

Antibakterielle Wirkung von Thymian

Seminararbeit im Fach Biologie

Florian Schubert

6. November 2018



Städtisches Heinrich-Heine-Gymnasium München

Seminararbeit im Fach
Biologie

Thema:
Antibakterielle Wirkung von Thymian

Verfasser: Schubert, Florian

Kursleiterin: StDin Grabatin, Barbara

Erzielte Note: in Worten:

Erzielte Punkte: in Worten:

abgegeben bei der Oberstufenkoordination:

.....

Unterschrift der Kursleiterin

Inhaltsverzeichnis

1	Thymian als Heilkraut	3
2	Trübungsmessung	4
2.1	Vorüberlegungen	5
2.2	Vorversuche	7
2.3	Durchführung	10
2.4	Auswertung	14
2.5	Diskussion der Ergebnisse	18
3	Fazit	19
4	Literaturverzeichnis	21
4.1	Buchquellen	21
4.2	Internetquellen	21
5	Abbildungsverzeichnis	22
6	Material	23
7	Selbstanfertigungsbestätigung	64

1 Thymian als Heilkraut

Seit Jahrtausenden wird Thymian als Gewürz- und Heilpflanze genutzt. So waren dessen Eigenschaften bereits vor mehr als 4000 Jahren bei den Sumerern bekannt (nach Hiller et al. 2016, S. 648). Nach der Ausbreitung der Pflanze in Deutschland etwa im 11. Jahrhundert nach Christus wurde sie vor allem in Klostergärten angebaut, wo weitere krankheitslindernde und heilende Wirkungen entdeckt wurden (nach Juvalis 2018). Noch heute sind Bestandteile des Thymians Inhalt einiger pharmazeutischer Präparate, vor allem gegen Beschwerden im Bereich der Atemwege, wie beispielsweise in Hustensäften (nach Sticher 2015, S. 717).

Diese schon lang bekannten Heilkräfte sind mitunter auf die antibakterielle Wirkung des Krauts, genauer gesagt dessen ätherischer Öle, zurückzuführen (nach Hiller et al. 2016, S. 648). Doch lässt sich diese Wirkung auf Bakterien unmittelbar nachweisen und wenn ja, wie wird ein solcher Nachweis geführt? Auf beide Fragen wird in dieser Seminararbeit eingegangen, indem experimentell versucht wird, die hemmende Wirkung des Thymian-Öls aufzuzeigen. Es werden aus Nährsubstanz und Bakterien bestehende Proben angelegt, wovon einige mit den ätherischen Ölen behandelt werden, während andere unbehandelt bleiben. Die Proben werden einige Zeit im Wärmeschrank aufbewahrt, um ein Wachstum der Bakterienkolonien zu ermöglichen. Anschließend werden die Proben bei der Trübungsmessung mit einem Photometer mit einem Lichtstrahl einer bestimmten Wellenlänge durchleuchtet, um die antibakterielle Wirkung zu bestimmen. Abhängig von der Bakterienzahl sollten sich unterschiedliche Trübungen zwischen den Proben zeigen. Dabei kann unter bestimmten Bedingungen die Trockenmassenkonzentration der Bakterien in der Suspension berechnet werden (nach Bast 2014, S. 421).

Die behandelten Proben sollten sich eindeutig von den unbehandelten unterscheiden, da durch die ätherischen Öle das Bakterienwachstum zumindest eingeschränkt sein müsste. Mich persönlich interessiert besonders, ob die Versuchsergebnisse eine Abhängigkeit des Bakterienwachstums von der Menge des eingesetzten Öls, beispielsweise in Form einer linearen Abhängigkeit, zeigen.

2 Trübungsmessung

Es gibt diverse Möglichkeiten, das Bakterienwachstum in Proben zu bestimmen. Üblicherweise werden mehrere Versuchsreihen vorbereitet, nach einer bestimmten Zeit die Messung durchgeführt und anschließend die Ergebnisse miteinander verglichen. So kann man zeigen, in welcher Probe sich mehr Bakterien vermehren konnten und in welcher die Vermehrung gehemmt war. Zudem kann die Stärke der hemmenden Wirkung gezeigt werden.

Für die Messung kann auf unterschiedlichste Methoden zurückgegriffen werden, bei denen die Konzentration, die Anzahl oder auch das Gewicht der Mikroorganismen bestimmt wird. Für einige davon muss man die Bakterien aus der Probe extrahieren, für andere belässt man sie für die Messung in ihrer ursprünglichen Umgebung. In dieser Arbeit wurde aufgrund der Umsetzbarkeit in einem Schullabor entschieden, eine Arbeitstechnik zu nutzen, bei der die Bakterien für die Messung nicht extrahiert werden müssen. Besonders geeignet erscheint hierbei die Trübungsmessung als optisches Verfahren zum Nachweis der Bakterienkonzentration und damit der antibakteriellen Wirkung des Thymian-Öls.

Zu Beginn muss die zu kultivierende Bakterienart bestimmt werden. Weil die Versuche in einem Schullabor mit niedriger Schutzstufe durchgeführt werden, darf nicht mit pathogenen Bakterien gearbeitet werden. Es bietet sich also an, mit alltäglichen Bakterien wie beispielsweise solchen aus Lebensmitteln zu arbeiten. Zur Untersuchung der hemmenden Wirkung des Thymian-Öls wurde sich für die Milchsäurebakterien aus Bio-Joghurt *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* und *Lactobacillus acidophilus* entschieden (nach Bast 2014, S. 166), weil sie unkompliziert und kostengünstig verfügbar, sowie in den Versuchen ungefährlich einsetzbar sind.

Vor der Trübungsmessung muss die Nährlösung mit den Bakterien aus dem Bio-Joghurt angeimpft und anschließend jeweils mit einer bestimmten Menge an Thymian-Öl als Hemmstoff behandelt werden. Nachdem sich die Bakterien für mehrere Stunden im Wärmeschrank unterschiedlich stark vermehren konnten werden die Proben bei der Trübungsmessung durchleuchtet.

Mit der Trübungsmessung kann die Trockenmassenkonzentration der Bakterien in einer flüssigen Umgebung ermittelt werden. Dafür werden die Proben mittels eines Photometers mit Licht einer bestimmten Wellenlänge durchleuchtet. Somit kann man die durch die Bakterien verursachte Streuung des Lichtstrahls messen und dadurch Rückschlüsse auf die Konzentration der Mikroorganismen in der Probe ziehen und diese berechnen (nach Bast 2014, S. 405f sowie S. 421).

2.1 Vorüberlegungen

Bei einem Photometer handelt es sich um ein optisches Messgerät, welches hauptsächlich aus einer Lichtquelle, einem Lichtfilter, einem Probenraum, einem Strahlungsdetektor sowie einem elektronischen Verstärker mit Registriergerät besteht. Als Lichtquelle werden Kontinuumstrahler, welche Licht in einem weiten Spektralbereich abgeben und in Spektralphotometern zum Einsatz kommen, oder Linienstrahler, die lediglich ein Linienspektrum aussenden, verwendet. Mittels unterschiedlicher Spiegel, Spalten, Beugungsgitter und Filter wird der Frequenzbereich des Lichts verändert und anschließend gebündelt durch die Probe im Probenraum geleitet. Nach dem Durchqueren der Probe passieren die nicht abgelenkten und nicht absorbierten Strahlen eine Blende und treffen auf einen Strahlungsdetektor. Dieser wandelt die elektromagnetischen Wellen des durchgedrungenen Lichts in elektrische Impulse um, welche verstärkt und von einem Registriergerät erfasst werden. Je nach Bauart gibt es eine Anzeige beziehungsweise eine Speicherfunktion der Messwerte. Dabei ist die Genauigkeit besonders hoch, wenn der Messstrahl scharf gebündelt sowie der Strahlungsdetektor weit von dem Küvettenhalter entfernt ist und wenn der Detektor über eine geringe Apertur, also einen kleinen Öffnungswinkel, in dem er für Strahlen empfänglich ist, verfügt (nach Bast 2014, S. 408ff).

Es wurde beschlossen, Licht der höheren Wellenlänge $\lambda = 660\text{nm}$ im sichtbaren Bereich zu analysieren. Einerseits weisen die verwendeten Flüssignährlösungen eine bräunliche Färbung auf und absorbieren folglich selbst im kurzwelligen Bereich bis etwa 500nm . Würde man in diesem Bereich messen, träten durch die Absorption der Nährlösung unerwünschte Verzerrungen der Ergebnisse auf, die diese unbrauchbar machen könnten. Andererseits nimmt die Genauigkeit der Messung mit zunehmender Wellenlänge zu, da Strahlen einer größeren Wellenlänge bei der Streuung durch die Bakterien stärker abgelenkt werden und somit auch gute Ergebnisse mit einem Photometer erzielt werden können, bei dem, wie bei dem hier verwendeten Photometer, der Abstand zwischen Detektor und Probenraum kleiner oder die Apertur des Detektors größer ist (nach Bast 2014, S. 418).

Mit dem Spektralphotometer lässt sich für jede einstellbare Frequenz der spektrale innere Transmissionsgrad τ ermitteln. Dieser gibt das Verhältnis des ein- und austretenden Strahlenflusses $\Phi_{\text{in/ex}}$ und somit den Teil des Lichtes an, der die Probe geradlinig durchqueren kann und nicht durch Streuung abgelenkt wird. Unkomplizierter ist es jedoch, die Extinktion E zu messen und anschließend damit die Zelldichte c oder die Trockenmassenkonzentration β zu errechnen. Weil mit der Bezeichnung *Extinktion* insbesondere die Absorption und nicht die, für diese Messung deutlich einflussreichere Streuung bezeichnet wird, ist es ratsam, von der *scheinbaren Extinktion* zu sprechen. Für die Berechnung außerdem relevante Größen sind die Schichtdicke d der Probe sowie der dekadische Streu-

koeffizient s , der aus dem natürlichen Streukoeffizienten s_n berechnet werden kann und das Verhältnis der Lichtbrechung des Suspensionsmediums und der Zellen beschreibt. Die Zelldichte kann auf Grundlage des Lambert-Beer'schen Gesetzes für die Lichtabsorption wie folgt berechnet werden (nach Bast 2014, S. 406f):

$$E = \lg \frac{\Phi_{\text{in}}}{\Phi_{\text{ex}}} = \lg \frac{1}{\tau} = s \times c \times d \quad \Rightarrow \quad c = \frac{E}{s \times d}$$

Einerseits liegen hier im Versuch zu viele unbekannte Größen vor, was die Bestimmung der Zelldichte unmöglich macht. Andererseits ist die Zelldichte c nur unter bestimmten Bedingungen direkt proportional zur scheinbaren Extinktion E . So dürfen keine Partikel in der Suspension vorliegen und die Bakterien müssen eine einheitliche Größe besitzen. Allgemein ist die Trübungsmessung zur Bestimmung der Zellkonzentration deshalb nicht zu empfehlen (nach Bast 2014, S. 407). Auch kann hier eine einheitliche Größe der Bakterien nicht garantiert werden, da sich die Bakterienkolonien im Wachstum befinden und sich in der Suspension somit Bakterien in unterschiedlichsten Wachstums- und Teilungsstadien befinden.

Es besteht jedoch die Möglichkeit, die Trockenmassenkonzentration anhand der scheinbaren Extinktion zu berechnen. Voraussetzung dafür ist, dass die Zelldichte und somit auch die scheinbare Extinktion niedrig ist, das Bakterienzellvolumen muss im Bereich $0,1 - 5 \mu\text{m}^3$ liegen und die Bakterien dürfen weder das Licht der ausgewählten Wellenlänge absorbieren noch sich verklumpen, damit die Proportionalität zwischen scheinbarer Extinktion und Trockenmassenkonzentration gewährleistet werden kann. Es wird außerdem ein präzises Photometer benötigt und auch diese Methode kann von Partikeln gestört werden (nach Bast 2014, S. 407f). Die Trockenmassenkonzentration kann für die Wellenlänge $\lambda = 660\text{nm}$ bei einer Schichtdicke der Probe in der Küvette von 10mm mit der folgenden Formel berechnet werden (nach Bast 2014, S. 421):

$$\beta = 9929 \times (1 - \sqrt{1 - 0,07347 \times E}) \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$$

β Trockenmassenkonzentration

E scheinbare Extinktion

Viele der Anforderungen können vollständig erfüllt werden. Die durch die verminderte Präzision des Photometers hervorgerufenen Abweichungen kann man mittels einer Eichkurve kompensieren. Misst man jedoch wie hier mit $\lambda = 660\text{nm}$ im langwelligen Bereich kann auch schon durch die Wahl der Wellenlänge ein Großteil der Störfaktoren ausgeglichen und vernachlässigt werden. Eine Eichkurve ist deshalb trotz eines etwas unpräzisen Photometers nicht nötig, um die Linearität des Berechnungsverfahrens zu gewährleisten (nach Bast 2014, S. 418). Die kugelförmigen oder ovalen Milchsäurebakterien sind

0,5 – 1,0 μm groß und umfassen folglich etwa ein, nach der allgemein bekannten Volumenformel für Kugeln $V = \frac{4}{3} \times \pi \times r^3$ berechnetes Zellvolumen von 0,065 – 0,52 μm^3 , wenn man die Bakterien näherungsweise als Kugeln betrachtet. Geht man davon aus, dass nur ein vernachlässigbar kleiner Anteil der Zellen kleiner ist als die anhand des minimal benötigten Volumens berechnete Länge von 0,58 μm , so hat der verbleibende Großteil der Bakterien ein für die Trübungsmessung ausreichendes Volumen von mindestens 0,1 μm^3 . Auch liegen die meisten Bakterien wie benötigt einzeln und nur vereinzelt in Paaren oder Ketten, aber nicht verklumpt vor. Diese kleineren Paar- oder Kettenbildungen verfälschen das Ergebnis jedoch nicht (nach Bast 2014, S. 166, S. 408). Die Schichtdicke der Proben beträgt wie benötigt 10mm. Es wird davon ausgegangen, dass die von den Bakterien absorbierte Strahlung vernachlässigt werden kann. Eine niedrige Zelldichte ist dadurch zu erreichen, dass die Proben nur kurz inkubiert werden und die Bakterien sich folglich in diesem kurzen Zeitraum nur begrenzt vermehren können. Die Vermeidung von Partikeln erfolgt dadurch, dass einerseits nur ein minimales Volumen von Joghurt und Thymian-Öl zugeführt und andererseits eine Nährlösung ohne Partikel verwendet wird.

Schlussendlich ergibt sich folgende Abhängigkeit der scheinbaren Extinktion vom Bakterienwachstum: Je mehr beziehungsweise je größer die Bakterien in der Nährlösung sind, desto stärker ist die durch sie verursachte Streuung des Lichtflusses. Mit Zunahme der Streuung steigt der scheinbare Extinktionswert an. Es wird also erwartet, dass in den Proben, in denen sich die Bakterien frei vermehren können, hier als Referenzproben bezeichnet, die meisten Bakterien vorliegen. Somit sollten diese durch die stärkste Streuung den größten Messwert aufweisen. Die Messwerte der mit bakterienhemmenden Stoffen behandelten Proben, im Folgenden als Hemmproben bezeichnet, sollten demnach geringer ausfallen. Folglich müsste die scheinbare Extinktion sowie damit auch die Trockenmasenkonzentration mit zunehmender Menge der hemmenden Stoffe abnehmen.

2.2 Vorversuche

Da die Versuchsergebnisse stark von den verwendeten Bakterien, der Nährlösung und dem antibakteriellen Stoff abhängig sind, werden genaue Dosierungs- und Verfahrensangaben benötigt. Deswegen wurden einige Vorversuche mit unterschiedlichen Versuchsreihen durchgeführt, um die benötigten Mengen der Substanzen experimentell zu bestimmen sowie die Abläufe auf ihre Durchführbarkeit hin zu prüfen.

Als Grundlage zum Kultivieren und zum späteren Durchleuchten wird für die Milchsäurebakterien eine Flüssignährlösung für anaerobe Mikroorganismen benötigt (nach Bast 2014, S. 166). Diese darf wie beschrieben keine Partikel enthalten und sollte für das Durchleuchten idealerweise transparent beziehungsweise bräunlich gefärbt sein. Aufgrund der einfachen Verfügbarkeit von Fertigagarpulver wurde zuerst getestet, ob sich dieses in

Wasser gut lösen lässt, um als Flüssignährlösung eingesetzt werden zu können. Jedoch zeigte sich deutlich, dass die Verwendung aufgrund der schlechten Löslichkeit des Pulvers und den daraus resultierenden vielen unerwünschten Partikeln nicht möglich ist. Zudem konnte ein Wachstum der Bakterien in der Agar-Umgebung nicht festgestellt werden. Daraufhin wurde die Nährlösung *BD BACTEC™ Plus Anaerobic/F Culture Vials* benutzt, welche laut Herstellerangaben zur Kultivierung anaerober Bakterien aus Blutproben vorgesehen ist (nach BD 2015). In diversen Versuchsreihen erwies sie sich als gut geeignet, um einerseits die Milchsäurebakterien zu kultivieren und andererseits die Trübungsmessung mit dem Photometer durchzuführen. Zwar liegen einige Nährstoffe als Granulat in der Lösung vor, jedoch setzt sich dieses innerhalb weniger Sekunden am Boden der Küvette ab und behindert deswegen die Messung nicht. Es erwies sich als praktikabel, jeder Probe 2,5ml Flüssignährlösung sowie eine Spatelspitze Granulat zuzuführen.

Um verwertbare Ergebnisse zu erzielen muss die richtige Menge des Hemmstoffs, in diesem Fall Thymian-Öl, verwendet werden. Einerseits soll die Bakterienvermehrung nicht zu stark gehemmt werden, sodass noch ein Wachstum beobachtet werden kann, aber andererseits sollen die Proben dennoch mit ausreichend Öl behandelt werden, damit eine hemmende Wirkung auftritt. Es stellte sich heraus, dass bereits bei zwei Tropfen Thymian-Öl die Vermehrung stark gehemmt wird. Deswegen werden im Hauptversuch auch Versuchsreihen mit Proben analysiert, die nur mit einem Tropfen Thymian-Öl oder einem Bruchteil davon behandelt werden. Trotzdem wird auch mit mehr als zwei Tropfen des Öls gearbeitet, um den Messbereich zu erweitern und die Aussagekraft der Ergebnisse zu erhöhen.

Da man keine halben Tropfen abgeben kann, muss das Thymian-Öl mit Wasser verdünnt werden, sodass ein Tropfen nur 50% oder 25% Öl enthält. Ungünstigerweise beinhaltet ein Tropfen kein genormtes Volumen, sondern kann je nach Art und Zusammensetzung der enthaltenen Stoffe unterschiedlich groß sein. Für die Auswertung wird jedoch ein exaktes Thymian-Öl-Volumen eines Tropfens benötigt, welches bei dem Vorversuch der Tropfenvolumen-Bestimmung ermittelt wurde. Dabei wurde herausgefunden, dass ein unverdünnter Thymian-Öl-Tropfen 0,010ml umfasst, ein Tropfen, der zu 50% aus Thymian-Öl besteht, 0,013ml des Öls beinhaltet und einer, der zu 25% aus dem Öl besteht, 0,0074ml davon enthält. Das führt dazu, dass Proben mit einer größeren Tropfenzahl nicht unbedingt ein größeres Volumen an Thymian-Öl beinhalten, da halbe Tropfen des wässrigen Gemischs mehr Thymian-Öl als ganze unverdünnte Tropfen beinhalten. Dieser Effekt auf die Tropfengröße ist vermutlich auf die Unterschiede bei der Oberflächenspannung zwischen wässrigen und öligen Gemischen zurückzuführen, beeinträchtigt die Auswertung jedoch nicht, da für diese lediglich das Thymian-Öl-Volumen und nicht die Tropfenzahl relevant ist.

Auch das Volumen des zum Animpfen verwendeten Bio-Joghurts spielt eine Rolle. Wird zu viel verwendet, könnten sich Schlieren bilden, welche vergleichbar mit Partikeln die Messung verfälschen können. Falls zu wenig verwendet wird, könnte es sein, dass nicht genügend Milchsäurebakterien in die Lösung übertragen werden und sich folglich keine oder kaum Bakterien vermehren und somit messen lassen würden. Bei den Vorversuchen hat es sich bewährt, eine Spatelspitze Joghurt und 20ml Wasser zu vermischen und von dieser Lösung in jede Probe jeweils einen Tropfen abzugeben.

Zusätzlich ist es relevant, wie lange man die Proben im Wärmeschrank inkubiert. Um das zu klären wurden zwar keine zusätzlichen Vorversuche durchgeführt, jedoch zeigte sich bei dem Großteil der Versuchsreihen, dass die Ergebnisse bei einer Inkubationsdauer von 1 – 2 Tagen einer Versuchsreihe unter gleichen Bedingungen weniger breit gestreut waren und im Gegensatz zu längeren Inkubationszeiten weniger stark vom Mittelwert abweichen. Zudem darf die Bakteriendichte, wie erläutert, für die Messung nicht zu hoch werden, was durch die kurze Inkubation erreicht wird. Die Idealtemperatur für das Wachstum der Milchsäurebakterien liegt laut Literatur etwa bei 40°C (nach Bast 2014, S. 165), jedoch vermehrten sich die Bakterien in den Vorversuchen besonders gut bei 42 – 44°C.

Auffallend war bei den Messungen mit dem Photometer, dass bei der selben Probe trotz einiger Ruhezeit und ohne sichtbare Partikel oder Verwirbelungen der gemessene scheinbare Extinktionswert im Verlauf der Messung mehr oder weniger stark schwankte. Um diese Schwankungen auszugleichen bietet es sich an, von jeder Probe jeweils fünf Messungen zu erheben und dann anschließend aus diesen den Mittelwert zu berechnen, auf welchem dann auch die Auswertung basiert. Dafür wird die Flüssigkeit der Probe kurz vor der Messung im Reagenzglas kräftig geschüttelt, in eine Küvette des Photometers umgefüllt und diese im Probenraum des Photometer positioniert. Dort wird sie für 30 Sekunden ruhen gelassen, damit sich das Granulat am Boden absetzen sowie sich die Verwirbelungen in der Nährlösung deutlich abschwächen können. Im Anschluss werden die fünf Messungen mit jeweils 15 Sekunden Zeitdifferenz durchgeführt und gespeichert. Durch dieses Vorgehen gelingt es, die Messschwankungen zu einem Großteil auszugleichen und die Belastbarkeit der Ergebnisse zu erhöhen.

