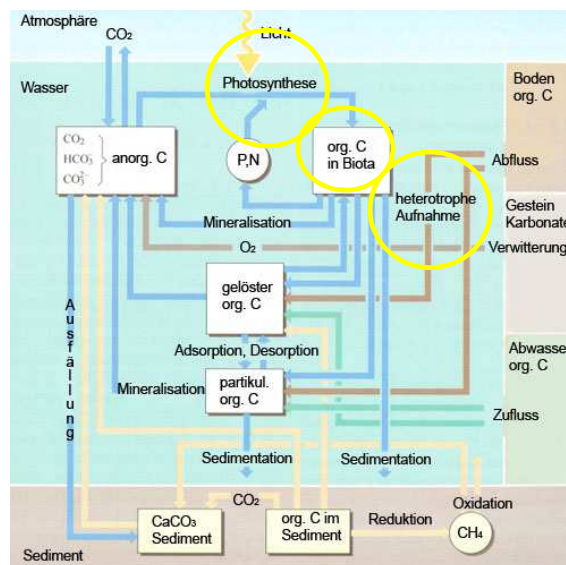
## Mikrobielle Ökologie

- „das große Ganze“
  - makroskopische Auswirkungen mikroskopischer Vorgänge
- Stoffkreisläufe wie N, S, C laufen nur unter mikrobieller Beteiligung
- Extrembedingungen (T, p, κ, ...) möglich

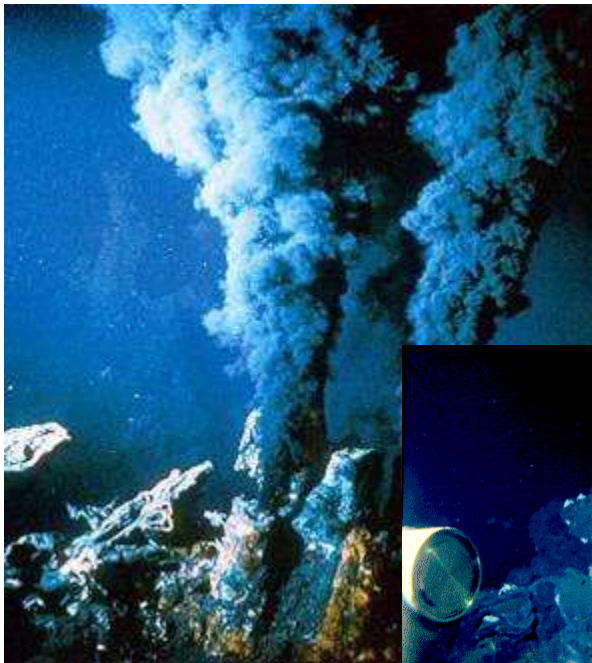
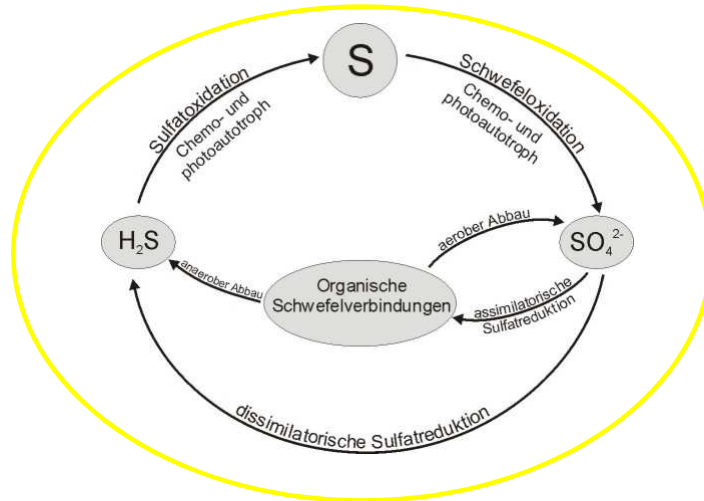
## Stickstoffkreislauf



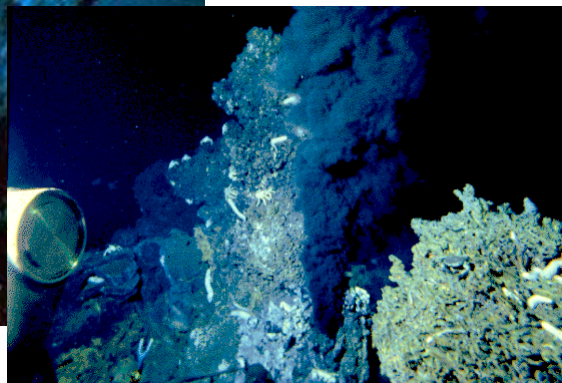
## Kohlenstoffkreislauf



## Schwefelkreislauf



„black smoker“



## Black Smoker

- Einzigartiges Ökosystem
- „black“: Ausfällung unlöslicher Fe- und Mn-Verbindungen durch Temperatur abfall
- Temperaturen 60°C bis >300°C
- Umgebungstemperatur: 2°C
- Reduzierte Schwefelverbindungen als Basis für Leben
- Vollständige Nahrungskette: Bakterien, Einzeller, Mehrzeller...bis zu höheren Organismen



Stromatholithe:

Biogene Sedimente, die ältesten  
sind ca. 3,5 Mrd Jahre alt!