Das hier verwendete Photometer *Go Direct[®] SpectroVis[®] Plus* verfügt über eine automatische Kalibrierung, also eine Eichung der Messkurve. Bei der Durchführung der Vorversuche stellte sich heraus, dass sich die Eichung aufgrund größerer Messschwankungen, die auch schon beim Durchleuchten der einzelnen Proben aufgefallen waren, als recht ungenau erwies. Um dieses Problem zu beheben, wird die Eichung manuell durchgeführt. Da nur die scheinbare Extinktion bei der Wellenlänge $\lambda = 660$ betrachtet wird, dürfte die Eichung für diesen einen Messpunkt lediglich eine lineare Verschiebung des scheinbaren Extinktionswertes darstellen. Dazu wird das Photometer zu Beginn, statt wie

vom Hersteller vorgesehen mit einer leeren Küvette, im komplett leeren Zustand ohne Küvette kalibriert, die Messwerte werden also relativ zur Absorption der Umgebungsluft abgespeichert. Es erwies sich als zielführend, das arithmetische Mittel der Extinktionswerte der nicht mit Thymian-Öl behandelten Proben \bar{E}_E , die lediglich Flüssignähr- lösung und Joghurt enthalten und direkt nach dem Animpfen durchleuchtet werden, im Folgenden als Eichproben bezeichnet, als Nullwert der scheinbaren Extinktion anzusehen. Bei dem Durchleuchten der Referenz- und Hemmproben werden deren gemessene Extinktionswerte E_{MR} beziehungsweise E_{MH} nicht direkt für die Auswertung verwendet, stattdessen wird von ihnen der selbst berechnete Nullwert \bar{E}_E subtrahiert, um die für die Eichung verrechneten und für die Auswertung verwendeten Extinktionswerte E_R beziehungsweise E_H zu erhalten. Im Folgenden werden somit lediglich die so berechneten Extinktionsdifferenzen zu den Eichproben betrachtet, weil nur diese für die Bestimmung der Trockenmassenkonzentration relevant sind.

Die Größen werden hier stets mit Indizes zur erleichterten Zuordnung angegeben. Dabei stehen 'E', 'R' und 'H' für Eich-, Referenz- beziehungsweise Hemmproben und 'M' gibt an, dass es sich um einen tatsächlichen Messwert handelt, der noch nicht bei der Eichung verrechnet wurde. Das ist selbstverständlich bei den Eichproben nicht notwendig. Bei den Hemmproben ist zusätzlich noch die verwendete Thymian-Öl-Tropfenzahl der Versuchsreihe angegeben. So steht beispielsweise 'H2,5' für eine Hemmprobe, die mit 2,5 Tropfen Thymian-Öl behandelt wurde. Genaueres kann in der angehängten Dokumentation zur Variablen-Bezeichnung nachgeschlagen werden.

Insgesamt zeigten die Vorversuche, dass für eine belastbare Auswertung pro Versuchsreihe mindestens vier identische Proben vorbereitet und ausgemessen werden sollten. Dies hat den Zweck, dass die Genauigkeit des jeweiligen arithmetischen Mittels der scheinbaren Extinktionswerte aller Proben einer Versuchsreihe trotz vereinzelter Ausreißer, die deutlich vom Mittelwert abweichen, steigt. Außerdem ist aus den Vorversuchen hervorgegangen, dass die jeweilige Standardabweichung, also die Differenz der einzelnen Messwerte zum arithmetischen Mittel, vergleichsweise hoch ist, die Messwerte also breit gestreut sind. Dem soll mit einer möglichst hohen Probenanzahl innerhalb einer Versuchsreihe entgegengewirkt werden (nach Bast 2014, S. 320f). Jedoch sollte auch die Anzahl der unterschiedlichen Versuchsreihen möglichst groß sein. Als Kompromiss wurde beschlossen, mit neun Versuchsreihen mit jeweils fünf identischen Proben zu arbeiten.

2.3 Durchführung

Während der gesamten Vorbereitung der Proben ist ein äußerst sauberes und ordentliches Arbeiten dringend erforderlich. Würden die Proben beispielsweise mit unerwünschten Mikroorganismen kontaminiert, wäre eine genaue Messung und Auswertung nicht mög-

lich, da sich die eingeschleppten Mikroorganismen auch in der Probe vermehren und somit Streuung und Messwerte beeinflussen könnten. Insbesondere sollte ein Hautkontakt mit den Innenseiten der verwendeten Gefäße vermieden werden, da die Haut Träger diverser Mikroorganismen ist. Auch nicht mikrobielle Verunreinigungen beispielsweise in Form von Partikeln können das optische Verfahren beeinträchtigen. In der Folge wären solche Proben unbrauchbar und müssten von der Auswertung ausgeschlossen werden.

Zu Beginn werden 45 Reagenzgläser mit 45 Stopfen, 3 Bechergläser sowie 2 Spatel und eine Pinzette gründlich mit heißem Wasser gereinigt. Es ist zu empfehlen, bei den benötigten 2 Pipetten und 3 Spritzen, davon eine mit Kanüle, stets auf gut gereinigte oder unbenutzte Produkte zurückzugreifen. Anschließend wird etwa 120ml Flüssignährlösung mit Granulat in eines der Bechergläser gefüllt. Die hier verwendete Flüssignährlösung wurde dafür mit einer Pinzette geöffnet. In ein zweites Becherglas werden 20ml Leitungswasser gefüllt und eine Spatelspitze Bio-Joghurt dazu gegeben, während das dritte Becherglas nur mit Leitungswasser befüllt wird. Mittels einer Pipette wird die Nährlösung auf die Reagenzgläser verteilt, sodass in jedem etwa 2,5ml davon enthalten sind. Von dem im Becherglas zurückgebliebenen Granulat gibt man zu jedem Reagenzglas jeweils eine Spatelspitze dazu. Nun ist mit einer zweiten Pipette in jedes Reagenzglas jeweils ein Tropfen der Joghurt-Lösung hineinzutropfen, um die Proben mit den darin enthaltenen Milchsäurebakterien anzuzüchten.



Abb. 1: Vorbereitung Trübungsmessung

Von den 45 identischen Proben werden 5 als Eichproben unbehandelt belassen und mit einem Stopfen verschlossen beiseite gestellt. Weitere 5 werden als Referenzproben ebenfalls verschlossen und auch weggestellt. Die verbleibenden 35 Proben werden anschlie-

ßend mit unterschiedlichen Thymian-Öl-Mengen behandelt. Dieser Arbeitsschritt sollte aufgrund der ätzenden, reizenden und gesundheitsschädlichen Wirkung des Öls im Digestor und mit Schutzhandschuhen durchgeführt werden. Für die Behandlung mit dem Öl werden 3 Spritzen mit einem Fassungsvermögen von 1ml und eine Kanüle benötigt. Das Thymian-Öl wird über die Kanüle in die Spritze aufgezogen, während in den anderen beiden Spritzen aus dem vorbereiteten dritten Becherglas Leitungswasser aufgezogen wird. Ziel ist es nun, in die beiden Spritzen mit Wasser genau soviel Thymian-Öl aus der Spritze mit Kanüle einzufüllen, dass in einer der beiden das Volumenverhältnis von Thymian-Öl zu Wasser 1:1 und in der zweiten das Verhältnis 1:3 entspricht. Es resultieren drei Spritzen, aus denen jeweils Tropfen mit einer unterschiedlichen Konzentration an Thymian-Öl abgegeben werden können: Diese enthalten 100%, 50% oder 25% Thymian-Öl. Nun sollen jeweils 5 Proben eine Versuchsreihe, bestehend aus identischen Hemmproben mit jeweils der gleichen Thymian-Öl-Menge, ergeben. Die verbleibenden 35 Proben ergeben 7 Versuchsreihen, die mit unterschiedlichen Mengen des Öls behandelt werden: Die erste mit 0,25 Tropfen, die zweite mit 0,5, die dritte mit 1,0, die vierte mit 1,5, die fünfte mit 2,0, die sechste mit 2,5 und die siebte mit 3,0 Tropfen. Ein halber beziehungsweise ein viertel Tropfen des Öls ist mit einem Tropfen aus den verdünnten Spritzen realisierbar. Alle Hemmproben werden mit einem Stopfen verschlossen. Auf jeder Probe ist für eine lückenlose Dokumentation jeweils die Versuchsreihe und die Nummer der Probe innerhalb der Versuchsreihe mit einem wasserfesten Stift zu notiert. Es ist einfacher und sauberer, die Kennzeichnung vor dem Reinigen und Befüllen der Reagenzgläser durchzuführen.

Anschließend werden die Proben gut geschüttelt sowie einmal um- und wieder zurückgedreht, sodass sich die Flüssignäherlösung mit Granulat, die Joghurtlösung und gegebenenfalls das Thymian-Öl gut vermischen. Die Referenz- und Hemmproben sind gut verschlossen für 24 Stunden bei 44°C im Wärmeschrank zu inkubieren, damit sich die Bakterien mehr oder weniger gut vermehren können. Anschließend werden die Proben zur Bestimmung der scheinbaren Extinktion mit dem Photometer durchleuchtet. Die Eichproben werden ohne Inkubation direkt nach der Vorbereitung der Trübungsmessung unterzogen. Statt in Reagenzglashalter können die Reagenzgläser aufgrund der großen Anzahl in Bechergläser gestellt werden.

Für die Durchführung der Trübungsmessung werden die Küvetten und, soweit möglich, die optischen Elemente des Photometers gründlich gereinigt. Zuerst wird die Lichtquelle des Photometers vorgewärmt und eine Kalibrierung im leeren Zustand durchgeführt. Das heißt, dass alle erhobenen scheinbaren Extinktionswerte relativ zur Absorption der Raumluft erfasst werden. Während des Verfahrens darf man die Küvetten lediglich an den dafür vorgesehenen Seiten berühren, da Fettabdrücke an den vom Lichtstrahl durchquerten Flä-

chen diesen streuen und die Messwerte verfälschen würden. Die Proben werden kräftig geschüttelt, damit bei der Messung auch Bakterien erfasst werden, die sich an Wänden oder Boden angeheftet haben, und anschließend einzeln in die Küvetten entleert. Die Küvetten sollten bis kurz unter den oberen Rand befüllt werden, damit der Lichtstrahl des Photometers nicht die Oberfläche der Flüssigkeit durchquert. Auch sollte man darauf achten, dass sich nicht zu viel Granulat in der Küvette befindet, da der Lichtstrahl meist im unteren Bereich der Küvette positioniert ist und deswegen durch angehäuften Festkörper, die sich am Boden sammeln, blockiert werden kann. Wurde jedoch bei der Vorbereitung darauf geachtet, in jedes Reagenzglas die vorgesehene Menge an Flüssigkeit und Granulat zu füllen, sollte es zu keinen Verfälschungen kommen.

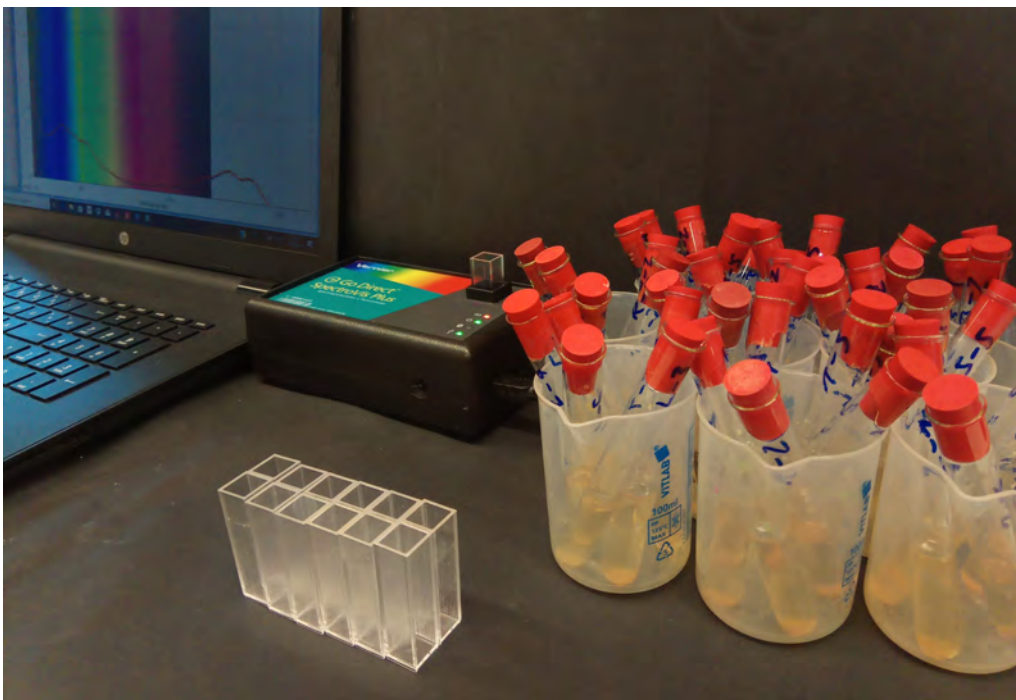


Abb. 2: Trübungsmessung mit Photometer

Nachdem die Küvetten im dafür vorgesehenen Halter des Photometers positioniert wurden, lässt man sie für 30 Sekunden ruhen, damit sich das Granulat am Boden absetzen kann und Flüssigkeitsbewegungen sowie Verwirbelungen zur Ruhe kommen. Um durch minimale Flüssigkeitsbewegungen und Messungenauigkeiten hervorgerufene Schwankungen der scheinbaren Extinktionswerte zu relativieren, wird das Spektrum pro Küvette fünfmal mit jeweils 15 Sekunden Zeitdifferenz erfasst und abgespeichert.

Bei der Trübungsmessung ist wichtig, dass alle Proben unter den gleichen Bedingungen vorbereitet, inkubiert und durchleuchtet werden, sodass eine Vergleichbarkeit gegeben ist. Weitere Informationen zu den Versuchen sind im Anhang in den Haupt- und Vorversuchsprotokollen sowie im Geräte- und Chemikalienverzeichnis aufgeführt.

2.4 Auswertung

Bei der Trübungsmessung mit dem Photometer wird für jede Probe der Wert der scheinbaren Extinktion für die Wellenlänge $\lambda = 660nm$ jeweils fünf mal relativ zur Absorption der Raumluft gemessen und abgespeichert. Aus diesen fünf Messwerten, die jeweils einer Probe zuzuordnen sind, wird das arithmetische Mittel als scheinbarer Extinktionswert E_E , E_{MR} beziehungsweise E_{MH} der jeweiligen Probe errechnet. In der weiteren Auswertung werden, adaptiert an die Messgenauigkeit des Photometers, alle Werte auf zwei gültige Stellen genau berechnet und angegeben (nach Vernier Software & Technology 2018). Dabei basieren zur Steigerung der Genauigkeit alle angegebenen Werte durch direkte Berechnung auf den ursprünglichen Messwerten und wurden nicht durch Zwischenergebnisse während der Berechnung gerundet.

Eichproben	Referenzpr.				Hemmproben			
	$V_R = 0,0ml$		$V_{H0,25} = 0,0074ml$		$V_{H0,5} = 0,013ml$		$V_{H1} = 0,010ml$	
E_{E-1} 0,18	E_{R-1} 0,44	$E_{H0,25-1}$ 0,31	$E_{H0,5-1}$ 0,31	E_{H1-1} 0,49				
E_{E-2} 0,16	E_{R-2} 0,42	$E_{H0,25-2}$ 0,48	$E_{H0,5-2}$ 0,42	E_{H1-2} 0,44				
E_{E-3} 0,073	E_{R-3} 0,44	$E_{H0,25-3}$ 0,48	$E_{H0,5-3}$ 0,45	E_{H1-3} 0,38				
E_{E-4} 0,082	E_{R-4} 0,53	$E_{H0,25-4}$ 0,42	$E_{H0,5-4}$ 0,58	E_{H1-4} 0,44				
E_{E-5} 0,23	E_{R-5} 0,57	$E_{H0,25-5}$ 0,44	$E_{H0,5-5}$ 0,36	E_{H1-5} 0,33				
\bar{E}_E 0,15	\bar{E}_R 0,48	$\bar{E}_{H0,25}$ 0,43	$\bar{E}_{H0,5}$ 0,43	\bar{E}_{H1} 0,42				

Hemmproben			
$V_{H1,5} = 0,023ml$	$V_{H2} = 0,020ml$	$V_{H2,5} = 0,033ml$	$V_{H3} = 0,030ml$
$E_{H1,5-1}$ 0,28	E_{H2-1} 0,38	$E_{H2,5-1}$ 0,27	E_{H3-1} 0,40
$E_{H1,5-2}$ 0,39	E_{H2-2} 0,33	$E_{H2,5-2}$ 0,17	E_{H3-2} 0,38
$E_{H1,5-3}$ 0,49	E_{H2-3} 0,29	$E_{H2,5-3}$ 0,24	E_{H3-3} 0,24
$E_{H1,5-4}$ 0,41	E_{H2-4} 0,40	$E_{H2,5-4}$ 0,35	E_{H3-4} 0,22
$E_{H1,5-5}$ 0,30	E_{H2-5} 0,34	$E_{H2,5-5}$ 0,57	E_{H3-5} 0,47
$\bar{E}_{H1,5}$ 0,37	\bar{E}_{H2} 0,35	$\bar{E}_{H2,5}$ 0,32	\bar{E}_{H3} 0,34

Abb. 3: scheinbare Extinktion nach Eichung

Da auf die automatische Kalibrierung des Photometers verzichtet wurde, sind die tatsächlich gemessenen Extinktionswerte noch nicht geeicht. Deswegen muss die Eichung der tatsächlich gemessenen Werte manuell durchgeführt werden. Dafür wird jeweils das arithmetische Mittel aller Messungen der Eichproben \bar{E}_E von den jeweiligen tatsächlichen Messwerten E_{MR} und E_{MH} subtrahiert. Die manuell geeichten scheinbaren Extinktionswerte E_R und E_H werden mit der Formel $E_R = E_{MR} - \bar{E}_E$ beziehungsweise

$E_H = E_{MH} - \bar{E}_E$ berechnet. In der gesamten Auswertung wird ausschließlich mit den geeichten Werten gearbeitet, die abhängig von dem für die jeweilige Versuchsreihe verwendeten Thymian-Öl-Volumen V angegeben sind.

Die Abnahme der Messwerte bei zunehmendem Thymian-Öl-Volumen wird besonders deutlich, wenn die ermittelte scheinbare Extinktion der Referenz- und Hemmproben in einem Diagramm dargestellt wird. Dabei bestätigt sich im Gesamtbild die eingangs aufgestellte These: Je mehr Hemmstoff den Proben zugeführt wird, desto schlechter können sich die Bakterien darin vermehren, was insgesamt zu weniger Bakterien in der Suspension führt. Damit wird die Streuung des Lichtflusses kleiner und schlussendlich ist die bei der Trübungsmessung mit dem Photometer gemessene scheinbare Extinktion der jeweiligen Probe niedriger.

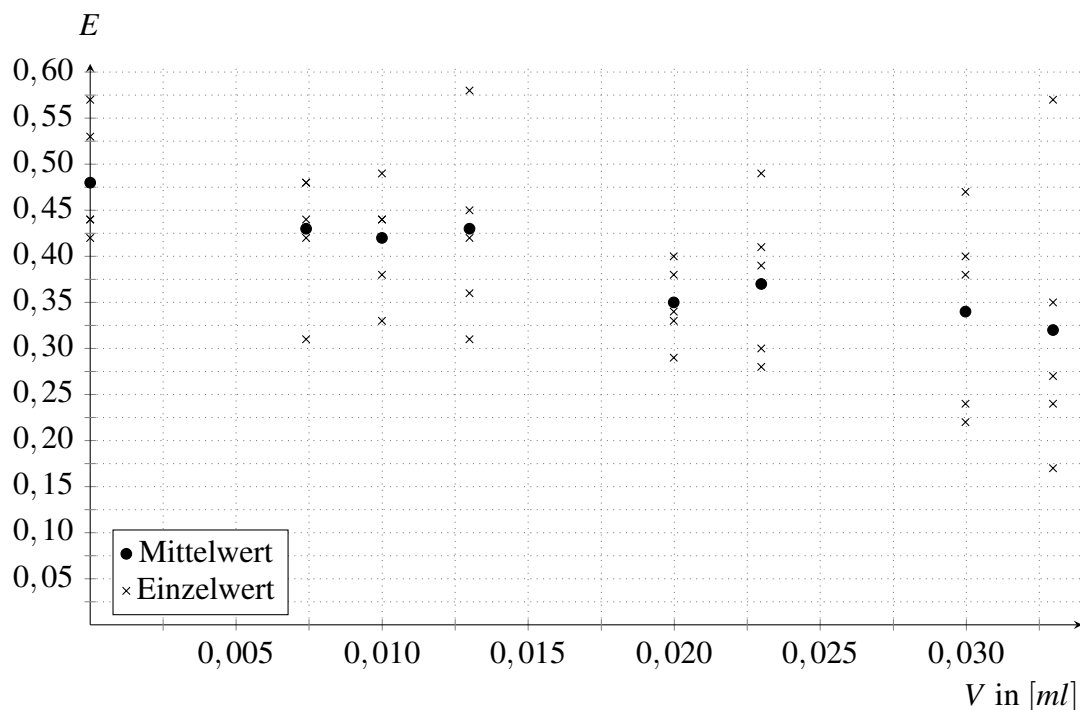


Abb. 4: scheinbare Extinktion nach Eichung (Diagramm)

Interessant ist dabei, dass einige auffällige Proben, deren Werte deutlich über dem jeweiligen arithmetischen Mittel ihrer Versuchsreihe liegen, diese Mittelwerte leicht nach oben verschieben. Eben diese Verschiebung ist dafür verantwortlich, dass die Entwicklung der gemittelten Extinktionswerte mit zunehmender Menge an Thymian-Öl nicht stets fallend ist, sondern bei den Volumina, bei denen jeweils eine Probe besonders stark vom Mittel abweicht, einen Anstieg andeutet. Würde man die besonders stark abweichenden Messpunkte nicht beachten, würden die arithmetischen Mittel der Versuchsreihen mit steigender Thymian-Öl-Menge durchgehend fallen.