## Litotrophie I, Nitrifikanten

| Redoxsystem                       |                      |                  |                                                      |                        | pE°   |
|-----------------------------------|----------------------|------------------|------------------------------------------------------|------------------------|-------|
| 1/4 CO <sub>2</sub> (g)           | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/4 CH <sub>2</sub> O                              | + 1/4 H <sub>2</sub> O | -1,20 |
| 1/4 CO <sub>2</sub> (g)           | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/24 C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> | + 1/4 H <sub>2</sub> O | -0,20 |
|                                   | H <sup>+</sup>       | + e <sup>-</sup> | = 1/2 H <sub>2</sub> (g)                             |                        | 0,00  |
| 1/2 S(s)                          | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/2 H <sub>2</sub> S (g)                           |                        | 2,89  |
| 1/8 SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | + 9/8 H <sup>+</sup> | + e <sup>-</sup> | = 1/8 HS <sup>-</sup>                                | + 1/2 H <sub>2</sub> O | 4,25  |
| 1/4 CH <sub>2</sub> O             | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/4 CH <sub>4</sub> (g)                            | + 1/4 H <sub>2</sub> O | 6,94  |
| 1/2 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/2 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>                   | + 1/2 H <sub>2</sub> O | 14,15 |
| 1/6 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | + 4/3 H <sup>+</sup> | + e <sup>-</sup> | = 1/6 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>                   | + 1/3 H <sub>2</sub> O | 15,14 |
| Fe(OH) <sub>3</sub> (s)           | + 3 H <sup>+</sup>   | + e <sup>-</sup> | = Fe <sup>2+</sup> +                                 | 3 H <sub>2</sub> O     | 16,00 |
| 1/4 O <sub>2</sub> (g)            | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/2 H <sub>2</sub> O                               |                        | 20,75 |

} Nitrifikanten

Chemo-litho-autotroph

## Nitrifikation

- Mikrobiologisch vermittelte Reaktion von Ammoniak(NH<sub>3</sub>) bzw. Ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) mit Luftsauerstoff zu Nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), Weiterreaktion zu Nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

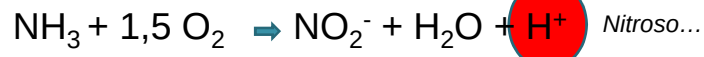
| Ion                          | Oxidationszahl Stickstoff |
|------------------------------|---------------------------|
| NH <sub>3</sub>              | -3                        |
| NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | +3                        |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | +5                        |

} Oxidation



## Nitrifikation

### 1. Ammoniumoxidation



Nitroso...

...monas

...coccus

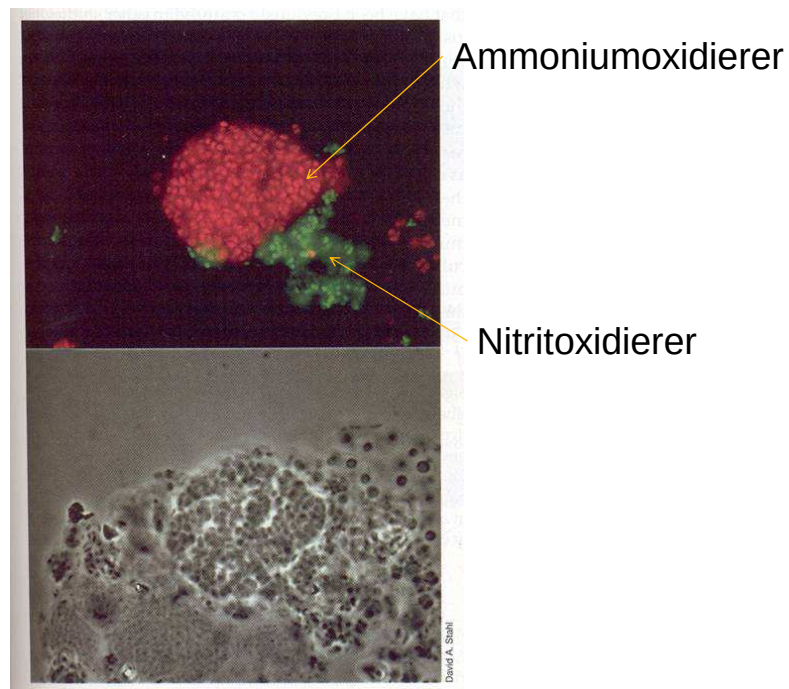
...spira

### 2. Nitritoxidation



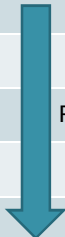
Nitro...