Zwar lässt die Betrachtung der Entwicklung der scheinbaren Extinktion eine Aussage über das Wachstum der Bakterien in den Proben zu, dennoch handelt es sich um eine

unhandliche Größe. Deswegen wurde eine Formel entwickelt, mit der anhand der Extinktion die Trockenmassenkonzentration β der Bakterien in der Suspension als handlichere Größe berechnet werden kann. Aus den durchschnittlichen geeichten scheinbaren Extinktionswerten der Referenz- und Hemmprouben kann wie erörtert die Trockenmassenkonzentration unter bestimmten, hier erfüllten Bedingungen mittels der Formel $\beta = 9929 \times (1 - \sqrt{1 - 0,07347 \times \bar{E}}) \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ ermittelt werden (nach Bast 2014, S. 421):

Referenzproben	$V_R = 0,0\text{ml}$	\bar{E}_R	0,48	β_R	$1,8 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
Hemmprouben	$V_{H0,25} = 0,0074\text{ml}$	$\bar{E}_{H0,25}$	0,43	$\beta_{H0,25}$	$1,6 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
	$V_{H0,5} = 0,013\text{ml}$	$\bar{E}_{H0,5}$	0,43	$\beta_{H0,5}$	$1,6 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
	$V_{H1} = 0,010\text{ml}$	\bar{E}_{H1}	0,42	β_{H1}	$1,5 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
	$V_{H1,5} = 0,023\text{ml}$	$\bar{E}_{H1,5}$	0,37	$\beta_{H1,5}$	$1,4 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
	$V_{H2} = 0,020\text{ml}$	\bar{E}_{H2}	0,35	β_{H2}	$1,3 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
	$V_{H2,5} = 0,033\text{ml}$	$\bar{E}_{H2,5}$	0,32	$\beta_{H2,5}$	$1,2 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
	$V_{H3} = 0,030\text{ml}$	$\bar{E}_{H2,5}$	0,34	$\beta_{H2,5}$	$1,3 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$

Abb. 5: Trockenmassenkonzentration

Die Betrachtung der Werte der Trockenmassenkonzentration sowie deren Verlauf deuten in grober Näherung auf eine lineare Abhängigkeit hin. Dieser lineare Zusammenhang lässt sich durch eine Ausgleichsgerade als Näherungsfunktion beschreiben. Die Ausgleichsgerade ist eine Funktion der Form $y(x) = ax + b$, welche eine Annäherung an beliebig viele Messpunkte der Form $(x_i; y_i)$ beschreibt, wobei n für die Anzahl der Messpunkte und i für den Index eines einzelnen Messpunktes steht. Die Annäherung basiert darauf, die Quadrate der Abweichung also die Differenz zwischen den einzelnen Messpunkten und der Ausgleichsgerade möglichst gering zu halten. Wenn wie in diesem Fall alle Messpunkte gleich gewichtet sind kann die Funktion der Ausgleichsgeraden wie folgt berechnet werden (nach Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH 1998):

$$y(x) = ax + b \quad a = \frac{n(\sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{n(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2} \quad b = \frac{(\sum x_i^2)(\sum y_i) - (\sum x_i)(\sum x_i y_i)}{n(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

Wenn man in die allgemeine Gleichung der Ausgleichsgeraden die errechneten Messpunkte der Trockenmassenkonzentration einsetzt, lässt sich folgende grobe Annäherungsfunktion $\beta(V)$ für die Trockenmassenkonzentration β der Milchsäurebakterien in $\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ abhängig von dem verwendeten Thymian-Öl-Volumen V in ml berechnen:

$$\beta(V) = -1,7 \times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}^2} \times V + 1,7 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$$

Diese aus den Messwerten errechnete Funktion stellt die Trockenmassenkonzentration der Milchsäurebakterien in der Suspension dar. Sie ist nur im Intervall $V \in [0,0\text{ml}; 0,033\text{ml}]$

definiert, da mit größeren Thymian-Öl-Mengen keine Messwerte erhoben wurden. Rechnerisch lässt sich die Nullstelle x_0 einer Geraden der Form $y(x) = ax + b$ nach dem allgemein bekannten Berechnungsverfahren mittels $x_0 = \frac{-b}{a}$ berechnen. Bei der Nullstelle der Annäherungsfunktion handelt es sich um das Volumen an Thymian-Öl V_0 , bei dem die Trockenmassenkonzentration den Wert $0 \frac{\mu g}{ml}$ annimmt. Die hypothetisch berechnete Nullstelle der Funktion $\beta(V)$ liegt bei $V_0 = 0,10ml$. Dieser Wert liegt außerhalb des für die Funktion definierten Intervalls und ist somit eine nicht belegte Vermutung. Theoretisch müsste also, wenn man davon ausgeht, dass die lineare Abhängigkeit konstant und unverändert weiter besteht, im Intervall $V \in [0,0ml; 0,10ml]$ die Trockenmassenkonzentration der Bakterien mit zunehmendem Volumen des Thymian-Öls kleiner werden. Ab einem Thymian-Öl-Volumen von $0,10ml$ könnten sich die Bakterien nicht mehr vermehren beziehungsweise werden komplett abgetötet. Die Trockenmassenkonzentration für Thymian-Öl-Mengen ab $0,10ml$ müsste $0,0 \frac{\mu g}{ml}$ betragen. Aus dieser Überlegung heraus ergibt sich auf Grundlage der berechneten Annäherungsfunktion $\beta(V)$ die hypothetische Annäherungsfunktion $\beta'(V)$ als abschnittsweise definierte Funktion für die Trockenmassenkonzentration in $\frac{\mu g}{ml}$ abhängig von dem verwendeten Thymian-Öl-Volumen V in ml :

$$\beta'(V) = \begin{cases} -1,7 \times 10^3 \frac{\mu g}{ml^2} \times V + 1,7 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml} & \text{falls } V < 0,10ml \\ 0,0 \frac{\mu g}{ml} & \text{falls } V \geq 0,10ml \end{cases}$$

Dabei handelt es sich jedoch ausschließlich um hypothetische Annahmen, die auf den gemessenen Extinktionswerten beruhen, aber keinesfalls belegbar aus diesen hervorgehen.

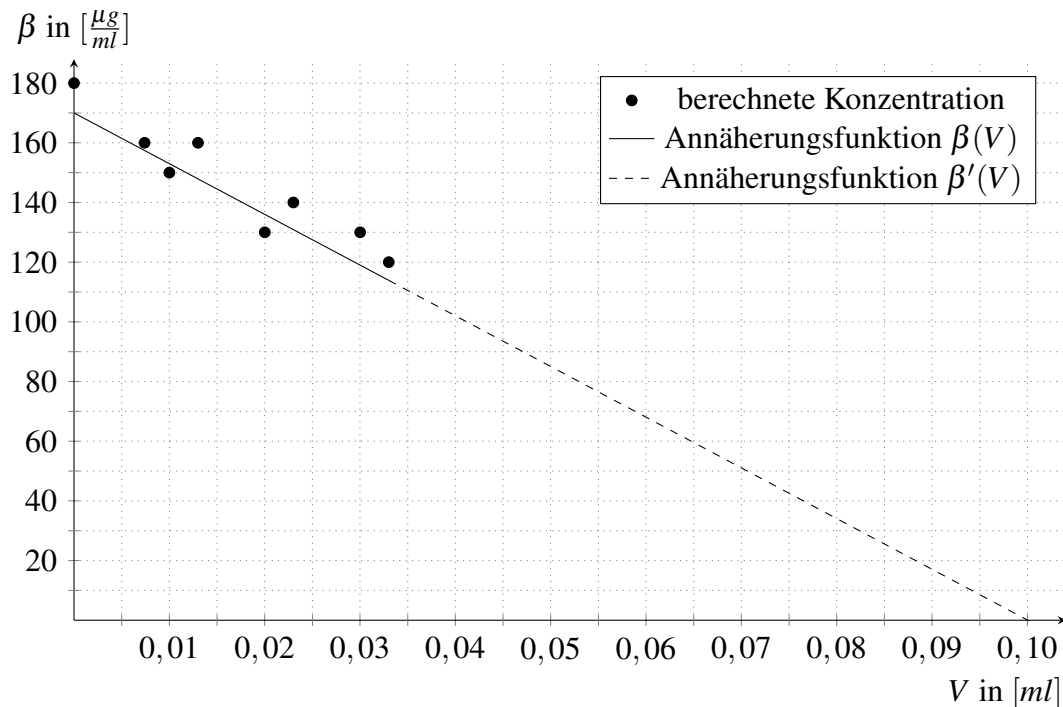


Abb. 6: Trockenmassenkonzentration mit Annäherungsfunktion

2.5 Diskussion der Ergebnisse

Um die Genauigkeit eines Versuches aufzuzeigen, lässt sich die Standardabweichung s einer Versuchsreihe bestimmen. Diese gibt bei n Messwerten die durchschnittlich erwartete Abweichung der einzelnen Messwerte x_i vom tatsächlichen Wert an und wird wie folgt mit dem arithmetischen Mittel \bar{x} der Versuchsreihe berechnet (nach Bast 2014, S. 320):

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + \dots + (x_n - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Die Standardabweichung muss in Relation zu den Extinktionswerten der Versuchsreihen interpretiert werden. Diese kann mittels der relativen Standardabweichung, auch als Variationskoeffizient bekannt, $Vk = \frac{s}{\bar{x}}$ hergestellt werden und gibt das Verhältnis der Standardabweichung zum arithmetischen Mittel der Versuchsreihe an (nach Bast 2014, S. 321). Für die hier durchgeführte Trübungsmessung ergibt sich durch Berechnung der relativen Standardabweichung der einzelnen Versuchsreihen deren jeweilige Genauigkeit.

Eichproben		s_E	0,068	Vk_E	0,47
Referenzproben	$V_R = 0,0ml$	s_R	0,065	Vk_R	0,13
Hemmproben	$V_{H0,25} = 0,0074ml$	$s_{H0,25}$	0,070	$Vk_{H0,25}$	0,16
	$V_{H0,5} = 0,013ml$	$s_{H0,5}$	0,10	$Vk_{H0,5}$	0,24
	$V_{H1} = 0,010ml$	s_{H1}	0,060	Vk_{H1}	0,15
	$V_{H1,5} = 0,023ml$	$s_{H1,5}$	0,085	$Vk_{H1,5}$	0,23
	$V_{H2} = 0,020ml$	s_{H2}	0,042	Vk_{H2}	0,12
	$V_{H2,5} = 0,033ml$	$s_{H2,5}$	0,16	$Vk_{H2,5}$	0,49
	$V_{H3} = 0,030ml$	s_{H3}	0,11	Vk_{H3}	0,31

Abb. 7: Standardabweichung Versuchsreihen

Dabei fällt auf, dass die relative Standardabweichung sehr hoch ist. Das heißt, dass die Messwerte der scheinbaren Extinktion breit gestreut sind und ihre Ungenauigkeit deutlich sichtbar wird. So beträgt beispielsweise die relative Standardabweichung bei den Hemmproben 'H2,5' sogar 0,49, die einzelnen Messwerte weichen also durchschnittlich um 49% vom erwarteten tatsächlichen Extinktionswert der Versuchsreihe ab. Auch die relative Standardabweichung der Eichproben liegt mit 47% recht hoch, was die Genauigkeit aller Referenz- und Hemmproben zusätzlich verringert, da diese mit Hilfe des ungenauen Eichwertes \bar{E}_E berechnet wurden.

Diese Ungenauigkeiten sind möglicherweise den ungenauen Messgeräten und den verwendeten Materialien geschuldet. Hinzu kommt, dass die für die Trübungsmessung geltenden Voraussetzungen nur näherungsweise gut, aber eben nicht gänzlich erfüllt werden konnten, und somit Abweichungen beim Ergebnis hinzunehmen sind.

3 Fazit

Insgesamt ist die Trübungsmessung unter Einhaltung gewisser Anforderungen ein äußerst genaues Verfahren zur Bestimmung der Trockenmassenkonzentration von Bakterien in einer Suspension. In diesem Versuch konnte jedoch weder auf ein präzises Photometer zurückgegriffen werden, noch konnte in einer sterilen Umgebung gearbeitet werden, was das Bakterienwachstum sowie die daraus resultierenden Messergebnisse deutlich verfälscht haben könnte. Deswegen ist es möglich, dass die Ergebnisse nicht mit den mit anderen Photometern gemessenen scheinbaren Extinktionswerten übereinstimmen. Jedoch wurde versucht, durch möglichst genaues und sauberes Arbeiten eine Vergleichbarkeit der Proben und deren Messwerten innerhalb des Versuchs herzustellen.

Im Versuch konnte die eingangs aufgestellte These klar belegt werden, die besagt, dass die mit dem Photometer gemessene scheinbare Extinktion mit zunehmender Thymian-Öl-Menge abnimmt, weil das Bakterienwachstum gehemmt wird.

Es ergab sich unter den im Versuch herrschenden Bedingungen nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden die angenäherte Funktion $\beta(V)$ für die Trockenmassenkonzentration der Milchsäurebakterien in der Suspension in $\frac{\mu g}{ml}$ abhängig von dem zugegebenen Volumen an Thymian-Öl in ml im definierten Intervall $V \in [0, 0ml; 0,033ml]$:

$$\beta(V) = -1,7 \times 10^3 \frac{\mu g}{ml^2} \times V + 1,7 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$$

Die relative Standardabweichung, also die angenäherte prozentuale Abweichung von den tatsächlichen Werten der Extinktion, liegt jedoch mit bis zu 49% sehr hoch, was vermutlich durch die verwendeten Arbeitsmittel begründet werden kann.

Außerhalb des für $\beta(V)$ definierten Intervalls wurden keine Messungen durchgeführt, jedoch wurde die Hypothese aufgestellt, der lineare Zusammenhang könnte unverändert weiter bestehen, was zu der theoretischen unbelegten Annäherungsfunktion $\beta'(V)$ führt:

$$\beta'(V) = \begin{cases} -1,7 \times 10^3 \frac{\mu g}{ml^2} \times V + 1,7 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml} & \text{falls } V < 0,10ml \\ 0,0 \frac{\mu g}{ml} & \text{falls } V \geq 0,10ml \end{cases}$$

Nach dieser Behauptung könnten sich alle Bakterien ab einem Thymian-Öl-Volumen von $V_0 = 0,10ml$ nicht mehr vermehren beziehungsweise würden absterben. Um diese Hypothese wissenschaftlich zu be- oder widerlegen wären noch viele weitere genaue Versuchsreihen mit Thymian-Öl-Mengen im Bereich um die theoretisch berechnete Nullstelle V_0 herum sowie zwischen dieser sowie den hier ausgewerteten Versuchsreihen ab $V = 0,033ml$ notwendig. So könnte einerseits das Steigungsverhalten der Funktion als lineare Abhängigkeit be- oder widerlegt, aber auch die genaue Nullstelle erörtert werden.

Anhang

4 Literaturverzeichnis

4.1 Buchquellen

1. Bast, Eckhard: Mikrobiologische Methoden. Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken, 3. Auflage, Berlin/Heidelberg 2014.
2. Hiller, Karl/Loew, Dieter/Stahl-Biskup, Elisabeth: Thymi herba, in: Blaschek, Wolfgang (Hrsg.): Wichtl - Teedrogen und Phytopharmaka, Ein Handbuch für die Praxis, 6. Auflage, Stuttgart 2016, S. 647-650.
3. Sticher, Otto: Ätherische Öle und Drogen, die ätherisches Öl enthalten, in: Heilmann, Jörg/Sticher, Otto/Zündorf, Ilse (Hrsg.): Hänsel/Sticher Pharmakognosie Phytopharmazie, 10. Auflage, Stuttgart 2015, S. 663-740.

4.2 Internetquellen

1. BD (Hrsg., 2015): BACTEC™ Plus Aerobic/F Culture Vials and BACTEC™ Plus Anaerobic/F Culture Vials, Soybean-Casein Digest Broth.
[http://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8085859\(03\).pdf](http://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8085859(03).pdf)
(Stand: 31. August 2018).
2. Juvalis (Hrsg., 2018): Thymian.
<https://www.juvalis.de/heilpflanzenlexikon/heilpflanze/thymian/>
(Stand: 17. März 2018).
3. Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH (Hrsg., 1998): Lexikon der Physik, Ausgleichsgerade.
<https://www.spektrum.de/lexikon/physik/ausgleichsgerade/1011>
(Stand: 15. August 2018).
4. Vernier Software & Technology (Hrsg., 2018): GoDirect® SpectroVis® Plus.
<https://www.vernier.com/files/manuals/gdx-svispl/gdx-svispl.pdf>
(Stand: 31. August 2018).

Anmerkung:

Bei der auf der Internetseite aufgeführten Formel zur Berechnung der Ausgleichsgeraden (nach Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH 1998), wurden offensichtlich zwei Variablen vertauscht. Genaueres dazu ist bei den angehängten Auszügen der Internetquellen erörtert.

5 Abbildungsverzeichnis

Deckblatt: Zuschnitt, nach Arnold, Werner (2017): Thymian - *Thymus vulgaris*.
(und CD) https://www.awl.ch/heilpflanzen/thymus_vulgaris/thymian.htm
(Stand: 24. Oktober 2018).

Abb. 1: Vorbereitung Trübungsmessung:

eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 2: Trübungsmessung mit Photometer:

eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 3: scheinbare Extinktion nach Eichung:

eigene Darstellung, Datengrundlage: Trübungsmessung (siehe Versuchsprotokoll)

Abb. 4: scheinbare Extinktion nach Eichung (Diagramm):

eigene Darstellung, Datengrundlage: Trübungsmessung (siehe Versuchsprotokoll)

Abb. 5: Trockenmassenkonzentration:

eigene Darstellung, Datengrundlage: Trübungsmessung (siehe Versuchsprotokoll)

Abb. 6: Trockenmassenkonzentration mit Annäherungsfunktion:

eigene Darstellung, Datengrundlage: Trübungsmessung (siehe Versuchsprotokoll)

Abb. 7: Standardabweichung Versuchsreihen:

eigene Darstellung, Datengrundlage: Trübungsmessung (siehe Versuchsprotokoll)

6 Material

- Hauptversuchsprotokoll: Trübungsmessung
- Vorversuchsprotokolle
 - Flüssigagar-Test
 - Flüssignährlösung-Test
 - Tropfenvolumen-Bestimmung
- Dokumentation Variablen-Bezeichnung
- Geräte- und Chemikalienverzeichnis
- Internetquellen - Auszüge

Anmerkungen:

- Diverse Passagen der Versuchsprotokolle überschneiden sich stark mit Teilen des Hauptteils. Das liegt daran, dass die Versuchsprotokolle so konzipiert worden sind, dass sie eigenständig ohne den Hauptteil verwendet werden können. Dabei wurde in den Protokollen ein besonderes Augenmerk auf Durchführung und die rechnerische Art und Weise der Auswertung gelegt, während Vorüberlegungen und naturwissenschaftliche Auswertung im insbesondere Hauptteil zu finden sind.
- Alle nicht gesondert im Geräte- und Chemikalienverzeichnis aufgeführten Materialien sind laborüblich und bedürfen deswegen keiner expliziten Aufzählung. Aufgeführt sind lediglich für den Versuchsablauf sowie dessen Auswertung unter Umständen relevante Geräte und Chemikalien.
- Nicht alle Chemikalien (insbesondere die Flüssignährlösung) wurden in einer vom Hersteller vorgesehenen und somit für diese Nutzung zugelassenen Weise verwendet.

Versuchsprotokoll Trübungsmessung

1 Geräte und Chemikalien

- 1 Digestor
- 1 Wärmeschrank
- 1 Spektralphotometer mit Küvetten (Schichtdicke der Küvetten: 10mm)
- 1 Computer mit Auswertungssoftware
- 3 Bechergläser (10ml, 20ml, 150ml) (optional 9x100ml zusätzlich statt Reagenzglashalter)
- 45 Reagenzgläser mit Stopfen
- 2 Spatel
- 2 Pipetten
- 1 Pinzette
- 3 Spritzen (1ml)
- 1 Kanüle für Spritze
- 1 wasserfester Stift
- 1 Paar Schutzhandschuhe
- ca. 30ml Wasser
- ca. 120ml Flüssignährlösung (für anaerobe Bakterien)
- Bio-Joghurt (Spatelspitze)
- 1,4ml Thymian-Öl (unverdünnt)

2 Vorüberlegungen

Bei der Trübungsmessung kann anhand der Streuung des Lichtes einer bestimmten Wellenlänge durch die Bakterien in einer Suspension die Trockenmassenkonzentration der Mikroorganismen berechnet werden (nach Bast 2014, S. 421).

Dafür gelten die folgenden Bedingungen: Die Zelldichte und dementsprechend auch die scheinbare Extinktion müssen niedrig sein, das Bakterienzellvolumen muss zwischen $0,1$ und $5\mu\text{m}^3$ liegen, die Suspension darf keine Partikel enthalten und die Bakterien sowie die Nährlösung dürfen weder das Licht der ausgewählten Wellenlänge absorbieren, noch sich verklumpen. Nur dann kann eine Proportionalität zwischen scheinbarer Extinktion und Trockenmassenkonzentration gewährleistet werden (nach Bast 2014, S. 407f). Im Versuch werden die Bakterien lediglich kurz im Wärmeschrank inkubiert, was dafür sorgt, dass die Bakterienanzahl nicht zu groß wird und somit die scheinbare Extinktion gering bleibt. Die kugelförmigen und ovalen Milchsäurebakterien sind $0,5 - 1,0\mu\text{m}$ groß und umfassen damit näherungsweise ein, nach der allgemein bekannten Volumenformel für Kugeln $V = \frac{4}{3} \times \pi \times r^3$ berechnetes Zellvolumen von $0,065 - 0,52\mu\text{m}^3$. Die nach der Bedingung benötigte minimale Länge l_{min} der Bakterien lässt sich annähernd als Kugeldurchmesser mit der genannten Volumenformel berechnen:

$$V_{\text{min}} = \frac{4}{3} \times \pi \times r_{\text{min}}^3 \quad l_{\text{min}} = 2 \times r_{\text{min}} = 2 \times \sqrt[3]{\frac{V_{\text{min}}}{\frac{4}{3} \times \pi}} = 2 \times \sqrt[3]{\frac{0,5\mu\text{m}^3}{\frac{4}{3} \times \pi}} \approx 0,58\mu\text{m}$$

Es sind also lediglich Bakterien mit einer Größe von $0,5 - 0,58\mu\text{m}$ außerhalb des akzeptierten Bereichs. Für den Versuch wird deswegen davon ausgegangen, dass der Anteil der Bakterien mit zu kleiner Größe vernachlässigbar klein ausfällt und der Großteil die Bedingung erfüllt. Auch liegen die meisten Bakterien wie benötigt einzeln und nur vereinzelt in Paaren oder Ketten, aber nicht verklumpt vor. Diese kleineren Paar- oder Kettenbildungen

verfälschen das Ergebnis jedoch nicht (nach Bast 2014, S. 166, S. 408). Damit die Nährlösung kein Licht der Wellenlänge absorbiert, wurde die Wellenlänge $\lambda = 660nm$ ausgewählt, da die leicht bräunliche Lösung insbesondere im kurzwelligen sichtbaren Bereich absorbiert. Es wird angenommen, dass die Milchsäurebakterien kein Licht der genannten Wellenlänge absorbieren. Außerdem bietet die Wellenlänge $\lambda = 660nm$ weitere Vorteile in Bezug auf die Genauigkeit der Messung (nach Bast 2014, S. 418).

Es ist zu vermuten, dass mit fallender Thymian-Öl-Menge die Bakterienanzahl in den Proben steigt. Dementsprechend müsste auch die Streuung des Lichtes durch die Bakterien und damit die messbare scheinbare Extinktion zunehmen. Dafür werden in mehreren Versuchsreihen mit dem Öl behandelte Hemmproben und nicht behandelte Referenzproben untersucht.

3 Durchführung

Da eine Umgebung geschaffen werden soll, in der sich die Milchsäurebakterien gut vermehren können, besteht selbstverständlich die Möglichkeit, dass sich dort auch andere eingeschleppte Mikroorganismen niederlassen und vermehren. Deswegen muss extrem sauber und ordentlich gearbeitet werden. Das heißt, dass alle verwendeten Gefäße und Materialien gründlichst zu reinigen sind und die Spritzen und Pipetten unbenutzt sein sollten. Bei den Gefäßen ist darauf zu achten, dass man die Innenseiten nicht mit der Haut berührt, da sich auf dieser diverse Mikroorganismen befinden, die übertragen werden könnten. Teile der Durchführung sollten aufgrund der ätzenden, reizenden und gesundheitsschädlichen Wirkung des Thymian-Öls im Digestor und mit Schutzhandschuhen durchgeführt werden.

Die Durchführung des Versuchs besteht aus mehreren Teilen: Erstens der Vorbereitung der Proben, bei der die Proben befüllt und verschlossen werden und zweitens dem Durchleuchten mit dem Photometer, um die scheinbare Extinktion zu messen. Dazwischen werden die Versuchsreihen der bereits genannten Referenz- und Hemmproben im Wärmeschrank inkubiert, um ein Bakterienwachstum zu ermöglichen. Eine weitere Versuchsreihe, hier als Eichproben bezeichnet, wird ohne Inkubation durchleuchtet, um einen Bezugswert der scheinbaren Extinktion einer Küvette, die lediglich mit Nährlösung und Joghurt-Lösung befüllt wurde, für die Referenz- und Hemmproben zu erhalten.

Wie bereits erwähnt, werden zu Beginn die 45 Reagenzgläser mit ihren Stopfen, die drei Bechergläser sowie die beiden Spatel und die Pinzette mit heißem Wasser gründlich gereinigt. Die ca. 120ml anaerobe Nährlösung werden mit dem enthaltenen Granulat in eines der Bechergläser entleert. Dafür muss die Nährlösung geöffnet werden, hier wurde die Dichtung mit einer Pinzette entfernt. In das zweite Becherglas werden 20ml Leitungswasser eingefüllt und mit einer Spatelspitze Bio-Joghurt vermischt. Das dritte Becherglas wird mit 10ml Leitungswasser be-



Abb. 1: Vorbereitung Trübungsmessung

füllt. Jedes der 45 Reagenzgläser befüllt man mittels einer der Pipetten mit etwa 2,5 ml der Nährlösung. Im Anschluss wird jeweils eine Spatelspitze des auf dem Boden des Becherglases mit der Nährlösung zurückgebliebenen Granulats pro Reagenzglas dazugegeben. Um die Milchsäurebakterien in die Nährlösung zu übertragen, wird nun in der zweiten Pipette die Joghurt-Lösung aufgenommen und daraus jeweils einen Tropfen in die Reagenzgläser abgegeben.

Einige der vorbereiteten Proben müssen nun mit dem Thymian-Öl als Hemmstoff behandelt werden. Dazu werden die 45 Proben jeweils zu fünf zu einer Versuchsreihe mit identischen Bedingungen zusammengefasst: Es sollen eine Eich-, eine Referenz- sowie sieben Hemmversuchsreihen hergerichtet werden. Dabei werden die 7 Versuchsreihen der Hemmproben jeweils mit unterschiedlichen Mengen von Thymian-Öl versetzt. Die Proben der Referenzproben werden ohne Hemmstoff inkubiert, um den scheinbaren Extinktionswert eines ungehemmten Bakterienwachstums erheben zu können, während die Eichproben, ebenfalls nicht mit Thymian-Öl behandelt, direkt durchleuchtet werden. Alle Reagenzgläser sollten jeweils mit der Kennung der jeweiligen Eich-, Referenz- und Hemmprobe, also der Probenart, sowie einer aufsteigenden Kennzahl innerhalb der Versuchsreihe mit einem wasserfesten Stift beschriftet werden, damit sie beim Durchleuchten eindeutig einer Versuchsreihe zugeordnet werden können. Die Hemmproben werden mit den Kennungen 'H0,25', 'H0,5', 'H1', 'H1,5', 'H2', 'H2,5' und 'H3' bezeichnet, die jeweils für die Thymian-Öl-Tropfenzahl steht, mit der die Versuchsreihen versetzt wurden. Selbstverständlich ist es nicht möglich, halbe oder viertel Tropfen abzugeben. Deswegen muss das Thymian-Öl so verdünnt werden, dass die abgegebenen Tropfen nur zu 50% beziehungsweise zu 25% aus Thymian-Öl bestehen. Dabei wird direkt in den Spritzen mit Leitungswasser verdünnt. In allen drei Spritzen soll jeweils 0,80 ml Flüssigkeit enthalten sein: Die erste enthält 0,80 ml Thymian-Öl, die zweite mit der Verdünnung 50% umfasst 0,40 ml Thymian-Öl und 0,40 ml Leitungswasser und die dritte Spritze mit 25% enthält 0,20 ml Thymian-Öl und 0,60 ml Leitungswasser. Man verdünnt das Öl dabei idealerweise direkt in den Spritzen, indem man in die zweite und dritte Spritze die passende Menge an Leitungswasser aus dem davor nur mit Wasser befüllten Becherglas aufzieht. Die einzelne Kanüle wird auf die verbleibende Spritze aufgesetzt, und damit das Thymian-Öl aufgenommen. Nun werden die beiden Spritzen, in denen das Öl verdünnt werden soll, umgedreht, sodass die Öffnungen nach oben zeigen und weiter aufgezogen, um den überschüssigen Raum mit Luft zu füllen. In diesen Raum wird nun jeweils aus der Spritze mit dem Thymian-Öl über die Kanüle das passende Öl-Volumen von oben in die Spritzen abgegeben und in der Spritze mit Kanüle erneut Thymian-Öl aufgezogen, sodass diese wie geplant 0,80 ml davon enthält. Die Öffnungen der Spritzen mit den Mischungen aus Öl und Wasser werden zugehalten und die Spritzen werden käftig geschüttelt, damit sich Öl und Wasser vermischen. Im Anschluss werden die Öffnungen wieder nach oben gehalten und die Luft wird wieder aus den Spritzen in die Umgebung abgegeben, sodass die Spritzen nur noch mit Flüssigkeit gefüllt sind. Das Vermischen muss unmittelbar vor der Abgabe in die Reagenzgläser erfolgen, da im Gemisch aus Öl und Wasser relativ schnell wieder die Phasentrennung eintritt und sich damit das Mischverhältnis verlagert. Nun werden die jeweiligen Hemmproben der Versuchsreihen aus der jeweils passenden Spritze mit der benötigten Menge von Thymian-Öl behandelt. Dazu wird beispielsweise in Proben der Versuchsreihe 'H0,25' ein Tropfen aus der Spritze, deren Inhalt zu 25% aus Thymian-Öl besteht abgegeben. Proben der Versuchsreihe 'H2' werden mit zwei Trop-

fen aus der unverdünnten Spritze behandelt und in Proben der Kennung 'H2,5' werden zwei unverdünnte sowie ein zu 50% verdünnter Tropfen abgegeben. Der gesamte Arbeitsschritt sollte aufgrund der reizenden, ätzenden und gesundheitsschädlichen Wirkung des Thymian-Öls im Digestor und mit Schutzhandschuhen durchgeführt werden.

Die vorbereiteten Referenz- und Hemmproben werden kräftig geschüttelt, damit sich die Inhaltsstoffe vermischen, und für 24 Stunden bei 44°C im Wärmeschrank inkubiert, damit sich die Bakterien mehr oder weniger gut vermehren können. Inkubationsdauer und -temperatur haben sich in einigen Vorversuchen bewährt. Es sollte darauf geachtet werden, dass die Reagenzgläser mit dem Stopfen verschlossen sind, damit keine Mikroorganismen eindringen oder die Dämpfe des Thymian-Öls entweichen. Die



Abb. 2: Inkubation

Eichproben werden nicht inkubiert, sondern direkt nach der Vorbereitung durchleuchtet, damit sich dort keine Bakterien vermehren und lediglich der scheinbare Extinktionswert der Küvette mit Nährlösung und Joghurt als Eichwert erhoben wird.

Um die scheinbare Extinktion zu ermitteln, werden alle Proben mit einem Spektralphotometer durchleuchtet und das gemessene Spektrum jeweils gespeichert. Diese Messungen schwanken jedoch bei der Betrachtung der selben Probe im Verlauf der Messung ohne sichtbare Partikel oder Flüssigkeitsverwirbelungen mit dem hier verwendeten *GoDirect[®] Spec – troVis[®] Plus* teils deutlich. Deswegen wird jede Probe fünf Mal durchleuchtet und



Abb. 3: Trübungsmessung

im Anschluss wird das arithmetische Mittel berechnet. Dazu schüttelt man jede Probe vor der Messung kräftig und entleert sie in eine Küvette des Photometers. Dort wird sie im Probenhalter positioniert und für 30 Sekunden ruhen gelassen, damit sich Flüssigkeitsbewegungen reduzieren und das Granulat der Nährlösung auf den Boden absinkt. Zwischen den fünf Messungen wird jeweils weitere 15 Sekunden abgewartet, damit die Messwerte in Ruhe abgespeichert werden können.

Zu Beginn muss das Photometer geeicht werden. Dafür wird hier über die Auswertungssoftware *LoggerPro* von *Vernier* eine automatische Kalibrierung mit einer leeren Küvette angeboten. Diese wird jedoch von den erwähnten Messschwankungen stark be-

einträchtigt, da nur der Extinktionswert von einem Zeitpunkt für das Kalibrieren verwendet wird und dieser je nach aktueller Stärke der Schwankungen in einem gewissen Rahmen mehr oder weniger zufällig zustande kommt. Damit das den Versuch nicht beeinträchtigt, kalibriert man das Photometer ohne Küvette und speichert somit alle Messwerte relativ zur scheinbaren Extinktion der Raumluft ab, da dabei kaum Schwankungen auftreten. Natürlich müssen die Proben dennoch geeicht werden, was manuell, also rechnerisch geschieht. Dafür wird das arithmetische Mittel der scheinbaren Extinktionswerte der Eichproben \bar{E}_E als Eichwert angesehen und von allen Referenz- und Hemmproben subtrahiert. Damit wird die minimale Absorption der Küvette mit der Nährlösung und der Joghurt-Lösung ausgeglichen, da die endgültigen geeichten Extinktionswerte der Referenz- und Hemmproben in der Auswertung relativ zum Eichwert betrachtet werden, also lediglich die durch die Bakterien hervorgerufene Streuung betrachtet wird.

Nach der Kalibrierung des Photometers in leerem Zustand werden die Proben aller Messreihen nacheinander wie beschrieben ausgemessen und abgespeichert. Wichtig ist dabei, dass zwischen den einzelnen Proben die Küvetten stets gründlich gereinigt werden und nach dem Reinigen nur noch an den dafür vorgesehenen Seiten angefasst werden, damit keine Fettabdrücke auf den anderen Flächen den Lichtstrahl verändern und somit die Messung verzerren.

Die Menge der Chemikalien und die genaue Durchführung hängt von den verwendeten Chemikalien, Bakterien und Geräten ab. Hier wurde der Versuch mit den bewährten Methoden und Mengen ausschließlich für die hier verwendeten Materialien beschrieben.

4 Auswertung

Die gemessenen scheinbaren Extinktionswerte des Lichtes der Wellenlänge $\lambda = 660\text{nm}$ müssen geeicht und gemittelt werden, damit sie ausgewertet werden können. Für die Eichung der Referenz- und Hemmproben wird von deren ursprünglichen Messwerten E_{MR} bzw. E_{MH} der Eichwert \bar{E}_E subtrahiert, um die geeichten Werte E_R bzw. E_H zu erhalten:

$$E_R = E_{MR} - \bar{E}_E \quad \text{oder} \quad E_H = E_{MH} - \bar{E}_E$$

Anhand der geeichten Extinktionswerte der Referenz- und Hemmproben, lässt sich die Trockennasskonzentration β der Bakterien unter den eingangs dargelegten und hier erfüllten Bedingungen berechnen (nach Bast 2014, S. 421):

$$\beta = 9929 \times (1 - \sqrt{1 - 0,07347 \times E}) \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$$

Die Extinktionswerte wurden aufgrund der Genauigkeit des Photometers von zwei Stellen lediglich mit zwei gültigen Stellen ausgelesen und verwendet (nach Vernier Software & Technology 2018). Dabei sind alle Ergebnisse ohne Zwischenrundungen, also direkt aus den Messwerten berechnet und ebenfalls auf zwei gültige Stellen genau angegeben.

Bei der Volumenmessung der Tropfen in einem Vorversuch fiel auf, dass ein unverdünnter Tropfen ein Volumen von $0,010\text{ml}$ Thymian-Öl umfasst, einer der Verdünnungsstufe 50% $0,013\text{ml}$ davon enthält und einer der Verdünnung 25% $0,0074\text{ml}$ des Öls beinhaltet. Das führt dazu, dass eine Versuchsreihe der Hemmproben mit einer vermeintlich größeren Menge an Thymian-Öl wie die der Reihe 'H2' mit $0,020\text{ml}$ Thymian-Öl behandelt wurde, was sich in Wirklichkeit als weniger erweist, als beispielsweise die Menge der Proben der Reihe 'H1,5' mit $0,023\text{ml}$ des Öls, obwohl deren Tropfenanzahl geringer ist. Die Berechnungen können dennoch uneingeschränkt durchgeführt werden.

4.1 Eichproben

Die Eichproben enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung sowie einen Tropfen der Joghurt-Lösung. Sie wurden ohne Inkubation direkt nach der Vorbereitung durchleuchtet.

E-1	E-2	E-3	E-4	E-5
E_{E-1-1} 0,18	E_{E-2-1} 0,16	E_{E-3-1} 0,056	E_{E-4-1} 0,064	E_{E-5-1} 0,23
E_{E-1-2} 0,18	E_{E-2-2} 0,16	E_{E-3-2} 0,048	E_{E-4-2} 0,063	E_{E-5-2} 0,24
E_{E-1-3} 0,18	E_{E-2-3} 0,16	E_{E-3-3} 0,14	E_{E-4-3} 0,071	E_{E-5-3} 0,23
E_{E-1-4} 0,18	E_{E-2-4} 0,16	E_{E-3-4} 0,069	E_{E-4-4} 0,11	E_{E-5-4} 0,24
E_{E-1-5} 0,18	E_{E-2-5} 0,16	E_{E-3-5} 0,054	E_{E-4-5} 0,10	E_{E-5-5} 0,23
E_{E-1} 0,18	E_{E-2} 0,16	E_{E-3} 0,073	E_{E-4} 0,082	E_{E-5} 0,23
$\bar{E}_E \approx 0,15$				

Abb. 4: scheinbare Extinktion Eichproben

Das arithmetische Mittel der fünf Messwerte einer Probe gibt die scheinbare Extinktion dieser Probe an. Im Folgenden wird exemplarisch der scheinbare Extinktionswert E_{E-3} der 3. Eichprobe anhand von E_{E-3-1} , E_{E-3-2} , E_{E-3-3} , E_{E-3-4} und E_{E-3-5} berechnet:

$$\begin{aligned}
 E_{E-3} &= (E_{E-3-1} + E_{E-3-2} + E_{E-3-3} + E_{E-3-4} + E_{E-3-5}) \div 5 \\
 &= (0,056 + 0,048 + 0,14 + 0,069 + 0,054) \div 5 \\
 &= 0,0734 \approx 0,073
 \end{aligned}$$

Die Extinktionswerte der einzelnen Proben werden innerhalb einer Versuchsreihe zusätzlich gemittelt:

$$\begin{aligned}
 \bar{E}_E &= (E_{E-1} + E_{E-2} + E_{E-3} + E_{E-4} + E_{E-5}) \div 5 \\
 &= (0,18 + 0,16 + 0,0734 + 0,0816 + 0,234) \div 5 \\
 &= 0,1458 \approx 0,15
 \end{aligned}$$

Das arithmetische Mittel \bar{E}_E der Eichproben stellt eine Besonderheit dar: Der Wert wird von allen scheinbaren Extinktionswerten der Referenz- und Hemmproben subtrahiert, damit deren Werte relativ zur scheinbaren Extinktion der Küvetten, die lediglich mit Nährlösung und Joghurt befüllt wurden, ausgewertet werden können.

4.2 Referenzproben

Die Referenzproben enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung sowie einen Tropfen der Joghurt-Lösung. Sie wurden für 24 Stunden bei 44°C inkubiert und danach durchleuchtet.

R-1	R-2	R-3	R-4	R-5
E_{MR-1-1} 0,58	E_{MR-2-1} 0,58	E_{MR-3-1} 0,59	E_{MR-4-1} 0,68	E_{MR-5-1} 0,72
E_{MR-1-2} 0,60	E_{MR-2-2} 0,57	E_{MR-3-2} 0,59	E_{MR-4-2} 0,67	E_{MR-5-2} 0,72
E_{MR-1-3} 0,59	E_{MR-2-3} 0,57	E_{MR-3-3} 0,58	E_{MR-4-3} 0,67	E_{MR-5-3} 0,71
E_{MR-1-4} 0,60	E_{MR-2-4} 0,56	E_{MR-3-4} 0,59	E_{MR-4-4} 0,67	E_{MR-5-4} 0,72
E_{MR-1-5} 0,57	E_{MR-2-5} 0,56	E_{MR-3-5} 0,59	E_{MR-4-5} 0,67	E_{MR-5-5} 0,72
E_{R-1} 0,44	E_{R-2} 0,42	E_{R-3} 0,44	E_{R-4} 0,53	E_{R-5} 0,57
$\bar{E}_R \approx 0,48 \quad \beta_R \approx 1,8 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$				

Abb. 5: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Referenzproben

Wie bei den Eichproben wird auch hier die scheinbare Extinktion einer Probe mit dem arithmetische Mittel aus den fünf Messwerten der Probe berechnet. Zusätzlich wird hierbei jedoch noch bei allen Referenz- und Hemmpuben der Eichwert \bar{E}_E subtrahiert. So erhält man aus den ursprünglichen Messwerten den geeichten Extinktionswert der Probe. Hier wird der geeichte Wert E_{R-1} der 1. Referenzprobe exemplarisch anhand der Messwerte E_{MR-1-1} , E_{MR-1-2} , E_{MR-1-3} , E_{MR-1-4} und E_{MR-1-5} berechnet:

$$\begin{aligned} E_{R-1} &= (E_{MR-1-1} + E_{MR-1-2} + E_{MR-1-3} + E_{MR-1-4} + E_{MR-1-5}) \div 5 - \bar{E}_E \\ &= (0,58 + 0,60 + 0,59 + 0,60 + 0,57) \div 5 - 0,1458 \\ &= 0,4422 \approx 0,44 \end{aligned}$$

Auch werden die Extinktionswerte der einzelnen Referenz- und Hemmpuben wie bei den Eichproben auch innerhalb einer Versuchsreihe zusätzlich gemittelt:

$$\begin{aligned} \bar{E}_R &= (E_{R-1} + E_{R-2} + E_{R-3} + E_{R-4} + E_{R-5}) \div 5 \\ &= (0,4422 + 0,4222 + 0,4422 + 0,5262 + 0,5722) \div 5 \\ &= 0,481 \approx 0,48 \end{aligned}$$

Zusätzlich lässt sich wie bereits erörtert die Trockenmassenkonzentration der jeweiligen Versuchsreihe berechnen:

$$\begin{aligned} \beta_R &= 9929 \times (1 - \sqrt{1 - 0,07347 \times \bar{E}_R}) \frac{\mu g}{ml} \\ &= 9929 \times (1 - \sqrt{1 - 0,07347 \times 0,481}) \frac{\mu g}{ml} \\ &= 177,018799487556 \frac{\mu g}{ml} \approx 1,8 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml} \end{aligned}$$

4.3 Hemmpuben

Die arithmetischen Mittel der scheinbaren Extinktionswerte der einzelnen Proben und der gesamten Versuchsreihe sowie die Berechnung der Trockenmassenkonzentration erfolgt gleich wie bei den Referenzproben und ist deswegen nicht explizit dargestellt.

H0,25 Die Hemmpuben H0,25 enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung, einen Tropfen der Joghurt-Lösung sowie einen viertel Tropfen, also 0,0074ml, Thymian-Öl. Sie wurden für 24 Stunden bei 44°C inkubiert und danach durchleuchtet.

H0,25-1	H0,25-2	H0,25-3	H0,25-4	H0,25-5
$E_{MH0,25-1-1}$ 0,44	$E_{MH0,25-2-1}$ 0,65	$E_{MH0,25-3-1}$ 0,61	$E_{MH0,25-4-1}$ 0,55	$E_{MH0,25-5-1}$ 0,57
$E_{MH0,25-1-2}$ 0,44	$E_{MH0,25-2-2}$ 0,62	$E_{MH0,25-3-2}$ 0,63	$E_{MH0,25-4-2}$ 0,56	$E_{MH0,25-5-2}$ 0,60
$E_{MH0,25-1-3}$ 0,47	$E_{MH0,25-2-3}$ 0,60	$E_{MH0,25-3-3}$ 0,62	$E_{MH0,25-4-3}$ 0,58	$E_{MH0,25-5-3}$ 0,60
$E_{MH0,25-1-4}$ 0,46	$E_{MH0,25-2-4}$ 0,61	$E_{MH0,25-3-4}$ 0,63	$E_{MH0,25-4-4}$ 0,56	$E_{MH0,25-5-4}$ 0,60
$E_{MH0,25-1-5}$ 0,47	$E_{MH0,25-2-5}$ 0,65	$E_{MH0,25-3-5}$ 0,64	$E_{MH0,25-4-5}$ 0,57	$E_{MH0,25-5-5}$ 0,60
$E_{H0,25-1}$ 0,31	$E_{H0,25-2}$ 0,48	$E_{H0,25-3}$ 0,48,	$E_{H0,25-4}$ 0,42	$E_{H0,25-5}$ 0,44
$\bar{E}_{H0,25} \approx 0,43 \quad \beta_{H0,25} \approx 1,6 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$				

Abb. 6: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmpuben H0,25

H0,5 Die Hemmprouben H0,5 enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung, einen Tropfen der Joghurt-Lösung sowie einen halben Tropfen, also 0,013ml, Thymian-Öl. Sie wurden für 24 Stunden bei 44°C inkubiert und danach durchleuchtet.

H0,5-1	H0,5-2	H0,5-3	H0,5-4	H0,5-5
$E_{MH0,5-1-1}$ 0,44	$E_{MH0,5-2-1}$ 0,54	$E_{MH0,5-3-1}$ 0,57	$E_{MH0,5-4-1}$ 0,71	$E_{MH0,5-5-1}$ 0,49
$E_{MH0,5-1-2}$ 0,45	$E_{MH0,5-2-2}$ 0,56	$E_{MH0,5-3-2}$ 0,59	$E_{MH0,5-4-2}$ 0,72	$E_{MH0,5-5-2}$ 0,51
$E_{MH0,5-1-3}$ 0,46	$E_{MH0,5-2-3}$ 0,58	$E_{MH0,5-3-3}$ 0,59	$E_{MH0,5-4-3}$ 0,72	$E_{MH0,5-5-3}$ 0,50
$E_{MH0,5-1-4}$ 0,47	$E_{MH0,5-2-4}$ 0,58	$E_{MH0,5-3-4}$ 0,60	$E_{MH0,5-4-4}$ 0,74	$E_{MH0,5-5-4}$ 0,52
$E_{MH0,5-1-5}$ 0,48	$E_{MH0,5-2-5}$ 0,59	$E_{MH0,5-3-5}$ 0,62	$E_{MH0,5-4-5}$ 0,74	$E_{MH0,5-5-5}$ 0,51
$E_{H0,5-1}$ 0,31	$E_{H0,5-2}$ 0,42	$E_{H0,5-3}$ 0,45	$E_{H0,5-4}$ 0,58	$E_{H0,5-5}$ 0,36
$\bar{E}_{H0,5} \approx 0,43 \quad \beta_{H0,5} \approx 1,6 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$				

Abb. 7: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmprouben H0,5

H1 Die Hemmprouben H1 enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung, einen Tropfen der Joghurt-Lösung sowie einen ganzen Tropfen, also 0,010ml, Thymian-Öl. Sie wurden für 24 Stunden bei 44°C inkubiert und danach durchleuchtet.