- pH-Wert Erniedrigung
- Aber: pH-Optimum für Nitrifikanten 7,5 bis 8,3
- Selbsthemmung
- Temperaturen größer 8°C
- nötig: Sauerstoff (Belebungsbecken!!)
- C-Quelle: meist CO<sub>2</sub>



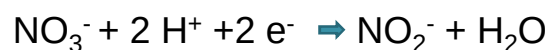
## Denitrifikation

- Mikrobiologisch vermittelte Reaktion von Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) über Zwischenstufen zu elementarem Stickstoff

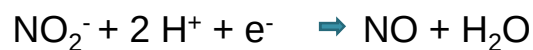
| Ion/Molekül          | Oxidationszahl Stickstoff |                                                                                                 |
|----------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\text{NO}_3^-$      | +5                        | <br>Reduktion |
| $\text{NO}_2^-$      | +3                        |                                                                                                 |
| $\text{NO}$          | +2                        |                                                                                                 |
| $\text{N}_2\text{O}$ | +1                        |                                                                                                 |
| $\text{N}_2$         | 0                         |                                                                                                 |

## Denitrifikation

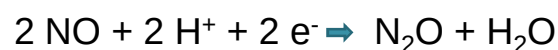
### 1. Nitratreduktion



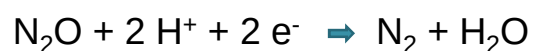
### 2. Nitritreduktion



### 3. Stickstoffmonoxidreduktion



### 4. Distickstoffoxidreduktion





## Denitrifikation

### 1. Nitratreduktion

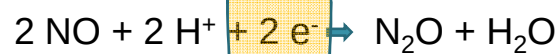


Von  
organischem  
e-Donator

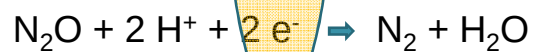
### 2. Nitritreduktion



### 3. Stickstoffmonoxidreduktion

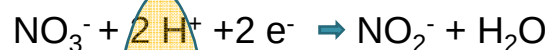


### 4. Distickstoffoxidreduktion

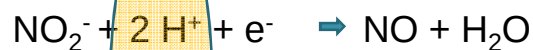


## Denitrifikation

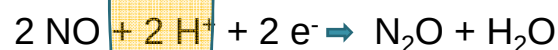
### 1. Nitratreduktion



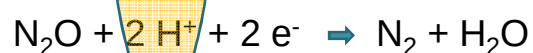
### 2. Nitritreduktion



### 3. Stickstoffmonoxidreduktion



### 4. Distickstoffoxidreduktion



Von NADH  
nicht  
aus dem  
Wasser,  
keine pH-  
Änderung

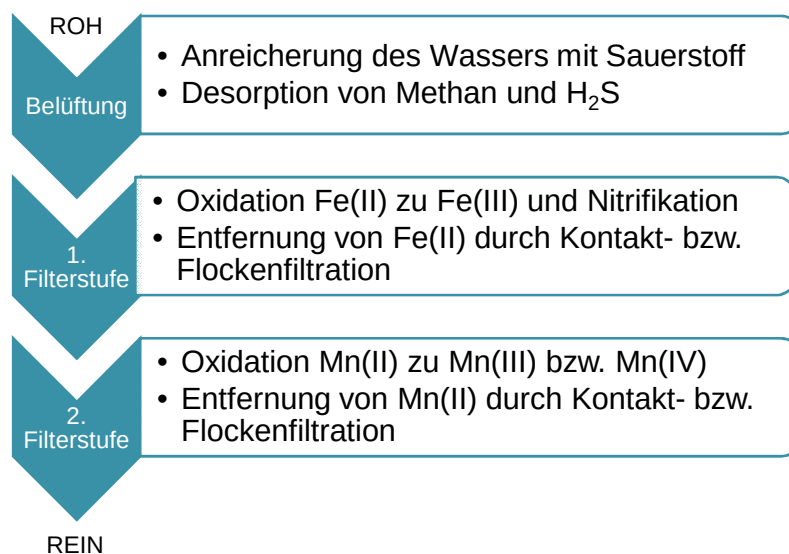
## Lithotrophie II, Fe-Oxidation

| Redoxsystem                       |                      |                  |                                                      |                        | pE°   |