H1-1	H1-2	H1-3	H1-4	H1-5
$E_{MH1-1-1}$ 0,64	$E_{MH1-2-1}$ 0,58	$E_{MH1-3-1}$ 0,53	$E_{MH1-4-1}$ 0,60	$E_{MH1-5-1}$ 0,48
$E_{MH1-1-2}$ 0,63	$E_{MH1-2-2}$ 0,59	$E_{MH1-3-2}$ 0,53	$E_{MH1-4-2}$ 0,59	$E_{MH1-5-2}$ 0,48
$E_{MH1-1-3}$ 0,64	$E_{MH1-2-3}$ 0,58	$E_{MH1-3-3}$ 0,53	$E_{MH1-4-3}$ 0,60	$E_{MH1-5-3}$ 0,48
$E_{MH1-1-4}$ 0,63	$E_{MH1-2-4}$ 0,59	$E_{MH1-3-4}$ 0,53	$E_{MH1-4-4}$ 0,58	$E_{MH1-5-4}$ 0,48
$E_{MH1-1-5}$ 0,62	$E_{MH1-2-5}$ 0,57	$E_{MH1-3-5}$ 0,52	$E_{MH1-4-5}$ 0,58	$E_{MH1-5-5}$ 0,46
E_{H1-1} 0,49	E_{H1-2} 0,44	E_{H1-3} 0,38	E_{H1-4} 0,44	E_{H1-5} 0,33
$\bar{E}_{H1} \approx 0,42 \quad \beta_{H1} \approx 1,5 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$				

Abb. 8: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmprouben H1

H1,5 Die Hemmprouben H1,5 enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung, einen Tropfen der Joghurt-Lösung sowie einen ganzen und einen halben Tropfen, also 0,023ml, Thymian-Öl. Sie wurden für 24 Stunden bei 44°C inkubiert und danach durchleuchtet.

H1,5-1	H1,5-2	H1,5-3	H1,5-4	H1,5-5
$E_{MH1,5-1-1}$ 0,43	$E_{MH1,5-2-1}$ 0,53	$E_{MH1,5-3-1}$ 0,64	$E_{MH1,5-4-1}$ 0,54	$E_{MH1,5-5-1}$ 0,43
$E_{MH1,5-1-2}$ 0,44	$E_{MH1,5-2-2}$ 0,53	$E_{MH1,5-3-2}$ 0,64	$E_{MH1,5-4-2}$ 0,54	$E_{MH1,5-5-2}$ 0,46
$E_{MH1,5-1-3}$ 0,42	$E_{MH1,5-2-3}$ 0,54	$E_{MH1,5-3-3}$ 0,64	$E_{MH1,5-4-3}$ 0,56	$E_{MH1,5-5-3}$ 0,43
$E_{MH1,5-1-4}$ 0,43	$E_{MH1,5-2-4}$ 0,54	$E_{MH1,5-3-4}$ 0,64	$E_{MH1,5-4-4}$ 0,55	$E_{MH1,5-5-4}$ 0,45
$E_{MH1,5-1-5}$ 0,43	$E_{MH1,5-2-5}$ 0,54	$E_{MH1,5-3-5}$ 0,63	$E_{MH1,5-4-5}$ 0,57	$E_{MH1,5-5-5}$ 0,45
$E_{H1,5-1}$ 0,28	$E_{H1,5-2}$ 0,39	$E_{H1,5-3}$ 0,49	$E_{H1,5-4}$ 0,41	$E_{H1,5-5}$ 0,30
$\bar{E}_{H1,5} \approx 0,37 \quad \beta_{H1,5} \approx 1,4 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$				

Abb. 9: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmprouben H1,5

H2 Die Hemmprouben H2 enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung, einen Tropfen der Joghurt-Lösung sowie zwei ganze Tropfen, also 0,020ml, Thymian-Öl. Sie wurden für 24 Stunden bei 44°C inkubiert und danach durchleuchtet.

H2-1	H2-2	H2-3	H2-4	H2-5
$E_{MH2-1-1}$ 0,51	$E_{MH2-2-1}$ 0,46	$E_{MH2-3-1}$ 0,44	$E_{MH2-4-1}$ 0,52	$E_{MH2-5-1}$ 0,48
$E_{MH2-1-2}$ 0,52	$E_{MH2-2-2}$ 0,48	$E_{MH2-3-2}$ 0,44	$E_{MH2-4-2}$ 0,55	$E_{MH2-5-2}$ 0,49
$E_{MH2-1-3}$ 0,52	$E_{MH2-2-3}$ 0,49	$E_{MH2-3-3}$ 0,42	$E_{MH2-4-3}$ 0,54	$E_{MH2-5-3}$ 0,48
$E_{MH2-1-4}$ 0,53	$E_{MH2-2-4}$ 0,48	$E_{MH2-3-4}$ 0,44	$E_{MH2-4-4}$ 0,54	$E_{MH2-5-4}$ 0,49
$E_{MH2-1-5}$ 0,54	$E_{MH2-2-5}$ 0,48	$E_{MH2-3-5}$ 0,44	$E_{MH2-4-5}$ 0,57	$E_{MH2-5-5}$ 0,49
E_{H2-1} 0,38	E_{H2-2} 0,33	E_{H2-3} 0,29	E_{H2-4} 0,40	E_{H2-5} 0,34
$\bar{E}_{H2} \approx 0,35 \quad \beta_{H2} \approx 1,3 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$				

Abb. 10: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmprouben H2

H2,5 Die Hemmprouben H2,5 enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung, einen Tropfen der Joghurt-Lösung sowie zwei ganze und einen halben Tropfen, also 0,033ml, Thymian-Öl. Sie wurden für 24 Stunden bei 44°C inkubiert und danach durchleuchtet.

H2,5-1	H2,5-2	H2,5-3	H2,5-4	H2,5-5
$E_{MH2,5-1-1}$ 0,43	$E_{MH2,5-2-1}$ 0,31	$E_{MH2,5-3-1}$ 0,40	$E_{MH2,5-4-1}$ 0,46	$E_{MH2,5-5-1}$ 0,71
$E_{MH2,5-1-2}$ 0,41	$E_{MH2,5-2-2}$ 0,32	$E_{MH2,5-3-2}$ 0,38	$E_{MH2,5-4-2}$ 0,48	$E_{MH2,5-5-2}$ 0,72
$E_{MH2,5-1-3}$ 0,42	$E_{MH2,5-2-3}$ 0,31	$E_{MH2,5-3-3}$ 0,37	$E_{MH2,5-4-3}$ 0,50	$E_{MH2,5-5-3}$ 0,72
$E_{MH2,5-1-4}$ 0,40	$E_{MH2,5-2-4}$ 0,31	$E_{MH2,5-3-4}$ 0,36	$E_{MH2,5-4-4}$ 0,51	$E_{MH2,5-5-4}$ 0,72
$E_{MH2,5-1-5}$ 0,42	$E_{MH2,5-2-5}$ 0,32	$E_{MH2,5-3-5}$ 0,40	$E_{MH2,5-4-5}$ 0,51	$E_{MH2,5-5-5}$ 0,73
$E_{H2,5-1}$ 0,27	$E_{H2,5-2}$ 0,17	$E_{H2,5-3}$ 0,24	$E_{H2,5-4}$ 0,35	$E_{H2,5-5}$ 0,57
$\bar{E}_{H2,5} \approx 0,32 \quad \beta_{H2,5} \approx 1,2 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$				

Abb. 11: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmprouben H2,5

H3 Die Hemmprouben H3 enthalten jeweils etwa 2,5ml Flüssignährlösung, einen Tropfen der Joghurt-Lösung sowie drei ganze Tropfen, also 0,030ml, Thymian-Öl. Sie wurden für 24 Stunden bei 44°C inkubiert und danach durchleuchtet.

H3-1	H3-2	H3-3	H3-4	H3-5
$E_{MH3-1-1}$ 0,55	$E_{MH3-2-1}$ 0,53	$E_{MH3-3-1}$ 0,39	$E_{MH3-4-1}$ 0,41	$E_{MH3-5-1}$ 0,62
$E_{MH3-1-2}$ 0,54	$E_{MH3-2-2}$ 0,53	$E_{MH3-3-2}$ 0,38	$E_{MH3-4-2}$ 0,34	$E_{MH3-5-2}$ 0,62
$E_{MH3-1-3}$ 0,55	$E_{MH3-2-3}$ 0,53	$E_{MH3-3-3}$ 0,38	$E_{MH3-4-3}$ 0,36	$E_{MH3-5-3}$ 0,61
$E_{MH3-1-4}$ 0,55	$E_{MH3-2-4}$ 0,53	$E_{MH3-3-4}$ 0,39	$E_{MH3-4-4}$ 0,36	$E_{MH3-5-4}$ 0,62
$E_{MH3-1-5}$ 0,56	$E_{MH3-2-5}$ 0,52	$E_{MH3-3-5}$ 0,39	$E_{MH3-4-5}$ 0,38	$E_{MH3-5-5}$ 0,62
E_{H3-1} 0,40	E_{H3-2} 0,38	E_{H3-3} 0,24	E_{H3-4} 0,22	E_{H3-5} 0,47
$\bar{E}_{H3} \approx 0,34 \quad \beta_{H3} \approx 1,3 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}$				

Abb. 12: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmprouben H3

4.4 Übersicht

Hier sind noch einmal alle berechneten und geeichten Werte zur Übersicht abgebildet:

Eichproben	Referenzpr. $V_R = 0,0ml$	Hemmproben		
		$V_{H0,25} = 0,0074ml$	$V_{H0,5} = 0,013ml$	$V_{H1} = 0,010ml$
E_{E-1} 0,18	E_{R-1} 0,44	$E_{H0,25-1}$ 0,31	$E_{H0,5-1}$ 0,31	E_{H1-1} 0,49
E_{E-2} 0,16	E_{R-2} 0,42	$E_{H0,25-2}$ 0,48	$E_{H0,5-2}$ 0,42	E_{H1-2} 0,44
E_{E-3} 0,073	E_{R-3} 0,44	$E_{H0,25-3}$ 0,48	$E_{H0,5-3}$ 0,45	E_{H1-3} 0,38
E_{E-4} 0,082	E_{R-4} 0,53	$E_{H0,25-4}$ 0,42	$E_{H0,5-4}$ 0,58	E_{H1-4} 0,44
E_{E-5} 0,23	E_{R-5} 0,57	$E_{H0,25-5}$ 0,44	$E_{H0,5-5}$ 0,36	E_{H1-5} 0,33
\bar{E}_E 0,15	\bar{E}_R 0,48	$\bar{E}_{H0,25}$ 0,43	$\bar{E}_{H0,5}$ 0,43	\bar{E}_{H1} 0,42

Hemmproben			
$V_{H1,5} = 0,023ml$	$V_{H2} = 0,020ml$	$V_{H2,5} = 0,033ml$	$V_{H3} = 0,030ml$
$E_{H1,5-1}$ 0,28	E_{H2-1} 0,38	$E_{H2,5-1}$ 0,27	E_{H3-1} 0,40
$E_{H1,5-2}$ 0,39	E_{H2-2} 0,33	$E_{H2,5-2}$ 0,17	E_{H3-2} 0,38
$E_{H1,5-3}$ 0,49	E_{H2-3} 0,29	$E_{H2,5-3}$ 0,24	E_{H3-3} 0,24
$E_{H1,5-4}$ 0,41	E_{H2-4} 0,40	$E_{H2,5-4}$ 0,35	E_{H3-4} 0,22
$E_{H1,5-5}$ 0,30	E_{H2-5} 0,34	$E_{H2,5-5}$ 0,57	E_{H3-5} 0,47
$\bar{E}_{H1,5}$ 0,37	\bar{E}_{H2} 0,35	$\bar{E}_{H2,5}$ 0,32	\bar{E}_{H3} 0,34

Abb. 13: Übersicht scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration

Da wie bereits angemerkt die Reihenfolge der Versuchsreihen nicht mit der steigenden Reihung der Thymian-Öl-Mengen übereinstimmt, lässt sich die Entwicklung der Extinktionswerte nur schwer anhand einer Tabelle ablesen. Deswegen werden diese in einem Diagramm abgebildet, wobei die Thymian-Öl-Menge V in ml als x-Wert und die der geeichte scheinbare Extinktionswert E als y-Wert dargestellt wird. Mittels dieser Darstellung wird die Abhängigkeit des scheinbaren Extinktionswerts von der Thymian-Öl-Menge hervorgehoben. Dabei werden die jeweiligen arithmetische Mittel der Versuchsreihen aber auch die Extinktionswerte der einzelnen Proben abgebildet. Trotz einzelnen stark abweichenden Proben wird die lineare Abhängigkeit gut sichtbar.

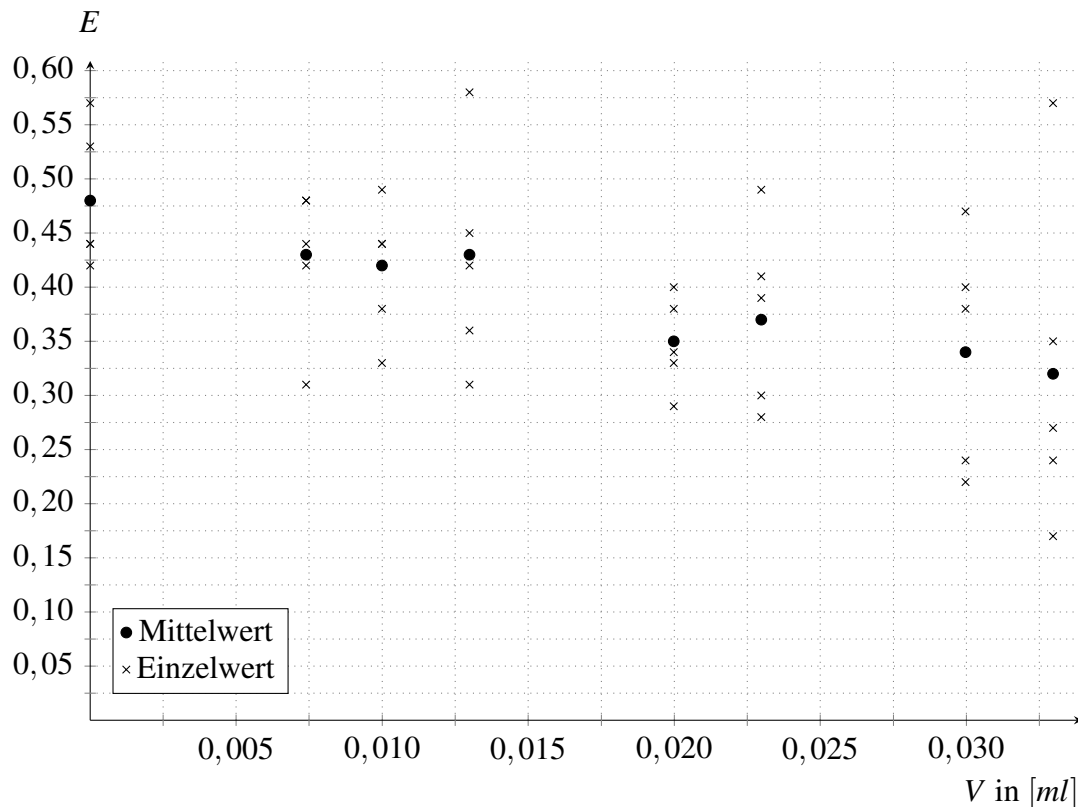


Abb. 14: scheinbare Extinktion nach Eichung

Interessant ist dabei, dass die wenigen auffälligen Proben, deren Werte deutlich über dem jeweiligen arithmetischen Mittel ihrer Versuchsreihe liegen, die Mittelwerte leicht nach oben verschieben. Eben diese Verschiebung ist dafür verantwortlich, dass die Entwicklung der gemittelten Extinktionswerte mit zunehmender Menge an Thymian-Öl nicht stets fallend ist, sondern bei den Versuchsreihen, bei denen jeweils eine Probe besonders stark vom Mittel abweicht, einen Anstieg andeutet. Würde man die besonders stark abweichenden Messpunkte jedoch nicht beachten, fielen die arithmetischen Mittel der Versuchsreihen mit steigender Thymian-Öl-Menge durchgehend.

4.5 Annäherungsfunktion

Diese überwiegend fallende Entwicklung der Extinktionswerte mit zunehmenden Thymian-Öl-Mengen schlägt sich selbstverständlich auch in den jeweiligen Trockenmassenkonzentrationen der Bakterien der Versuchsreihen nieder. Da die Anordnung der Messpunkte in grober Näherung einer Gerade, also einer lineare Funktion ähneln, wird eine solche Annäherungsfunktion aufgestellt. Diese Näherungsfunktion kann wie folgt für n Messpunkte berechnet werden und versucht stets, die jeweiligen Quadrate der Abweichungen der Messpunkte von der Funktion möglichst gering zu halten (nach Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH 1998):

$$y(x) = ax + b \quad a = \frac{n(\sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{n(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2} \quad b = \frac{(\sum x_i^2)(\sum y_i) - (\sum x_i)(\sum x_i y_i)}{n(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

Dabei werden die Trockenmassenkonzentrationen der Versuchsreihen betrachtet. Deren Werte stellen hierbei die y-Werte dar, die von der jeweiligen Thymian-Öl-Menge als x-

Wert abhängig sind. Setzt man die hier berechneten Trockenmassenkonzentrationswerte wie folgt ein, erhält man die Annäherungsfunktion $\beta(V)$:

$$n = 8$$

$$\begin{aligned}\Sigma x_i y_i &= V_R \times \beta_R + V_{H0,25} \times \beta_{H0,25} + V_{H0,5} \times \beta_{H0,5} + V_{H1} \times \beta_{H1} \\ &\quad + V_{H1,5} \times \beta_{H1,5} + V_{H2} \times \beta_{H2} + V_{H2,5} \times \beta_{H2,5} + V_{H3} \times \beta_{H3} \\ &= 0,0ml \times 177,018799487556 \frac{\mu g}{ml} + 0,0074ml \times 156,689316774639 \frac{\mu g}{ml} \\ &\quad + 0,013ml \times 156,392849200868 \frac{\mu g}{ml} + 0,010ml \times 152,83593957793 \frac{\mu g}{ml} \\ &\quad + 0,023ml \times 137,437595382514 \frac{\mu g}{ml} + 0,020ml \times 127,678116819013 \frac{\mu g}{ml} \\ &\quad + 0,033ml \times 117,042484038372 \frac{\mu g}{ml} + 0,030ml \times 126,495809988054 \frac{\mu g}{ml} \\ &= 18,0928706826089 \mu g\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Sigma x_i &= V_R + V_{H0,25} + V_{H0,5} + V_{H1} + V_{H1,5} + V_{H2} + V_{H2,5} + V_{H3} \\ &= 0,0ml + 0,0074ml + 0,013ml + 0,010ml + 0,023ml + 0,020ml + 0,033ml \\ &\quad + 0,030ml \\ &= 0,1364ml\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Sigma y_i &= 177,018799487556 \frac{\mu g}{ml} + 156,689316774639 \frac{\mu g}{ml} + 156,392849200868 \frac{\mu g}{ml} \\ &\quad + 152,83593957793 \frac{\mu g}{ml} + 137,437595382514 \frac{\mu g}{ml} + 127,678116819013 \frac{\mu g}{ml} \\ &\quad + 117,042484038372 \frac{\mu g}{ml} + 126,495809988054 \frac{\mu g}{ml} \\ &= 1151,59091126895 \frac{\mu g}{ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Sigma x_i^2 &= V_R^2 + V_{H0,25}^2 + V_{H0,5}^2 + V_{H1}^2 + V_{H1,5}^2 + V_{H2}^2 + V_{H2,5}^2 + V_{H3}^2 \\ &= (0,0ml)^2 + (0,0074ml)^2 + (0,013ml)^2 + (0,010ml)^2 + (0,023ml)^2 \\ &\quad + (0,020ml)^2 + (0,033ml)^2 + (0,030ml)^2 \\ &= 0,00324176ml^2\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}a &= (n \times \Sigma x_i y_i - \Sigma x_i \times \Sigma y_i) \div (n \times \Sigma x_i^2 - (\Sigma x_i)^2) \\ &= (8 \times 18,0928706826089 \mu g - 0,1364ml \times 1151,59091126895 \frac{\mu g}{ml}) \\ &\quad \div (8 \times 0,00324176ml^2 - (0,1364ml)^2) \\ &= -1682,88073277734 \frac{\mu g}{ml^2} \approx -1,7 \times 10^3 \frac{\mu g}{ml^2}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}b &= (\Sigma x_i^2 \times \Sigma y_i - \Sigma x_i \times \Sigma x_i y_i) \div (n \times \Sigma x_i^2 - (\Sigma x_i)^2) \\ &= (0,00324176ml^2 \times 1151,59091126895 \frac{\mu g}{ml} \\ &\quad - 0,1364ml \times 18,0928706826089 \mu g) \\ &\quad \div (8 \times 0,00324176ml^2 - (0,1364ml)^2) \\ &= 172,641980402472 \frac{\mu g}{ml} \approx 1,7 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml}\end{aligned}$$

$$\Rightarrow \beta(V) = -1,7 \times 10^3 \frac{\mu g}{ml^2} \times V + 1,7 \times 10^2 \frac{\mu g}{ml} \quad [\beta(V)] = \frac{\mu g}{ml}; [V] = ml$$

Diese Annäherungsfunktion ist nur im Intervall $V \in [0,0ml; 0,033ml]$ definiert, da außerhalb keine Messwerte erhoben wurden. Dennoch lässt sich die Hypothese aufstellen, dass die lineare Abhängigkeit weiterhin besteht, bis die Trockenmassenkonzentration die Nulllinie erreicht. Anhand dieser Hypothese lässt sich eine hypothetische Annäherungsfunktion $\beta'(V)$ aufstellen. Deren Nullstelle, also die Thymian-Öl-Menge bei der die Tro-

ckenmassenkonzentration der Bakterien $0,0 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ annimmt lässt sich mittels der allgemein bekannten Formel für Nullstellen bei linearen Funktionen $x_0 = \frac{-b}{a}$ berechnen:

$$V_0 = \frac{-b}{a} = \frac{-1,7 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}}{-1,7 \times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}^2}} = 0,10 \text{ml}$$

Demnach fällt die Hypothetische Annäherungsfunktion der Trockenmassenkonzentration im Intervall $[0,0 \text{ml}; 0,10 \text{ml}]$ und bleibt für größere Thymian-Öl-Mengen als $0,10 \text{ml}$ konstant bei $0,0 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$. Diese Funktion kann wie folgt dargestellt werden:

$$\beta'(V) = \begin{cases} -1,7 \times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}^2} \times V + 1,7 \times 10^2 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} & \text{falls } V < 0,10 \text{ml} \\ 0,0 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} & \text{falls } V_T \geq 0,10 \text{ml} \end{cases}$$

Auch die Annäherungsfunktionen lassen sich gut in einem Diagramm darstellen, welches auch die Bedeutung der Nullstelle V_0 bei $0,10 \text{ml}$ Thymian-Öl verdeutlicht:

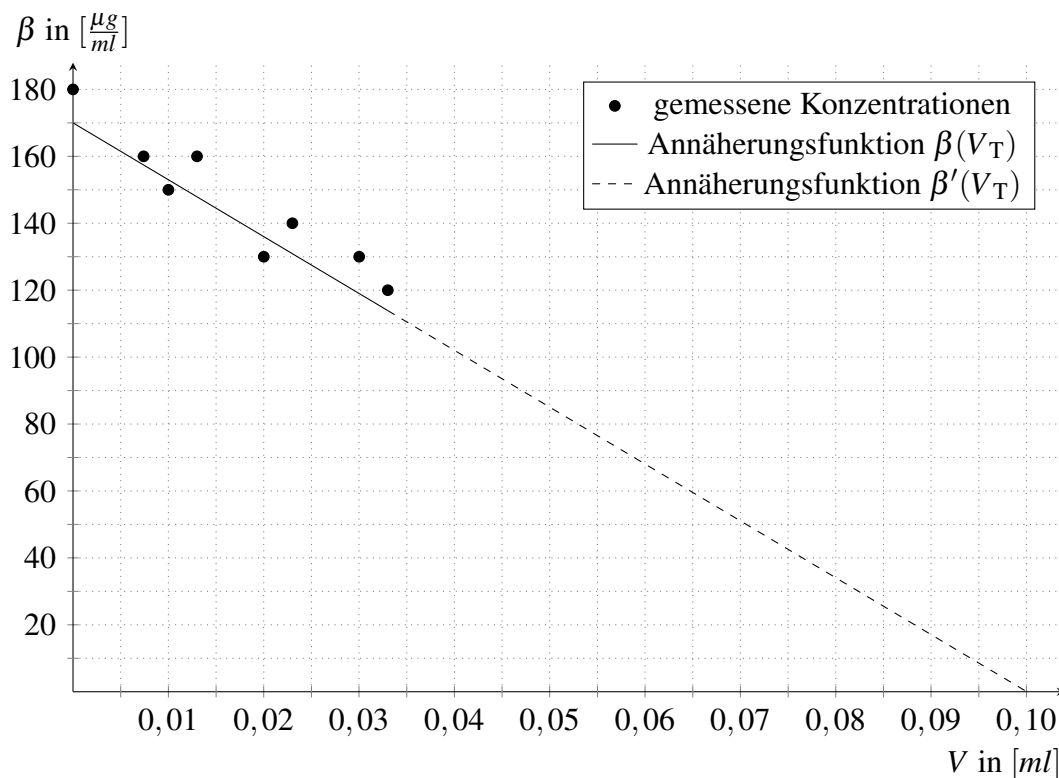


Abb. 15: Trockenmassenkonzentration mit Annäherungsfunktion

Die eingangs aufgestellte These, die besagt, dass die Trockenmassenkonzentration der Bakterien mit zunehmender Thymian-Öl-Menge abnimmt lässt sich klar belegen. Auch ist trotz der Messschwankungen von einer Linearität auszugehen. Jedoch wurde der Versuch für eine genaue Bestimmung mit zu wenig Versuchsreihen durchgeführt. Besonders für Thymian-Öl-Volumina im Intervall $V \in [0,033 \text{ml}; 0,10 \text{ml}]$ werden Messpunkte benötigt, um die Linearität zu be- oder widerlegen. Auch die hypothetische Nullstelle bei $V_0 = 0,10 \text{ml}$ muss mit einigen Proben überprüft werden.