|-----------------------------------|----------------------|------------------|------------------------------------------------------|------------------------|-------|
| 1/4 CO <sub>2</sub> (g)           | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/4 CH <sub>2</sub> O                              | + 1/4 H <sub>2</sub> O | -1,20 |
| 1/4 CO <sub>2</sub> (g)           | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/24 C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> | + 1/4 H <sub>2</sub> O | -0,20 |
|                                   | H <sup>+</sup>       | + e <sup>-</sup> | = 1/2 H <sub>2</sub> (g)                             |                        | 0,00  |
| 1/2 S(s)                          | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/2 H <sub>2</sub> S (g)                           |                        | 2,89  |
| 1/8 SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | + 9/8 H <sup>+</sup> | + e <sup>-</sup> | = 1/8 HS <sup>-</sup>                                | + 1/2 H <sub>2</sub> O | 4,25  |
| 1/4 CH <sub>2</sub> O             | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/4 CH <sub>4</sub> (g)                            | + 1/4 H <sub>2</sub> O | 6,94  |
| 1/2 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/2 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>                   | + 1/2 H <sub>2</sub> O | 14,15 |
| 1/6 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | + 4/3 H <sup>+</sup> | + e <sup>-</sup> | = 1/6 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>                   | + 1/3 H <sub>2</sub> O | 15,14 |
| Fe(OH) <sub>3</sub> (s)           | + 3 H <sup>+</sup>   | + e <sup>-</sup> | = Fe <sup>2+</sup> +                                 | 3 H <sub>2</sub> O     | 16,00 |
| 1/4 O <sub>2</sub> (g)            | + H <sup>+</sup>     | + e <sup>-</sup> | = 1/2 H <sub>2</sub> O                               |                        | 20,75 |

} Eisenoxidierer

Chemo-litho-autotroph

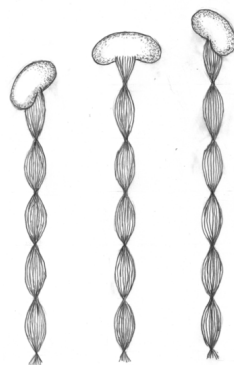
## Exkurs: Trinkwassergewinnung aus Grundwasser



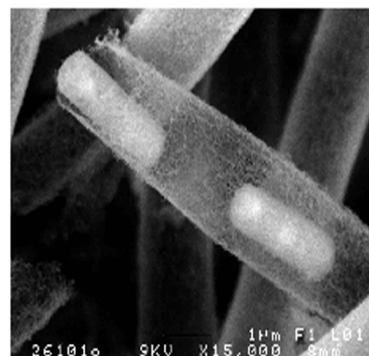
## Filtrationsstufe

- Sandfilter, Körnung idR 1-2 mm
- Fe/Mn Oxidhydrate scheiden sich ab
- Filterwiderstand zu
- Rückspülung
- Mit der Zeit Ausbildung einer katalytisch wirksamen Schicht
- Insbesondere 2. FS (Entmanganung): mikrobiologische Entfernung

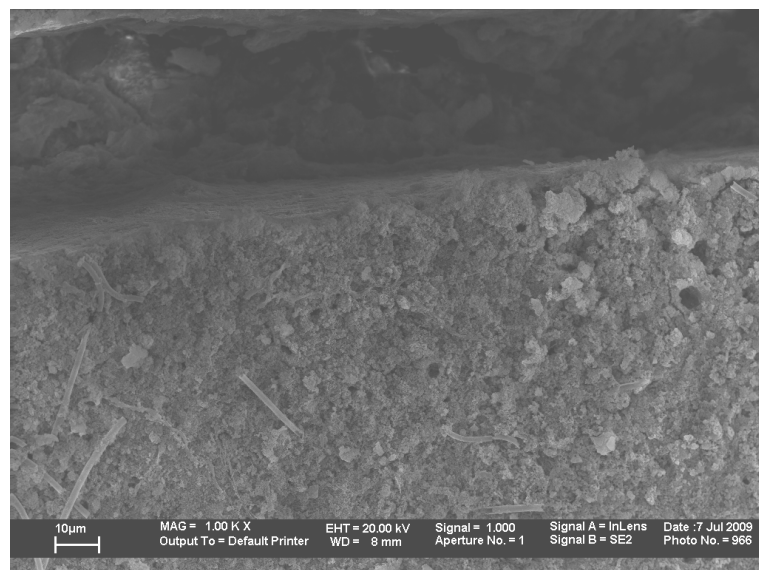
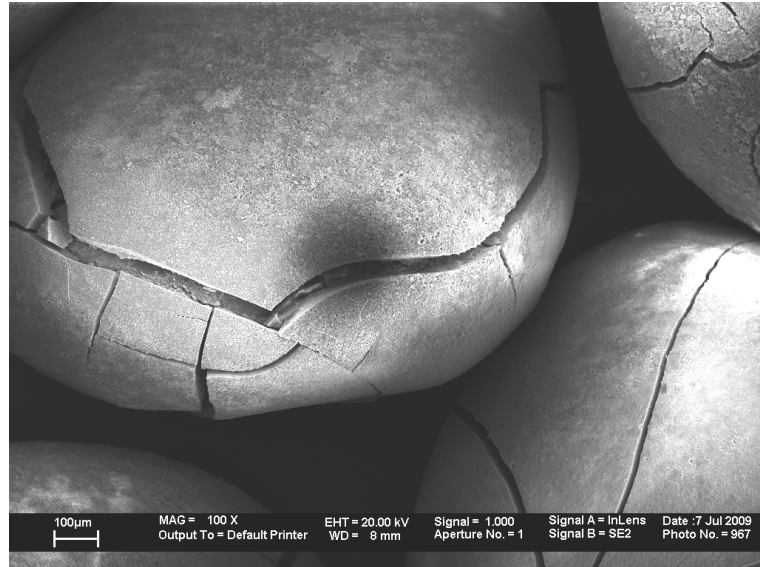
- *Galionella* spp.

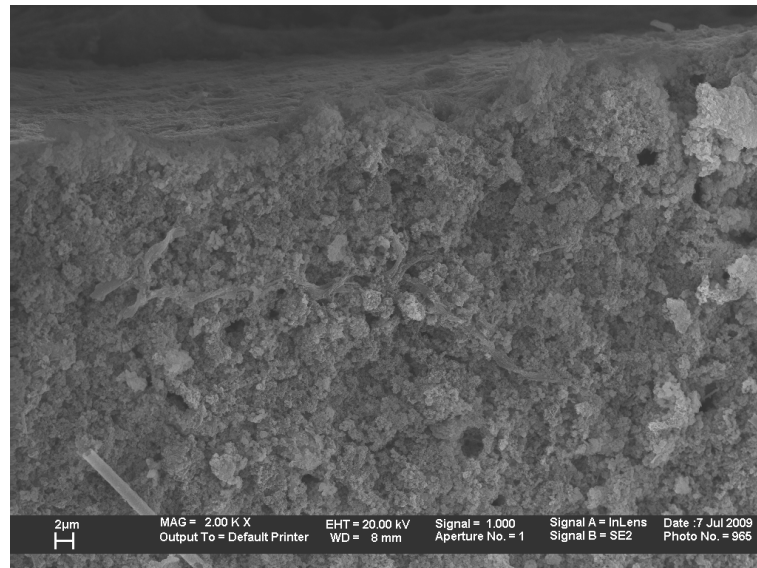


- *Leptothrix* spp.