5 Diskussion der Ergebnisse

Um die Genauigkeit einer analytischen Methode zu bestimmen, lässt sich die Standardabweichung berechnen. Diese Größe beschreibt, um wie viel die einzelnen Messwerte im Durchschnitt vom erwarteten tatsächlichen Messwert abweichen und kann wie folgt berechnet werden (nach Bast 2014, S. 320):

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + \dots + (x_n - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Im Folgenden wird die Berechnung exemplarisch für die Standardabweichung s der Versuchsreihen der Eich- und Referenzproben durchgeführt:

$$\begin{aligned} s_E &= \sqrt{((E_{E-1} - \bar{E}_E) + (E_{E-2} - \bar{E}_E) + (E_{E-3} - \bar{E}_E) + (E_{E-4} - \bar{E}_E) + (E_{E-5} - \bar{E}_E)) \div 5} \\ &= \sqrt{(0,00116984 + 0,00020164 + 0,00524176 + 0,00412164 + 0,00777924) \div 5} \\ &= 0,06803293321015018 \approx 0,068 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} s_R &= \sqrt{((E_{R-1} - \bar{E}_R) + (E_{R-2} - \bar{E}_R) + (E_{R-3} - \bar{E}_R) + (E_{R-4} - \bar{E}_R) + (E_{R-5} - \bar{E}_R)) \div 5} \\ &= \sqrt{(0,00150544 + 0,00345744 + 0,00150544 + 0,00204304 + 0,00831744) \div 5} \\ &= 0,0648629324036464 \approx 0,065 \end{aligned}$$

Da die Standardabweichung wenig Aussagekraft besitzt weil dieser lediglich die absolute Abweichung ohne Referenz angibt, kann aus dieser Größe der Variationskoeffizient Vk berechnet werden. Dieser setzt die Standardabweichung in Kontext zum arithmetischen Mittel der Messwerte und ist somit deutlich aussagekräftiger und wird mittels der Formel $Vk = \frac{s}{\bar{x}}$ berechnet, wie hier beispielhaft dargestellt (nach Bast 2014, S. 321):

$$\begin{aligned} Vk_E &= s_E \div \bar{E}_E \\ &= 0,06803293321015018 \div 0,1458 \\ &= 0,466618197541164 \approx 0,47 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Vk_R &= s_R \div \bar{E}_R \\ &= 0,0648629324036464 \div 0,481 \\ &= 0,134850171317352 \approx 0,13 \end{aligned}$$

Die Berechnung für die Hemmpuben ist identisch wie bei den Referenzproben.

Eichproben	s_E	0,068	Vk_E	0,47
Referenzproben $V_R = 0,0ml$	s_R	0,065	Vk_R	0,13
Hemmpuben $V_{H0,25} = 0,0074ml$	$s_{H0,25}$	0,070	$Vk_{H0,25}$	0,16
$V_{H0,5} = 0,013ml$	$s_{H0,5}$	0,10	$Vk_{H0,5}$	0,24
$V_{H1} = 0,010ml$	s_{H1}	0,060	Vk_{H1}	0,15
$V_{H1,5} = 0,023ml$	$s_{H1,5}$	0,085	$Vk_{H1,5}$	0,23
$V_{H2} = 0,020ml$	s_{H2}	0,042	Vk_{H2}	0,12
$V_{H2,5} = 0,033ml$	$s_{H2,5}$	0,16	$Vk_{H2,5}$	0,49
$V_{H3} = 0,030ml$	s_{H3}	0,11	Vk_{H3}	0,31

Abb. 16: Standardabweichung und Variationskoeffizient

Auffällig ist, dass die Extinktionswerte der Proben teilweise bis zu 49% von dem Mittel ihrer Versuchsreihe abweichen. Gründe dafür könnten die nicht hundertprozentige Erfüllung der Versuchsbedingungen sowie die ungenauen Geräte sein. Der Versuch hat eher qualitative Aussagekraft und ist für einen Schulversuch zufriedenstellend ausgefallen.

6 Quellenverzeichnis

6.1 Literaturverzeichnis

6.1.1 Buchquellen

1. Bast, Eckhard: Mikrobiologische Methoden. Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken, 3. Auflage, Berlin/Heidelberg 2014.

6.1.2 Internetquellen

1. Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH (Hrsg., 1998): Lexikon der Physik, Ausgleichsgerade.
<https://www.spektrum.de/lexikon/physik/ausgleichsgerade/1011>
(Stand: 15. August 2018).
2. Vernier Software & Technology (Hrsg., 2018): GoDirect[®] SpectroVis[®] Plus.
<https://www.vernier.com/files/manuals/gdx-svispl/gdx-svispl.pdf>
(Stand: 31. August 2018).

6.2 Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Vorbereitung Trübungsmessung:
eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 2: Inkubation:
eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 3: Trübungsmessung:
eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 4: scheinbare Extinktion Eichproben:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 5: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Referenzproben:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 6: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmpollen H0,25:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 7: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmpollen H0,5:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

- Abb. 8: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmpoben H1:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 9: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmpoben H1,5:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 10: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmpoben H2:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 11: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmpoben H2,5:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 12: scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration Hemmpoben H3:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 13: Übersicht scheinbare Extinktion und Trockenmassenkonzentration:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 14: scheinbare Extinktion nach Eichung:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 15: Trockenmassenkonzentration mit Annäherungsfunktion:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 16: Standardabweichung und Variationskoeffizient:
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Versuchsprotokoll Flüssigagar-Test

1 Geräte und Chemikalien

- 1 Digestor
- 1 Wärmeschrank
- 1 Spektralphotometer (mit Küvetten)
- 1 Computer mit Auswertungssoftware
- 1 Magnetrührer mit Rührfisch
- 1 Feinwaage
- 3 Bechergläser (2x100ml, 1x10ml)
- 8 Reagenzgläser mit Stopfen
- 1 Spatel
- 1 Pipette
- 1 Spritze mit Kanüle
- 1 wasserfester Stift
- 1 Paar Schutzhandschuhe
- 100ml Wasser
- 0,15g Fertigagarpulver
- Bio-Joghurt (Spatelspitze)
- 0,10ml Thymian-Öl (unverdünnt)

2 Vorüberlegungen

Im Versuch soll herausgefunden werden, ob sich Fertigagarpulver auch dazu eignet, ein flüssiges Nährmedium für die Trübungsmessung mit dem Spektralphotometer zu erzeugen. Bei der Trübungsmessung wird eine Suspension mit einer bestimmten Wellenlänge sichtbaren Lichts durchleuchtet und die Differenz des eingehenden und ausgehenden Lichtflusses, die durch Streuung durch Bakterien zu erklären ist, gemessen. Daraus kann man die Trockenmassenkonzentration der Bakterien errechnen (nach Bast 2014, S. 421).

3 Durchführung

Zu Beginn wird ein Becherglas mit 80ml Wasser befüllt und 0,15g Fertigagarpulver in einem zweiten Becherglas mit einer Feinwaage abgewogen. Das Becherglas mit Wasser wird auf dem Magnetrührer positioniert und ein Rührfisch wird dazugegeben. Nun wird das abgewogene Fertigagarpulver bei angeschaltetem Magnetrührer in das Becherglas mit Wasser entleert und gewartet, bis sich der Agar gleichmäßig gelöst bzw. verteilt hat. Mittels einem kleinen Becherglas werden jeweils 10ml-Portionen des Gemischs abgemessen und dann in die Reagenzgläser gefüllt. Zum Animpfen der Agar-Lösungen mit Milchsäurebakterien wird eine Spatelspitze Bio-Joghurt in einem weiteren mit 20ml Wasser befüllten Becherglas gelöst. Mit einer Pipette werden nun 6 der 8 Reagenzgläser mit jeweils 3 Tropfen des Joghurt-Wasser-Gemischs ange-



Abb. 1: Flüssigagar

impft. Anschließend werden mittels einer Spritze 4 der 6 angeimpften Reagenzgläser mit Thymian-Öl versetzt: Die vier Proben werden mit einem, zwei, drei bzw. vier Tropfen behandelt. Aufgrund der reizenden, ätzenden und gesundheitsschädlichen Wirkung des Thymian-Öls und dessen Dämpfen wird dies im Digestor und mit Schutzhandschuhen durchgeführt. Es ist zwingend notwendig, die Art der Proben, also ob angeimpft wurde sowie die Information, mit wie viel Thymian-Öl diese behandelt wurden mit einem wasserfesten Stift auf den Reagenzgläsern zu vermerken und diese stets mit einem Stopfen zu verschließen.

Die Reagenzgläser wurden bei 42°C für 72 Stunden im Wärmeschrank inkubiert, damit sich die Bakterien vermehren können, und im Anschluss in Küvetten des Photometers umgefüllt, um die Proben zu durchleuchten, damit deren je-

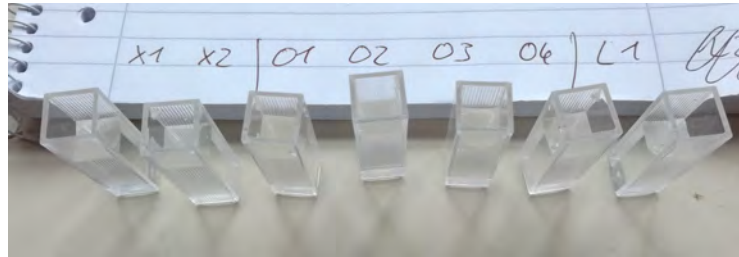


Abb. 2: Proben in Küvetten

weilige Streuung bestimmt werden kann. Zu Beginn wird das Photometer mit der unbehandelten Probe, in der sich nur die Agar-Lösung befindet, kalibriert. Dann wird jede Probe vor dem Einführen und Messen in das Photometer gut geschüttelt und nach dem Einführen 5 Minuten im Photometer ruhen gelassen, um die Fehleranfälligkeit durch verwirbelte Partikel einzudämmen. Nach der Ruhepause werden jeweils mit einer halben Minute Abstand fünf Spektren der Probe angefertigt und abgespeichert. Für die Auswertung ist jeweils der Messwert bei einer bestimmten Wellenlänge λ , in diesem Fall bei $\lambda = 660$, relevant (nach Bast 2014, S. 421). Für die Auswertung wird der Mittelwert des Messwertes aus den fünf Spektren der jeweils selben Probe gebildet.

4 Beobachtung und Auswertung

Mit dem Photometer lässt sich die scheinbare Extinktion E messen. Diese Größe beschreibt den Anteil des Lichts, der durch die Bakterien gestreut wird und dementsprechend hinter der Probe auf dem Rezeptor nicht mehr auftrifft, weil er abgelenkt wurde. Allgemein lässt sich also sagen: Je mehr Bakterien in der Lösung vorliegen, desto trüber ist diese und dementsprechend höher ist die scheinbare Extinktion, da das Licht stärker abgelenkt wird. Um diesen Zusammenhang darzustellen, wird die Extinktion im Folgenden abhängig von dem Volumen V des bei der jeweiligen Probe dazugegebenen Thymian-Öls angegeben.

Man erwartet nun also, dass die unbehandelte Probe, in der sich die Bakterien ungehemmt vermehren können den größten Extinktionswert aufweist, da die Trübung am stärksten sein müsste. Bei allen weiteren, mit Thymian-Öl behandelten, Proben sollte man folglich einen niedrigeren Wert messen können. Je höher das dazugegebene Volumen an Thymian-Öl ist, desto kleiner sollte der Messwert sein, weil sich durch die Hemmung weniger Bakterien vermehrt beziehungsweise überlebt haben.

Da es sich um einen Vorversuch handelt, wurde der Einfachheit halber nicht nach gültigen Stellen sondern stets auf fünf Nachkommastellen genau gerundet.

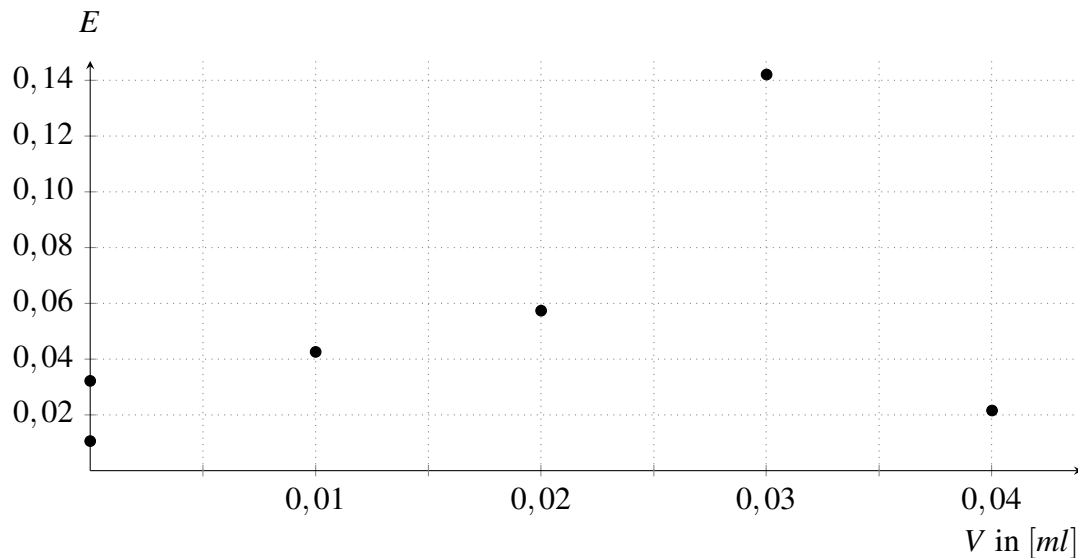


Abb. 3: scheinbare Extinktionswerte (Diagramm)

Die Messwerten lassen jedoch deutlich erkennen, dass kaum ein Wert so ist, wie er nach der eingangs aufgestellten These hätte sein sollen: Der Mittelwert der beiden unbehandelten Proben ist niedriger als der aller anderen. Außerdem steigen die Extinktionswerte im Bereich $V = 0,010\text{ml}$ bis $V = 0,030\text{ml}$ deutlich an, obwohl sie eigentlich fallend angeordnet sein müssten. Ferner müsste die Richtung der Steigung gleich bleiben. Die Messwerte zeigen jedoch erst einen steilen Anstieg und dann von $V = 0,030\text{ml}$ auf $V = 0,040\text{ml}$ einen enormen Rückgang der scheinbaren Extinktion auf. Es treten also drei auffällige Entwicklungen bei der Auswertung der Messwerte auf, welche in komplettem Gegensatz zur Kernaussage der Trübungsmessung stehen und insbesondere bei den Proben mit zunehmendem Thymian-Öl-Volumen willkürlich und chaotisch wirken.

V	0ml	0,010ml	0,020ml	0,030ml	0,040ml
E	0,03220	0,04260	0,05739	0,14210	0,02158
		0,01060			

Abb. 4: scheinbare Extinktionswerte (Tabelle)

Es stellt sich folglich die Frage, wodurch diese enormen Abweichungen und Fehlmessungen zu erklären sind. Die Trübungsmessung als solche funktioniert nur, wenn sich keine Partikel in der durchleuchteten Suspension befinden (nach Bast 2014, S. 407f). Da in diesem Fall aber Fertigarmpulver verwendet wurde, was sich offensichtlich nicht richtig löst und somit dessen Partikel die Messung in diesem Maße unbrauchbar machen können, ist eine sinnvolle und verwertbare Messung mit dem Pulver nicht möglich. Um dieses Problem zu beheben, wird eine Flüssignährlösung für anaerobe Organismen, wie es Milchsäurebakterien sind (nach Bast 2014, S. 166), benötigt, die einerseits genug Nährstoffe bereitstellt, sodass sich die Bakterien vermehren können, und die andererseits durchleuchtet werden kann, damit der Versuch überhaupt durchgeführt werden kann. Idealerweise ist eine solche Nährlösung transparent bis bräunlich gefärbt, da eine Absorption durch diesen bräunlichen Farbbereich keinen negativen Einfluss auf die Trübungsmessung hat.

5 Quellenverzeichnis

5.1 Literaturverzeichnis

1. Bast, Eckhard: Mikrobiologische Methoden. Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken, 3. Auflage, Berlin/Heidelberg 2014.

5.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Flüssigagar:

eigene Photographie (Mai 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 2: Proben in Küvetten:

eigene Photographie (Mai 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 3: scheinbare Extinktionswerte (Diagramm):

eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(Mai 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 4: scheinbare Extinktionswerte (Tabelle):

eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(Mai 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Versuchsprotokoll Flüssignährlösung-Test

Es soll überprüft werden, ob sich Milchsäurebakterien aus Bio-Joghurt in der Flüssignährlösung kultivieren lassen sowie ob und wie stark deren Vermehrung durch Thymian-Öl gehemmt wird. Insbesondere soll ermittelt werden, ob die photometrische Messung durchführbar und zielführend ist. Es wird untersucht, ob Unterschiede abhängig der verwendeten Menge des Thymian-Öls sichtbar werden und mit welchen Mengen der Versuch möglichst effektiv durchgeführt werden kann. Dafür wird der Versuch mit unterschiedlicher Probenanzahl, Menge der Nährlösung sowie des Thymian-Öls mehrmals durchgeführt.

1 Geräte und Chemikalien

- 1 Digestor
- 1 Wärmeschrank
- 1 Spektralphotometer (mit Küvetten)
- 1 Computer mit Auswertungssoftware
- 3 Bechergläser (10ml, 20ml, 100ml)
(optional mehr als Reagenzglasalter)
- Reagenzgläser mit Stopfen
- 2 Spatel
- 2 Pipetten
- 1 Pinzette
- Spritze(n) mit Kanüle
- 1 wasserfester Stift
- 1 Paar Schutzhandschuhe
- Leitungswasser (pro Versuch ca. 30ml)
- Flüssignährlösung (für anaerobe Bak.)
- Bio-Joghurt
(pro Versuch eine Spatelspitze)
- Thymian-Öl (unverdünnt)

2 Vorüberlegungen

Die Trübungsmessung ist ein quantitatives Messverfahren, bei dem mittels Durchleuchten mit einem Spektralphotometer unter bestimmten Umständen die Trockenmassenkonzentration der Bakterien in einer Lösung ermittelt werden kann (nach Bast 2014, S. 421). Dabei kann das Bakterienwachstum mehrerer Proben ausgerechnet und miteinander verglichen werden. Je mehr Licht absorbiert bzw. gestreut, also abgelenkt, wird, desto höher ist die Bakterienkonzentration. In diesem Test dient dies dazu, die antibakterielle Wirkung von Thymian-Öl auf Milchsäurebakterien anhand der Hemmung von deren Vermehrung nachzuweisen.

Dafür wird eine Flüssignährlösung benötigt, die keine Partikel enthält, transparent beziehungsweise leicht bräunlich gefärbt ist, weil die Absorption in diesem Wellenlängenbereich die Messung nicht beeinflusst, aber vor allem für anaerobe Bakterien, wie es Milchsäurebakterien sind, geeignet ist (nach Bast 2014, S. 166).

3 Durchführung

Der Versuch besteht im Prinzip aus zwei unterschiedlichen Teilversuchen: Einerseits dem Animpfen, bei dem die Nährlösung eingefüllt und mit Joghurt angeimpft sowie mit Thymian-Öl behandelt wird und andererseits der Trübungsmessung, bei der die Proben mit dem Spektralphotometer durchleuchtet, geeicht und ausgewertet werden.

3.1 Animpfen

Allgemein ist ein ordentliches und vor allem sauberes Arbeiten dringend notwendig, damit die Proben nicht mit unerwünschten anderen Mikroorganismen außer den Milchsäurebakterien kontaminiert werden, da dies die Messergebnisse verfälschen und somit unbrauchbar machen würde. Alle Materialien sollten vor dem Versuch gründlich mit heißem Wasser gereinigt und die Flächen, die mit der Nährlösung, dem Joghurt oder dem Thymian-Öl in Kontakt kommen sollten nicht mehr berührt werden, da sich auf der Haut diverse Mikroorganismen befinden, die die Proben kontaminieren könnten.

Zu Beginn wird die Nährlösung beispielsweise mittels einer Pinzette geöffnet und in ein Becherglas entleert. In ein zweites werden 20ml Leitungswasser eingefüllt und mit einem Spatel wird darin eine Spatelspitze Bio-Joghurt gelöst und die Lösung gut vermischt.



Abb. 1: Animpfen

Es gibt Proben, die nur Flüssignährlösung enthalten (Eichproben), welche die zusätzlich mit der Joghurtlösung angeimpft werden (Referenzproben) und einige, die darüber hinaus noch mit unterschiedlichen Mengen von Thymian-Öl behandelt werden (Hemmproben). Um den Inhalt der Proben rekonstruieren zu können ist es wichtig, deren Reagenzgläser mit einem wasserfesten Stift zu beschriften und idealerweise innerhalb gleicher Proben durchnummerieren.