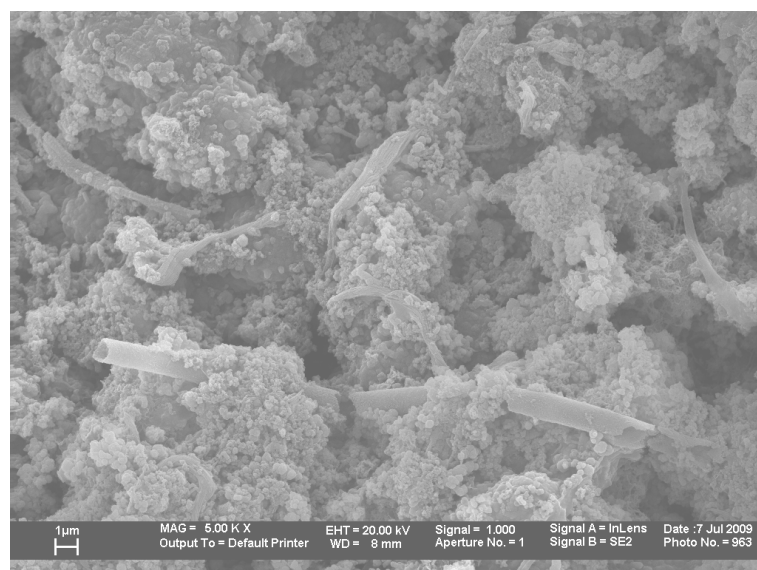


## Filterkorn



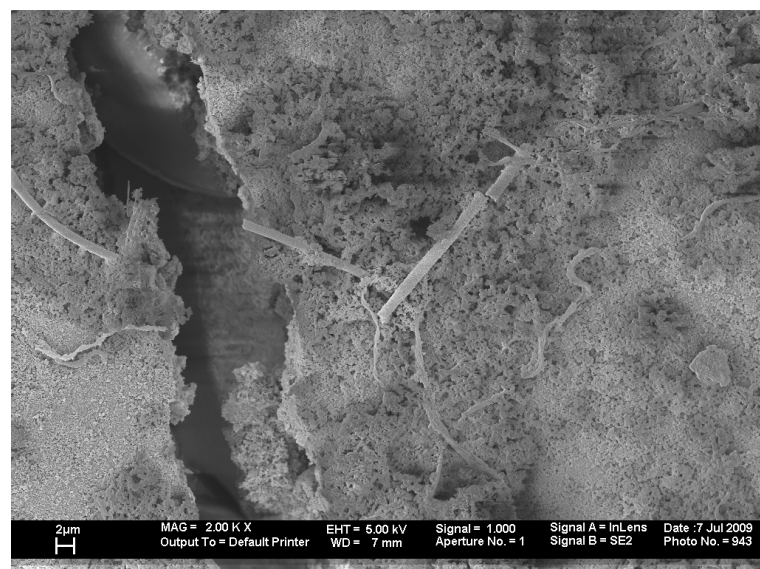
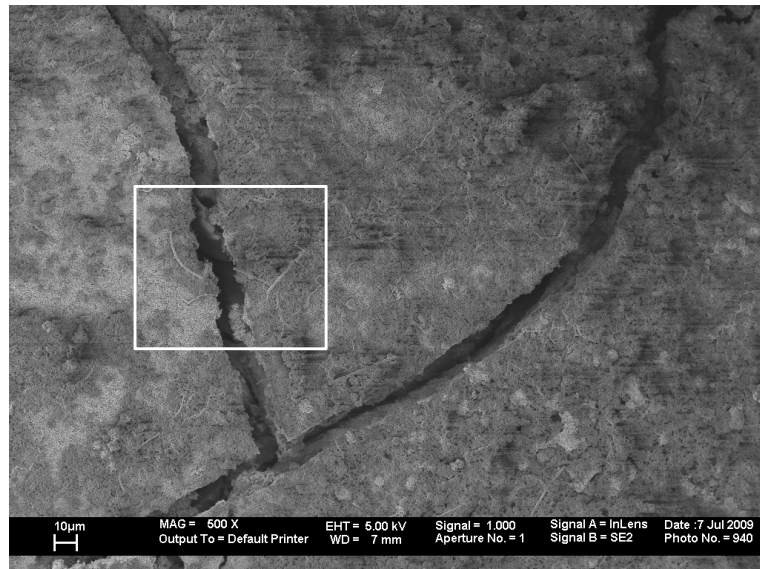