Mittels einer Pipette wird nun in jedes der Reagenzgläser etwa 3ml der Flüssignährlösung eingefüllt. Da die Nährlösung nicht nur Flüssigkeit sondern auch Granulat enthält, wird dieses anschließend mit einem Spatel möglichst gleichmäßig auf die Reagenzgläser verteilt. Eichproben werden später bei der Trübungsmessung für die Kalibrierung benutzt und können direkt mit einem Stopfen verschlossen werden. In alle anderen wird im Anschluss mit einer zweiten Pipette jeweils ein Tropfen der Joghurtlösung zugegeben. Da jedoch von den verbleibenden Proben nur ein Teil mit Thymian-Öl behandelt werden, verschließt man die nicht zu behandelnden Referenzproben. Aufgrund der reizenden, ätzenden und gesundheitsschädlichen Wirkung des Thymian-Öls und dessen Dämpfen werden die Hemmproben im Digestor und mit Schutzhandschuhen behandelt. Dabei werden mittels einer Spritze jeweils ein oder mehrere Tropfen dazugegeben, die entweder zu 100%, oder zu 50%, usw. aus Thymian-Öl bestehen. Verdünnt wird mit Wasser, welches zuvor in ein weiteres Becherglas gefüllt wurde. Idealerweise geschieht die Verdünnung durch Mischen und starkem Schütteln direkt in einer Spritze. Dabei wird die zum Verdünnen benötigte Wassermenge in der Spritze aufgezogen, wobei der Rest mit Luft gefüllt wird. Nun kann mit einer anderen Spritze mit Kanüle die benötigte Thymian-Öl-Menge direkt in die erste Spritze injiziert werden. Dann wird diese gut geschüttelt, damit sich Wasser und Thymian-Öl vermischen können. Da es relativ schnell zum Wiedereintritt der Phasen-

trennung kommt, weil es sich um ein wässrig-öliges Gemisch handelt, sollte es möglichst schnell zu den zu behandelnden Hemmprouben zugegeben werden.

Abschließend sind alle Reagenzgläser zu verschließen und einmal um- und wieder zurückzudrehen, damit sich Flüssignährlösung, Joghurtlösung und Thymian-Öl gut vermischen und Granulatrückstände der Nährlösung an den Seitenwänden nach unten gespült werden.

Die Proben werden für mehrere Tage bei einer bestimmten Temperatur im Wärmeschrank inkubiert, damit sich die Bakterien mehr oder weniger gut vermehren können.

3.2 Trübungsmessung

Um Messfehler durch Verschmutzung zu vermeiden, müssen die Küvetten des Photometers zu Beginn gründlich mit Wasser ausgewaschen und abgetrocknet werden. Außerdem dürfen sie lediglich an den beiden Seiten angefasst werden, die parallel zum Lichtstrahl des Photometers angeordnet sind, von diesem also nicht durchdrungen werden. In diesem Fall sind die zur Berührung vorgesehenen Seiten zur besseren Erkennung geriffelt.

Für die photometrische Mes-

sung müssen die Proben in die Küvetten umgefüllt werden, welche möglichst hoch gefüllt sein sollten, um keine Messfehler durch verändertes Streuverhalten des Lichtes zu erhalten: Falls zu wenig Flüssigkeit eingefüllt wird, so durchquert der Lichtstrahl des Photometers die Küvette auf Höhe der Oberfläche der Flüssigkeit, was die Messung stark verfälscht. Auch ist darauf zu achten, dass nicht zu viel Granulat der Flüssignährlösung in die Kü-



Abb. 2: Trübungsmessung

vette umgefüllt wird, weil der Lichtstrahl sonst von Feststoffen blockiert wird. Es bietet sich an, ein Papier mit dem Namen der Proben zu beschriften und die jeweiligen Küvetten zur Beschriftung darauf zu stellen, damit diese zugeordnet werden können.

Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, müssen alle Proben unter den gleichen Bedingungen durchleuchtet werden. Dafür sollte jede Küvette vor der Messung gut geschüttelt werden und anschließend direkt in das Photometer eingeführt werden. Sie wird für 30 Sekunden ruhen gelassen, damit sich Granulat und andere Teilchen am Boden absetzen können und nicht während der Messung den Lichtstrahl ablenken. Weil das hier verwendete Photometer bei der selben Probe im Verlauf der Messung starke Schwankungen bei den Messergebnissen zeigen, empfiehlt es sich, jede Küvette fünf mal zu durchleuchten und für die Auswertung den Mittelwert der Messungen zu bilden. Zwischen den einzelnen Messungen wird etwa 15 Sekunden gewartet werden.

3.3 Versuchsreihen

Der Test wird mehrmals in Form von unterschiedlichen Versuchsreihen durchgeführt.

Nr.	Art (Anzahl)
1	E (2); R (2); H1 (2); H2 (2); H4 (2)
2	E (5); R (5); H0,5 (4); H1 (4)
3	E (5); R (4); H0,25 (4); H0,5 (4); H1 (4); H3 (4)

Abb. 3: Übersicht Versuchsreihen

Die Benennung aller Extinktionswerte erfolgt stets nach dem gleichen Schema:

$$E_{[\text{Versuchsreihe}]-[\text{Nummer der Probe}]} \quad \text{bzw.} \quad \bar{E}_{[\text{Versuchsreihe}]}$$

Art Art bzw. Inhalt der Probe:

- 'E': Eichprobe (Nährlösung)
- 'R': Referenzprobe (Nährlösung, Joghurt)
- 'H[Anzahl]': Hemmprobe (Nährlösung, Joghurt, [Anzahl] Thymian-Öl-Tropfen)

Nummer Nummer zur Zuordnung bei mehreren Proben gleicher Art

Beispiele \bar{E}_E : arithmetisches Mittel der Extinktionswerte der Eichproben

E_{H1-2} : scheinbare Extinktion der 2. Hemmprobe mit einem Thymian-Öl-Tropfen

4 Beobachtung und Auswertung

Mit dem Photometer lässt sich die sog. scheinbare Extinktion E messen. Diese Größe gibt den Anteil des Lichts an, der durch die Bakterien gestreut wird und dementsprechend hinter der Probe auf dem Rezeptor nicht mehr auftritt, weil er abgelenkt wurde (nach Bast 2014, S. 406f). Allgemein lässt sich also sagen: Je mehr Bakterien in der Lösung vorliegen, desto trüber ist diese und dementsprechend höher ist die scheinbare Extinktion, da das Licht stärker abgelenkt wird. Um diesen Zusammenhang darzustellen, werden die Extinktionswerte im Folgenden abhängig von dem Volumen V des bei der jeweiligen Probe dazugegebenen Thymian-Öls angegeben.

Man erwartet nun also, dass die unbehandelten Referenzproben, in denen sich die Bakterien ungehemmt vermehren können, die größte scheinbare Extinktion aufweisen, da die Trübung dort am stärksten sein müsste. Bei allen mit Thymian-Öl behandelten Hemmpuben sollte man folglich einen niedrigeren Wert messen können. Je höher das dazugegebene Volumen an Thymian-Öl ist, desto kleiner sollte der Extinktionswert sein, weil sich durch die Hemmung weniger Bakterien vermehrt beziehungsweise überlebt haben.

Da bei dem verwendeten Photometer dessen automatische Kalibrierung recht unzuverlässig erschien, wurde sie manuell durchgeführt. Dafür wurde das Photometer im leeren Zustand, also ohne Küvette, kalibriert. Weil bei dieser Trübungsmessung nur die Extinktion bei der Wellenlänge $\lambda = 660\text{nm}$ für die Auswertung relevant ist, stellt das Kalibrieren mathematisch betrachtet lediglich eine Verschiebung des y-Wertes also des Extinktionswertes dar. Der Eichwert \bar{E}_E entspricht der durchschnittlichen scheinbaren Extinktion der

nur mit Nährlösung gefüllten Eichproben. Im Folgenden sind also alle Extinktionswerte E_R und E_H der Referenz- und Hemmproben relativ zum Eichwert angegeben, können paradoxerweise also auch negativ sein, und werden wie folgt berechnet:

$$E_R = E_{MR} - \bar{E}_E \quad \text{oder} \quad E_H = E_{MH} - \bar{E}_E$$

E_R, E_H	durch Eichung berechnete scheinbare Extinktion der Proben
E_{MR}, E_{MH}	tatsächlich gemessene scheinbare Extinktion der Proben
\bar{E}_E	durchschnittlicher Extinktionswert der Eichproben (Eichwert)

Bei gleichem Thymian-Öl-Volumen weichen einige Werte auffällig stark von dem für dieses Volumen des jeweiligen Versuchs berechneten arithmetischen Mittel ab. Da diese Abweichungen vermutlich durch Fehler beim Animpfen zu erklären sind, und die Messung stark verfälschen, werden sie verworfen. Gekennzeichnet ist dies durch ein Einklammern in den Auswertungstabellen sowie durch eine ausgegraute Darstellung in den Diagrammen.

Da es sich um Vorversuche handelt und somit extrem genaue Ergebnisse nicht benötigt werden, wurde die Gültigkeit der Stellen nicht beachtet. Berechnet wurden die Werte mit allen vom Photometer gespeicherten, also bis zu 13 Stellen. Im Folgenden angegebene Werte wurden auf 5 Nachkommastellen gerundet, wobei deren Wertigkeit dieser ebenfalls nicht beachtet wurde.

4.1 Versuch 1

Insgesamt 10 Proben wurden für 97 Stunden bei 42°C im Wärmeschrank inkubiert:

- 2x Eichprobe: 2,5ml Nährlösung
- 2x Referenzprobe: 2,5ml Nährlösung, Joghurt-Lösung
- 2x Hemmprobe H1: 2,5ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,010ml Thymian-Öl
- 2x Hemmprobe H2: 2,5ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,020ml Thymian-Öl
- 2x Hemmprobe H4: 2,5ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,040ml Thymian-Öl

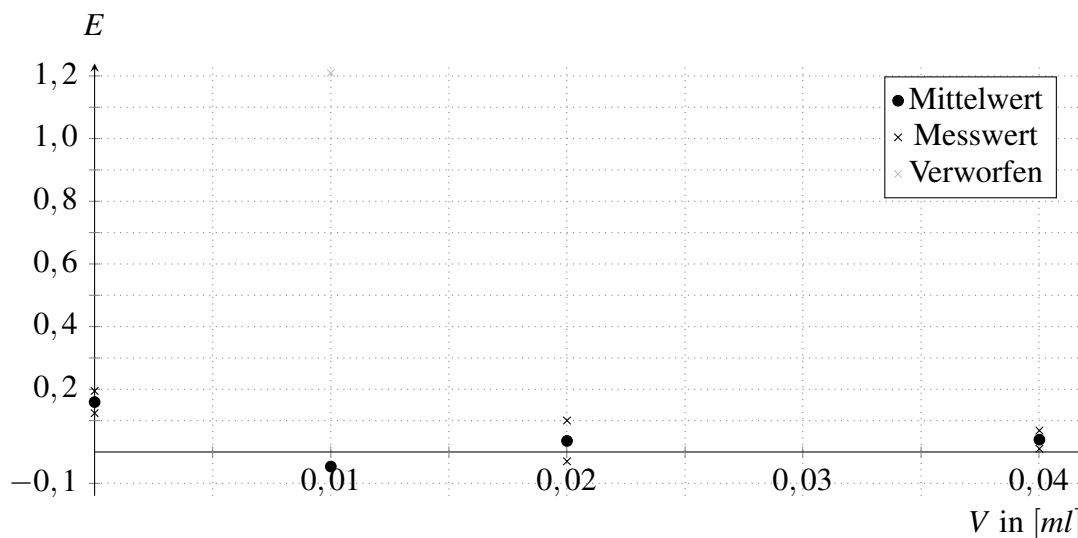


Abb. 4: scheinbare Extinktion Versuch 1 (Diagramm)

Eichwerte	$V_R = 0,0ml$	$V_{H1} = 0,010ml$	$V_{H2} = 0,020ml$	$V_{H4} = 0,040ml$
E_{E-1} 0,48248	E_{R-1} 0,12385	$(E_{H1-1}$ 1,20911)	E_{H2-1} -0,02975	E_{H4-1} 0,06847
$(E_{E-2}$ 0,97700)	E_{R-2} 0,19466	E_{H1-2} -0,04642	E_{H2-2} 0,10024	E_{H4-2} 0,01019
\bar{E}_E 0,48248	\bar{E}_R 0,15925	\bar{E}_{H1} -0,04642	\bar{E}_{H2} 0,03524	\bar{E}_{H4} 0,03933

Abb. 5: scheinbare Extinktion Versuch 1 (Tabelle)

Die erste Versuchsreihe zeigt, dass die Messwerte aller mit Thymian-Öl behandelten Hemmprouben kleiner als die der Referenzproben sind. Das belegt einerseits die antibakterielle Wirkung von Thymian auf Milchsäurebakterien und andererseits die Messbarkeit der Wirkung durch das verminderte Bakterienwachstum mittels des Photometers.

Die Messwerte der Proben mit einem Tropfen Thymian-Öl weisen deutliche Messfehler auf: Während die Messwerte aller anderen Referenz- und Hemmprouben im Intervall $E \in [-0,05; 0,2]$ angeordnet sind, liegt die Messung E_{H1-1} mit etwa 1,2 um ein Vielfaches höher und wurde deswegen verworfen. Dass für die Messreihe H1 nun nur noch ein auswertbarer Extinktionswert E_{H1-2} zur Verfügung steht und auch dieser etwas zu niedrig erscheint, führt dazu, dass sich der Mittelwert \bar{E}_{H1} im negativen Bereich befindet. Aufgrund der Messfehler mit einem Tropfen Thymian-Öl wurden die Messwerte für die weitere Auswertung nicht beachtet. Ähnliches gilt für die 2. Eichprobe, deren scheinbare Extinktion E_{E-2} auch verworfen wurde, da dieser den Eichwert so stark erhöht hätte, sodass durch die manuelle Eichung alle Werte der Referenz- sowie Hemmprouben negativ geworden wären.

Es zeigt sich, dass die unbehandelte Referenzproben die höchsten scheinbaren Extinktionswerte aufweisen, während die Messwerte der mit 2 bzw. 4 Thymian-Öl-Tropfen behandelten Hemmprouben nahezu gleich niedrig sind. Am plausibelsten erscheint die Schlussfolgerung, dass bereits die antibakterielle Wirkung von 2 Tropfen Thymian-Öl das Bakterienwachstum sehr stark hemmt, sodass sich nahezu keine Bakterien mehr vermehren können. Folglich würde sich, wie in dieser Versuchsreihe, das Wachstum kaum zu den mit 4 Tropfen behandelten Proben unterscheiden, da in beiden Fällen die Hemmung so stark ist, dass keine Vermehrung mehr stattfinden kann. Auch könnte es daran liegen, dass die Inkubationsdauer von 97 Stunden zu lang ist.

Die erste Versuchsreihe zeigt auf, dass die Trübungsmessung mit den verwendeten Geräten, Materialien und Chemikalien durchführbar ist. Jedoch bedarf es deutlich mehr Proben gleicher Art, um die Genauigkeit und Belastbarkeit der Mittelwerte zu erhöhen. Dies gilt insbesondere für die Eichproben, da von dem aus deren Messwerten errechneten Eichwert alle Referenz- und Hemmprouben durch Verschiebung der Extinktionswerte abhängen. Ungenauigkeiten verfälschen folglich das gesamte Ergebnis. Außerdem scheint die antibakterielle Wirkung bereits bei 2 Tropfen Thymian-Öl sehr stark zu sein, sodass die Hemmprouben in weiteren Versuchsreihen mit kleineren Volumina des Öls behandelt werden sollten. Auch sollte erwägt werden, die Inkubationsdauer der Proben zu verringern.

4.2 Versuch 2

Insgesamt 18 Proben wurden für 52 Stunden bei 42°C im Wärmeschrank inkubiert:

- 5x Eichprobe: 3ml Nährlösung
- 5x Referenzprobe: 3ml Nährlösung, Joghurt-Lösung
- 4x Hemmprobe H1: 3ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,010ml Thymian-Öl
- 4x Hemmprobe H0,5: 3ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,013ml Thymian-Öl

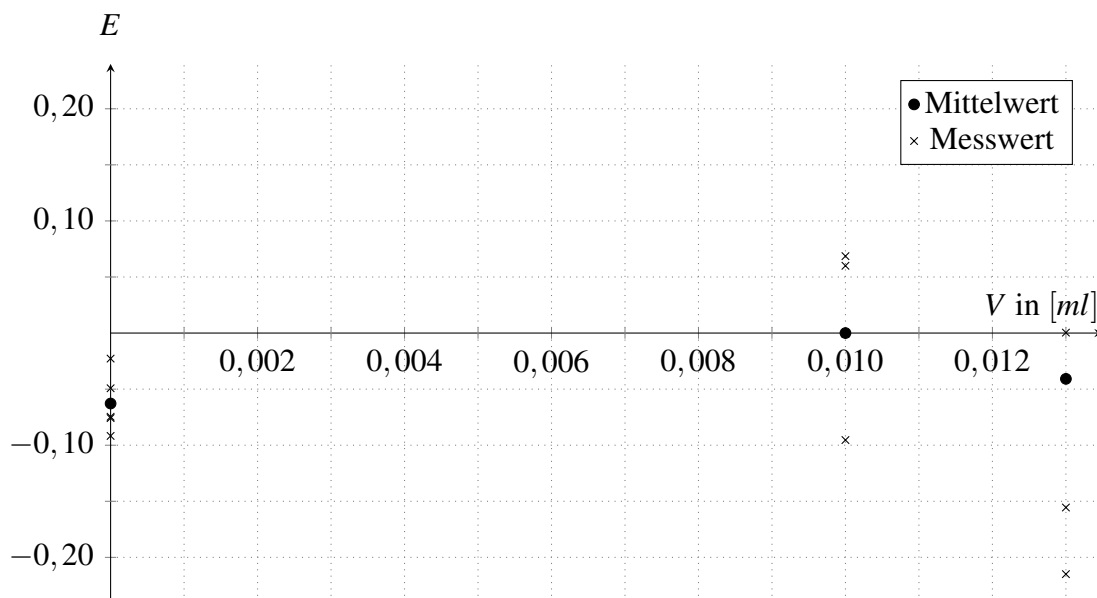


Abb. 6: scheinbare Extinktion Versuch 2 (Diagramm)

Eichwerte	$V_R = 0,0ml$	$V_{H0,5} = 0,013ml$	$V_{H1} = 0,010ml$
E_{E-1} 0,54012	E_{R-1} -0,07582	$E_{H0,5-1}$ -0,15555	E_{H1-1} 0,05998
E_{E-2} 0,43252	E_{R-2} -0,09172	$E_{H0,5-2}$ 0,00039	E_{H1-2} -0,00063
E_{E-3} 0,46296	E_{R-3} -0,07464	$E_{H0,5-3}$ 0,20676	E_{H1-3} -0,09540
E_{E-4} 0,39878	E_{R-4} -0,04921	$E_{H0,5-4}$ -0,21494	E_{H1-4} 0,06860
E_{E-5} 0,66954	E_{R-5} -0,02277		
\bar{E}_E 0,50078	\bar{E}_R -0,06283	$\bar{E}_{H0,5}$ -0,04084	\bar{E}_{H1} 0,00814

Abb. 7: scheinbare Extinktion Versuch 2 (Tabelle)

Alle Werte wirken chaotisch bzw. willkürlich, da die dekadische Absorption mit zunehmendem Thymian-Öl-Volumen höher ist als bei den unbehandelten Referenzproben, obwohl sie sich, wie auch in der ersten Versuchsreihe, verringern müsste. Möglicherweise wurden viele Proben mit unterschiedlichen unerwünschten Mikroorganismen kontaminiert, wodurch die Abweichungen erklärbar wären.

Die Versuchsreihe wird wiederholt und dabei um weitere Hemmproben mit unterschiedlichen Volumina ergänzt. Die höhere Anzahl von Proben gleicher Art wird beibehalten. Außerdem wird die Inkubationsdauer weiter verkürzt.

4.3 Versuch 3

Insgesamt 25 Proben wurden für 37 Stunden bei 44°C im Wärmeschrank gelagert:

- 5x Eichprobe: 3ml Nährlösung
- 4x Referenzprobe: 3ml Nährlösung, Joghurt-Lösung
- 4x Hemmprobe H0,25: 3ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,0074ml Thymian-Öl
- 4x Hemmprobe H0,5: 3ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,013ml Thymian-Öl
- 4x Hemmprobe H1: 3ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,010ml Thymian-Öl
- 4x Hemmprobe H3: 3ml Nährlösung, Joghurt-Lösung, 0,030ml Thymian-Öl

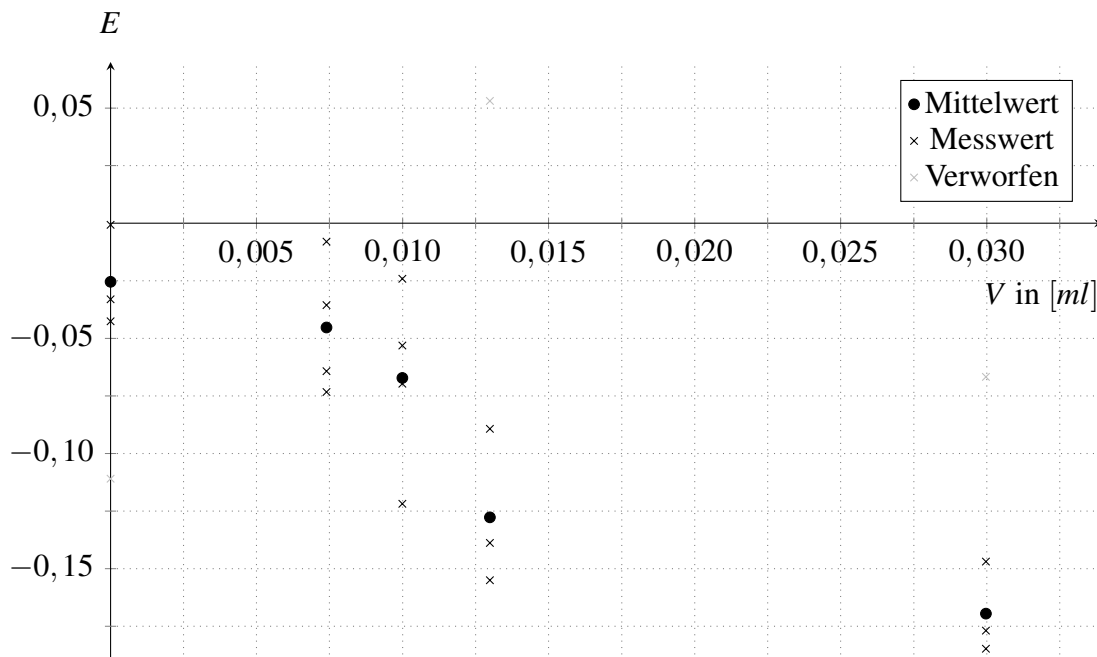


Abb. 8: scheinbare Extinktion Versuch 3 (Diagramm)

Eichwerte	$V_R = 0,0ml$	$V_{H0,25} = 0,0074ml$
E_{E-1} 0,66439	E_{R-1} -0,03304	$E_{H0,25-1}$ -0,06425
E_{E-2} 0,58498	(E_{R-2} -0,11094)	$E_{H0,25-2}$ -0,00801
E_{E-3} 0,75141	E_{R-3} -0,04259	$E_{H0,25-3}$ -0,03556
E_{E-4} 0,66260	E_{R-4} -0,00071	$E_{H0,25-4}$ -0,07329
E_{E-5} 0,75140		
\bar{E}_E 0,68296	\bar{E}_R -0,02545	$\bar{E}_{H0,25}$ -0,04528

$V_{H0,5} = 0,013ml$	$V_{H1} = 0,010ml$	$V_{H3} = 0,30ml$
$E_{H0,5-1}$ -0,15502	E_{H1-1} -0,12183	E_{H3-1} -0,17689
($E_{H0,5-2}$ 0,05308)	E_{H1-2} -0,06969	E_{H3-2} -0,14692
$E_{H0,5-3}$ -0,08928	E_{H1-3} -0,05311	(E_{H3-3} -0,06673)
$E_{H0,5-4}$ -0,13882	E_{H1-4} -0,02414	E_{H3-4} -0,18476
$\bar{E}_{H0,5}$ -0,12771	\bar{E}_{H1} -0,06719	\bar{E}_{H3} -0,16952

Abb. 9: scheinbare Extinktion Versuch 3 (Tabelle)

Zunächst fällt auf, dass sich alle Werte im negativen Bereich befinden. Das kommt dadurch, weil die scheinbare Extinktion der für den Eichwert verwendeten Eichproben meist höher als die Werte der Referenz- und Hemmprouben ist. Möglicherweise wurden die Eichproben kontaminiert, wodurch sich Mikroorganismen vermehrt haben und somit die Proben trüber wurde.