## REM Eisenbakterium

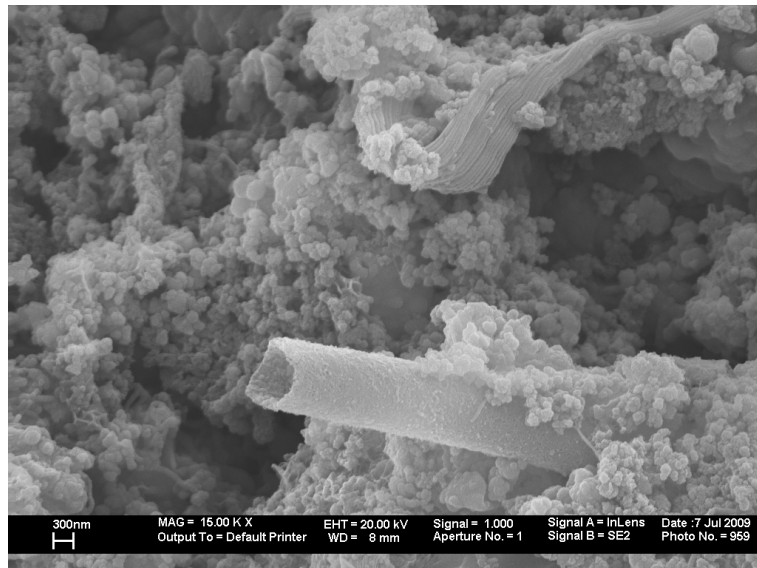




## REM Eisenbakterien



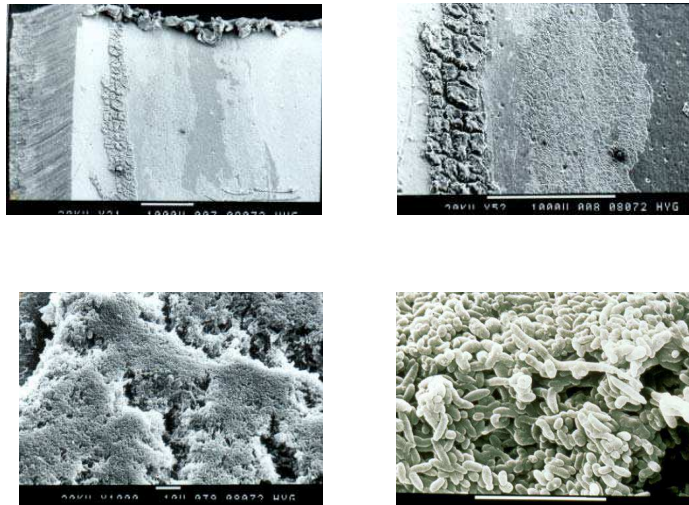




## BIOFILM



Biofilm auf Zähnen (links: Picioreanu 2003, rechts: © Flemming)



Biofilm in einer Desinfektionsmittelleitung  
(G.-J.Tuscherwitzki)



© Fotos Flemming





Duschschlauch  
© Fotos Flemming



## Biofilm

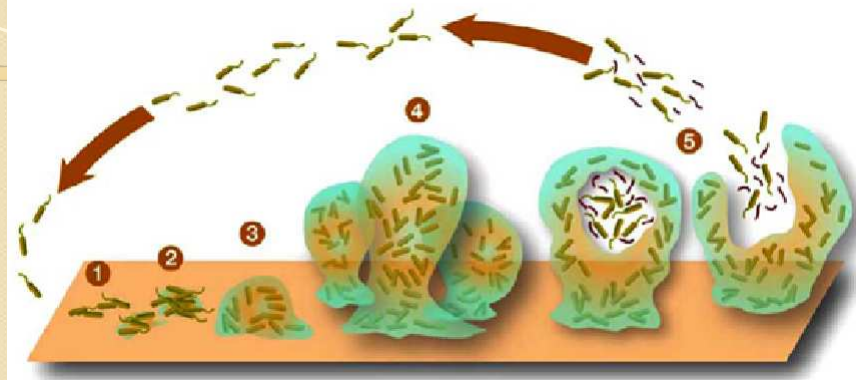
- das wirkliche Habitat der Bakterien
- unterschiedliche Bakterien
- räumliche Nähe
- 3D-Struktur
- EPS (extrazelluläre polymere Substanzen)



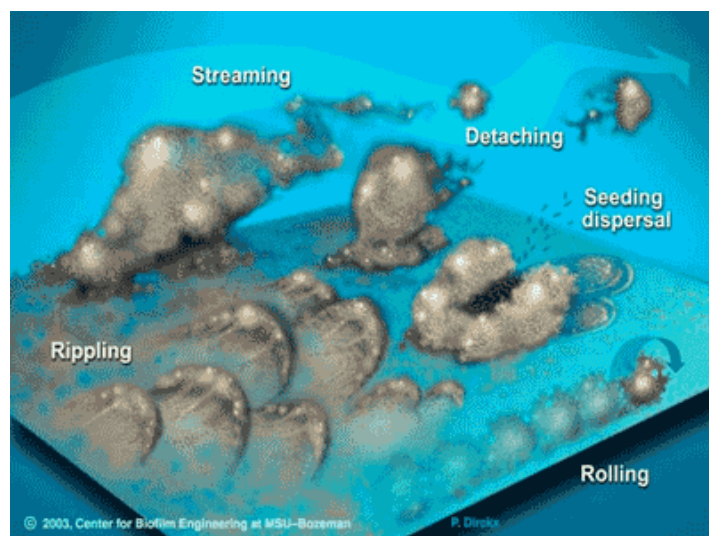
## EPS

- Ausgescheidene Polysaccharide und Proteine
- „Schleim“ = Klebstoff

## Entstehung eines Biofilms



1. Einzelzellen auf der Oberfläche (Sekunden)
2. EPS-Bildung, irreversible Adhäsion (Sekunden bis Minuten)
3. + 4. Wachstum und Reifung (Tage)
5. Abgabe von Zellen





## „Grazer“

- Einzellige Organismen, die den Biofilm „abgrasen“



## Zusammenfassung

- Bakterien leben in „WGs“=Biofilm
  - Selbst organisierte Habitate
    - Stoffaustausch
    - Schutz
    - Standortvorteilen

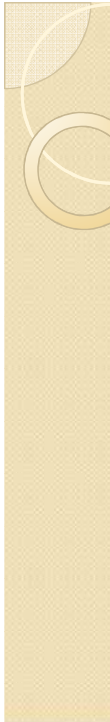


## MIKROBIELLE METHODEN



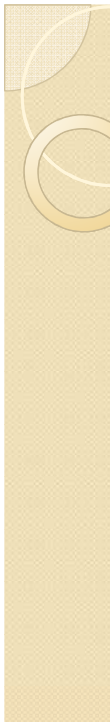
### Kultivierende Methoden: Anreicherungskulturen

- Herstellung optimaler Bedingungen für das Zielbakterium **und** suboptimale Bedingungen für nicht-Zielbakterien
  - Temperatur
  - pH-Wert
  - C-Quelle
  - Spurenelemente
  - Co-Faktoren
- Inokulum



## Anreicherungskultur: Student

- Sonne (mit etwas Schatten) + Strand
- ca. 30°C
- Fast Food
- 7°C kaltes Bier
- Musik
- Spurenelemente: Zigaretten



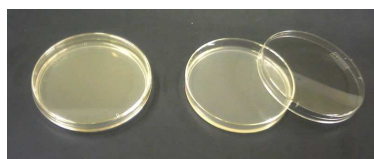
## Anreicherungskultur Nitrifikanten

- Puffer gegen pH-Wert Änderung
- Sauerstoff und CO<sub>2</sub> ➡ schütteln
- Spurenelemente
- dunkel

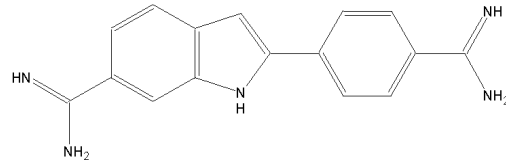
## Feste Kulturmedien

- z.B. Selektiv: wie Anreicherungskultur, allerdings Zugabe „agar-agar“
  - Aus Algen gewonnenenes Verdickungsmittel
  - „Gelatine für Veganer“
  - Herstellung von Nährböden
  - wird bei 95°C flüssig, bei 45°C wieder fest

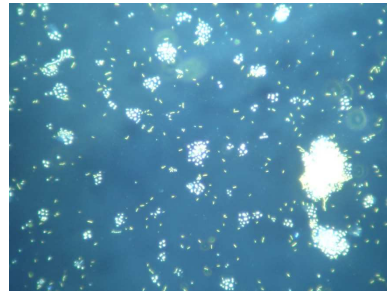
## Agarplatten



## Molekularbiologische Methoden: DAPI-Färbung

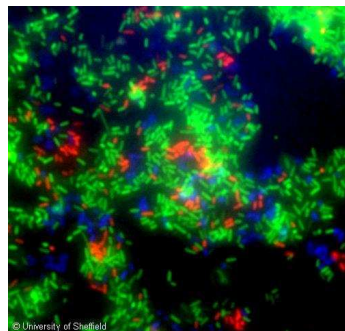
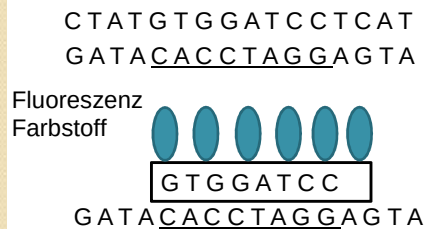


- 4',6-Diamidin-2-phenylindol
- Färbt DNA

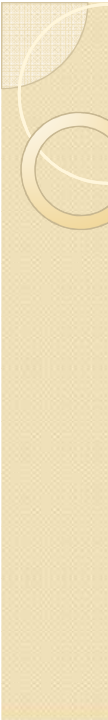


## FISH

- Fluoreszenz In-Situ Hybridisierung
- Anfärben von DNA bzw. RNA

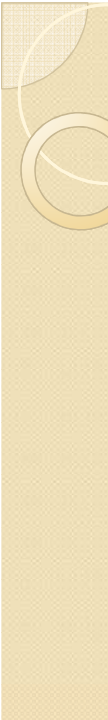






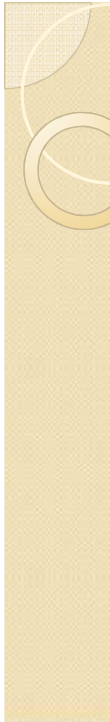
## Zusammenfassung

- Mikroorganismen bilden Zweckgemeinschaften
- Zwischenprodukte verbinden Stoffwechsel unterschiedlicher Bakterien(z.B. Nitrifikation)
- Biofilm als typische Lebensgemeinschaft der Bakterien



## Klausurfragen

- Beschreiben sie die Synergie der Beteiligten Mikroorganismen bei der Nitrifikation
- Erläutern sie den Begriff Selektivmedium
- Welche Bestandteile beinhaltet ein Selektivmedium für Nitrifikanten, und warum



## Nächstes Mal

- Verteilungskoeffizienten
- Sorption