Die arithmetischen Mittel aller Extinktionswerte deuten auf eine fallende Abhängigkeit zwischen scheinbarer Extinktion und Thymian-Öl-Menge hin. Die eingangs aufgestellte These ist damit bestätigt.

Die dritte Versuchsreihe zeigt auf, dass die höhere Anzahl von Proben gleicher Art zu einer deutlich höheren Genauigkeit führt und die Anzahl wird deswegen im Hauptversuch sogar noch erhöht: Es ist zu empfehlen mit noch mehr Versuchsreihen sowie mit zusätzlichen Proben pro Versuchsreihe zu arbeiten.

Wie schon bei vorherigen Versuchen ergibt sich das Problem ungenauer bzw. fehlerhafter Werte der Eichproben, was die Eichung und somit die gesamte Versuchsreihe verfälscht. Um dieses zu beheben wird im Hauptversuch das Durchleuchten der Eichproben direkt nach dem Ansetzen durchgeführt, damit sich keine Mikroorganismen vermehren können. Bei den Eichproben ist damit lediglich die scheinbare Extinktion der Nährlösung sowie des Joghurts relevant, welche sich durch Wärme nicht verändern dürfte. Außerdem bietet das sofortige Durchleuchten der Eichproben die Möglichkeit, auch ihnen Joghurt hinzuzufügen zu können, um dessen minimale Absorption ebenfalls in der Eichung zu berücksichtigen. Das war bisher nicht möglich, da sich die Bakterien aus dem Joghurt im Wärmeschrank vermehrt hätten und somit die Eichproben identisch zu denen der Referenzproben gewesen wären.

5 Quellenverzeichnis

5.1 Literaturverzeichnis

1. Bast, Eckhard: Mikrobiologische Methoden. Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken, 3. Auflage, Berlin/Heidelberg 2014.

5.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Animpfen:
eigene Photographie (Juli 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 2: Trübungsmessung:
eigene Photographie (Juli 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 3: Übersicht Versuchsreihen:
eigene Darstellung auf Basis eigener Versuchsüberlegungen

Abb. 4: scheinbare Extinktion Versuch 1 (Diagramm):
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(Juli 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 5: scheinbare Extinktion Versuch 1 (Tabelle):
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(Juli 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 6: scheinbare Extinktion Versuch 2 (Diagramm):
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(Juli 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 7: scheinbare Extinktion Versuch 2 (Tabelle):
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(Juli 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 8: scheinbare Extinktion Versuch 3 (Diagramm):
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(Juli 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 9: scheinbare Extinktion Versuch 3 (Tabelle):
eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(Juli 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Versuchsprotokoll Tropfenvolumen-Bestimmung

1 Geräte und Chemikalien

- 1 Digestor
- 2 Bechergläser (2x10ml)
- 3 Spritzen (1ml)
(davon eine mit Kanüle)
- 1 Paar Schutzhandschuhe
- 5ml Leitungswasser
- 1,4ml Thymian-Öl (unverdünnt)

2 Vorüberlegungen

Bei analytischen quantitativen Verfahren werden genaue Werte für Volumina, Massen, und ähnlichem benötigt. In diesem Fall ist das Volumen eines Tropfen abhängig von dessen genauer Zusammensetzung erforderlich.

Weil ein Tropfen abhängig der Oberflächenspannung, welche von der Lösung abhängt, unterschiedliche Mengen umfassen kann, muss das jeweilige Volumen für bestimmte Gemische ermittelt werden. Dabei wird für jedes Gemisch experimentell beobachtet, wie viele Tropfen benötigt werden um ein bekanntes Volumen aus einer Spritze abzutropfen. Anschließend wird anhand des Ergebnisses rechnerisch das Volumen eines einzelnen Tropfen bestimmt.

Das Tropfenvolumen sowie das jeweilige Thymian-Öl-Volumen soll jeweils für einen zu 100%, 50% und 25% aus Thymian-Öl bestehenden Tropfen bestimmt werden. Zum Verdünnen wird dabei Wasser benutzt.

3 Durchführung

Das gesamte Verfahren sollte aufgrund der ätzenden, reizenden und gesundheitsschädlichen Wirkung von Thymian-Öls und dessen Dämpfen im Digestor und mit Schutzhandschuhe durchgeführt werden.

Zu Beginn wird das zum Verdünnen benötigte Leitungswasser in das Becherglas eingefüllt. Dann werden zwei Spritzen mit einem aus Thymian-Öl und Wasser bestehenden Gemisch befüllt. Dabei wird bei beiden zu Beginn das Wasser eingefüllt: Die Spritze, die zu 50% mit Thymian-Öl befüllt werden soll, wird mit 0,40ml Wasser und die für 25% vorgesehene Spritze soll mit 0,60ml Wasser aufgezogen werden. Anschließend werden beide Spritzen auf 1ml aufgezogen, sodass Luft in die Spritze gelangt. Nun zieht man mittels der dritten Spritze mit Kanüle das unverdünnte Thymian-Öl auf und spritzt dieses von oben durch die jeweilige Öffnung in die beiden anderen Spritzen. Beide werden auf 0,80ml aufgefüllt, also wird zur ersten Spritze 0,40ml und zur zweiten 0,20ml Thymian-Öl zugegeben. Im Anschluss werden beide Spritzen mit Wasser-Thymian-Öl-Gemisch bis zum Anschlag aufgezogen und kräftig geschüttelt, da es sich um eine wässrig-ölige Mischung handelt, die trotz Phasentrennung möglichst gut



Abb. 1: Materialien

vermischt werden muss. In der Spritze mit Kanüle werden 0,80ml aufgezogen, damit in allen drei Spritzen das gleiche Volumen enthalten ist. Aus den Spritzen, insbesondere den verdünnten, wird eingeschlossene Luft in nach oben geöffnetem Zustand entleert.

Die Spritzen werden nun nacheinander vorsichtig und langsam, sodass Tropfen für Tropfen abgegeben wird, in ein zweites Becherglas entleert. Dabei wird die Tropfenanzahl gezählt, während die jeweils 0,80ml abgegeben werden. Das Befüllen und Entleeren der Spritzen mit Wasser-Thymian-Öl-Gemisch sollte möglichst schnell und ohne längere Wartezeit durchgeführt werden, damit die Phasentrennung nicht wieder eintritt.

4 Auswertung

Anhand der Tropfenanzahl für 0,80ml kann nun mittels eines einfachen Dreisatzes das Volumen eines einzelnen Tropfen wie folgt berechnet werden:

$$V_{\text{ges}} = n_{\text{Tr}} \times V_{\text{Tr}} \Rightarrow V_{\text{Tr}} = V_{\text{ges}} \div n_{\text{Tr}}$$

$$V_{\text{ges}} = \text{Gesamtvolumen} \quad V_{\text{Tr}} = \text{Tropfenvolumen} \quad n_{\text{Tr}} = \text{Tropfenanzahl}$$

Außerdem kann das Volumen des im Tropfen enthaltenen Thymian-Öls berechnet werden, da dessen Volumenkonzentration bekannt ist:

$$V_{\text{T}} = V_{\text{Tr}} \times \sigma_{\text{T}} \Rightarrow V_{\text{T}} = (V_{\text{ges}} \div n_{\text{Tr}}) \times \sigma_{\text{T}}$$

$$V_{\text{T}} = \text{Thymian-Öl-Volumen} \quad \sigma_{\text{T}} = \text{Thymian-Öl-Volumenkonzentration}$$

Da alle benötigten Werte bekannt sind oder durch Auszählen im Versuch ermittelt wurden, können Tropfenvolumen und Thymian-Öl-Volumen problemlos berechnet werden.

Probe	V_{ges}	σ_{T}	n_{Tr}	V_{Tr}	V_{T}
unverdünnt	0,80ml	1,0	78	0,010ml	0,010ml
verdünnt (1:1)	0,80ml	0,50	30	0,027ml	0,013ml
verdünnt (1:3)	0,80ml	0,25	27	0,030ml	0,0074ml

Abb. 2: Auswertungstabelle

Ein Tropfen bestehend aus unverdünntem Thymian-Öl umfasst also Volumen von 0,010ml, in einem aus 50% Thymian-Öl bestehenden Tropfen befinden sich 0,013ml des Öls und ein Tropfen, der 25% Thymian-Öl enthält, umfasst 0,0074ml Thymian-Öl.

Auffällig ist dabei, dass die wässrigen Tropfen deutlich größere Volumina als die, die zu 100% aus Thymian-Öl bestehenden, umfassen. Vermutlich ist diese Eigenschaft auf die unterschiedlichen Ausprägungen der Oberflächenspannung der Tropfen zurückzuführen.

5 Quellenverzeichnis

5.1 Literaturverzeichnis

Für Vorüberlegungen, Durchführung sowie Auswertung des Versuchs wurden keine Literaturquellen herangezogen.

5.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Materialien:

eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Abb. 2: Auswertungstabelle:

eigene Darstellung, Datengrundlage: eigene Versuchsdurchführung
(September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Dokumentation Variablen-Bezeichnung

Die Bezeichnung der verwendeten Variablen entspricht den aktuellen europäischen mathematisch-naturwissenschaftlichen Konventionen. Verwendete Indizes wurden jedoch frei im Rahmen des Sinnvollen vergeben und einheitlich angewandt. Da für die Trübungsmessung 225 scheinbare Extinktionswerte mit dem Photometer erhoben und daraus im Zuge der Auswertung weitere Größen berechnet wurden, sind die verwendeten Indizes der Variablen zur einfacheren Zuordnung umfangreicher als gewöhnlich und werden deswegen im Folgenden erklärt.

Die Indizes werden bei der scheinbaren Extinktion E , dem Thymian-Öl-Volumen V sowie der Trockenmassenkonzentration β verwendet. Dabei sind sie bei den beiden letzteren Größen V und β recht unkompliziert nach dem folgenden Schema angegeben:

$$V_{[\text{Abkürzung der Versuchsreihe}]} \quad \text{bzw.} \quad \beta_{[\text{Abkürzung der Versuchsreihe}]}$$

In den Versuchen kommen folgende Versuchsreihen mit dazugehörigen Abkürzungen vor:

Name	Abkürzung	Beschreibung
Eichprobe	E	Versuchsreihe (VR) für Eichwert
Referenzprobe	R	unbehandelte VR
Hemmprobe mit $\frac{1}{4}$ Tropfen Thymian-Öl	$H0,25$	VR mit $0,0074\text{ml}$ Thymian-Öl
Hemmprobe mit $\frac{1}{2}$ Tropfen Thymian-Öl	$H0,5$	VR mit $0,013\text{ml}$ Thymian-Öl
Hemmprobe mit 1 Tropfen Thymian-Öl	$H1$	VR mit $0,010\text{ml}$ Thymian-Öl
Hemmprobe mit 1,5 Tropfen Thymian-Öl	$H1,5$	VR mit $0,023\text{ml}$ Thymian-Öl
Hemmprobe mit 2 Tropfen Thymian-Öl	$H2$	VR mit $0,020\text{ml}$ Thymian-Öl
Hemmprobe mit 2,5 Tropfen Thymian-Öl	$H2,5$	VR mit $0,033\text{ml}$ Thymian-Öl
Hemmprobe mit 3 Tropfen Thymian-Öl	$H3$	VR mit $0,030\text{ml}$ Thymian-Öl

Abb. 1: Versuchsreihen

Da die scheinbaren Extinktionswerte nicht nur für den Mittelwert der Versuchsreihen sondern auch für einzelne Proben oder einzelne Messungen einer Probe angegeben werden, sind sie wie folgt benannt:

$$E_{[\text{Abkürzung der Versuchsreihe}]-[\text{Nummer der Probe}]-[\text{Nummer der Messung}]}$$

Das arithmetische Mittel der Hemmproben mit 1,5 Tropfen Thymian-Öl wird also durch $\bar{E}_{H1,5}$ beschrieben, der scheinbare geeichte Extinktionswert der 3. Referenzprobe wird mit E_{R-3} angegeben und $E_{MH3-5-1}$ steht für den tatsächlich gemessenen scheinbaren Extinktionswert der 5. Hemmprobe mit 3 Tropfen Thymian-Öl bei der 1. Messung.

Dabei fällt eine Besonderheit auf: Die tatsächlich gemessene Messwerte der Referenz- und Hemmproben werden im Gegensatz zu deren geeichten Werten mit einem vorangestellten 'M' (für Messung) im Index gekennzeichnet.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Versuchsreihen: eigene Darstellung auf Basis eigener Versuchsüberlegungen

Geräte- und Chemikalienverzeichnis

1 Geräte

1.1 Spektralphotometer

Bezeichnung	Go Direct [®] SpectroVis [®] Plus
Hersteller	Vernier Software & Technology, LLC.
Eigenschaften	Wellenlänge: $380\text{nm} < \lambda < 950\text{nm}$ Photometrische Genauigkeit: $\pm 0,10$ Wellenlängen-Genauigkeit: $\pm 4\text{nm}$ Lichtquellen: 405nm, 500nm (Herstellerangaben; nach Vernier Software & Technology 2018)
Software	Logger Pro



Abb. 1: Spektralphotometer

2 Chemikalien

2.1 Bio-Joghurt

Bezeichnung	bio Joghurt, pur
Hersteller	Molkerei Gropper GmbH & Co. KG
Inhalt	Fett (3,8%) (davon ungesättigte Fettsäuren: 2,4%) Kohlenhydrate (4,7%) (davon Zucker: 4,7%) Eiweiß (5,0%) Salz (0,15%) (Herstellerangaben; nach Verpackung)



Abb. 2: Bio-Joghurt

2.2 Thymian-Öl

Bezeichnung	Thymian 10 ml
Hersteller	Bergland-Pharma GmbH & Co. KG
Pharmazentralnr.	03681710
Inhalt	Thymian-Öl aus Wasserdampfdestillation der blühenden Spitzen (Stammpflanze: Thymus vulgaris / ct. Thymol) (Herstellerangaben; nach Verpackung)
Gefahren	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar, Gesundheitsschädlich bei Verschlucken, Bei Verschlucken und Eindringen in die Atemwege möglicherweise tödlich, Schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden, Giftig für Wasserorganismen (langfristige Wirkung) (Herstellerangaben; nach Verpackung)



Abb. 3: Thymian-Öl

2.3 Flüssignährlösung

Bezeichnung	BD BACTEC™ Plus Anaerobic/F Culture Vials
Hersteller	BD
Inhalt	Demineralisiertes Wasser Casein-Soja-Pepton-Bouillon (3,0%) Hefeextrakt (0,4%) Abgebautes Tiergewebe (0,05%) Aminosäuren (0,25%) Zucker (0,25%) Natriumcitrat (0,02%) Natriumpolyanetholsulfonat (0,05%) Vitamine (0,0006%) Antioxidantien/Reduktionsmittel (0,16%) Nicht ionisches Adsorptionsharz (16,0%) Kationenaustauscherharz (1,0%) (Herstellerangaben; nach BD 2015)



Abb. 4:
Flüssignährlösung

3 Quellenverzeichnis

3.1 Literaturverzeichnis

1. BD (Hrsg., 2015): BACTEC™ Plus Aerobic/F Culture Vials and BACTEC™ Plus Anaerobic/F Culture Vials, Soybean-Casein Digest Broth.
[http://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8085859\(03\).pdf](http://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8085859(03).pdf)
(Stand: 31. August 2018).
2. Vernier Software & Technology (Hrsg., 2018): GoDirect® SpectroVis® Plus.
<https://www.vernier.com/files/manuals/gdx-svispl/gdx-svispl.pdf>
(Stand: 31. August 2018).

3.2 Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Spektralphotometer:
eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 2: Bio-Joghurt:
eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 3: Thymian-Öl:
eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)
- Abb. 4: Flüssignährlösung:
eigene Photographie (September 2018, Heinrich-Heine-Gymnasium München)

Internetquellen - Auszüge

Im Folgenden sind Auszüge der von den im Literaturverzeichnis aufgeführten Internetseiten verwendeten Inhalten in Form von Bildschirmphotographien abgebildet. Diese dienen dazu, den Inhalt der benutzten Quellen einsehen zu können, da sich Internetseiten verändern können, wobei wichtige Inhalte entfernt beziehungsweise umadressiert werden könnten.

Die ausführlichen Internetseiten sind umfassend bei der digitalen Version der Seminararbeit im Verzeichnis *Internetquellen* zu finden.

1 Internetquellen

1.1 BD 2015

BD (Hrsg., 2015): BACTEC™ Plus Aerobic/F Culture Vials and BACTEC™ Plus Anaerobic/F Culture Vials, Soybean-Casein Digest Broth.

[http://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8085859\(03\).pdf](http://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8085859(03).pdf)

(Stand: 31. August 2018).

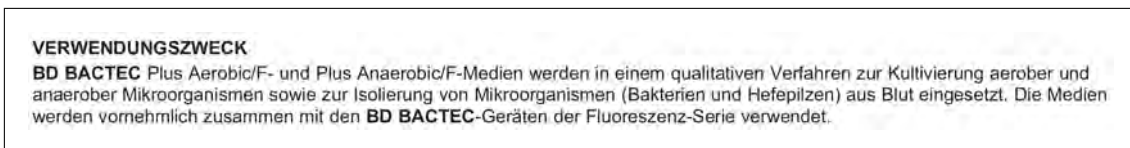


Abb. 1: BD 2015 - Flüssignährlösung, Verwendungszweck

REAGENZIE
Die BACTEC-Kulturfläschchen enthalten vor der Aufbereitung die folgenden reaktiven Bestandteile:

Liste der Bestandteile	BACTEC Plus Aerobic/F	BACTEC Plus Anaerobic/F
Demineralisiertes Wasser	30 mL*	25 mL
	Gew./Vol.	Gew./Vol.
Casein-Soja-Pepton-Bouillon	3,0%	3,0%
Hefeextrakt	0,25%	0,4%
Abgebautes Tiergewebe	—	0,05%
Aminosäuren	0,05%	0,25%
Zucker	—	0,25%
Natriumcitrat	—	0,02%
Natriumpolyanetholsulfonat (NPS)	0,05%	0,05%
Vitamine	0,025%	0,0006%
Antioxidantien/Reduktionsmittel	0,005%	0,16%
Nicht ionisches Adsorptionsharz	13,4%	16,0%
Kationenaustauscherharz	0,9%	1,0%

Alle BACTEC-Medien werden mit CO₂-Zusatz abgefüllt. Anaerobe Medien werden vorreduziert und mit CO₂ und N₂ abgefüllt.

Abb. 2: BD 2015 - Flüssignährlösung, Reagenzien

1.2 Juvalis 2018

Juvalis (Hrsg., 2018): Thymian.

<https://www.juvalis.de/heilpflanzenlexikon/heilpflanze/thymian/>

(Stand: 17. März 2018).

Thymian Geschichte

Thymian wird seit dem Altertum als Gewürz- und Heilpflanze geschätzt. Die Ägypter bauten Thymian an, um Leichenwaschungen und Einbalsamierungen vorzunehmen, auch eine medizinische Nutzung wird vermutet. Die Griechen und Römer setzten auf Thymian, um Mut und Kraft zu stärken und böse Dämonen fern zu halten: Plinius, Dioskurides und Theophrast beschrieben die heilsame Wirkung des Krauts, während römische Soldaten vor dem Kampf in Thymianaufgüssen gebadet haben sollen. Etwa im 11. Jahrhundert gelangte der Thymian über die Alpen nach Deutschland und wurde fortan vor allem in Klostergärten angebaut. Hildegard von Bingen schrieb in ihren Werken über den Thymian und setzte ihn bei Atemnot, Asthma und Keuchhusten ein. Einer Legende nach reichten adelige Damen Rittern vor dem Kampf Thymiansträuße oder –zweige als Glücksbringer. 1589 wurde das ätherische Öl im Dispensatorium Noricum (Nürnberger Arzneibuch) erwähnt. Im Jahr 1853 konnte Thymol erstmals aus dem Thymianöl extrahiert werden und wird seither gezielt medizinisch eingesetzt.

Abb. 3: Juvalis 2018 - Thymian, Geschichte

Anmerkung:

Zum Zeitpunkt des Drucks der Seminararbeit, wurde der zur Informationsbeschaffung verwendete Artikel *Thymian* aus dem Heilpflanzenlexikon der Online-Apotheke *Juvalis* gelöscht oder zumindest umadressiert. Die angegebene, zur Zeit der Informationsbeschaffung noch funktionelle (17. März 2018), Domain ist somit unbrauchbar.

Da die Internetquelle lediglich für eine einzige Information, welche Inhalt der Einleitung darstellt und somit nicht für die Versuche als solche relevant ist, genutzt wurde, wurde sich aufgrund der niedrigen Relevanz dagegen entschieden, eine vergleichbare Alternative zu ermitteln.

1.3 Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft 1998

Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH (Hrsg., 1998): Lexikon der Physik, Ausgleichsgerade.

<https://www.spektrum.de/lexikon/physik/ausgleichsgerade/1011>
(Stand: 15. August 2018).

[Startseite](#) » [Lexika](#) » [Lexikon der Physik](#) » Ausgleichsgerade

LEXIKON DER PHYSIK

Ausgleichsgerade

Ausgleichsgerade, *Regressionsgerade*, diejenige Gerade $y(x) = ax + b$, die einen Satz von N Meßpunkten

$$(x_i, y_i), i = 1, 2, \dots, N$$

am besten approximiert. Nach der *Methode der kleinsten Quadrate* wird eine Approximation dann als optimal angesehen, wenn

$$\sum_i (y(x_i) - y_i)^2$$

minimal wird. Diese Extremalbedingung führt für die Parameter a und b auf die Formeln

$$a = \frac{(\sum x_i^2)(\sum y_i) - (\sum x_i)(\sum x_i y_i)}{N(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

und

$$b = \frac{N(\sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{N(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

Abb. 4: Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft 1998 - Ausgleichsgerade

Anmerkungen:

Die Formeln zur Berechnung der Parameter a und b sind offensichtlich von dem oder der Autor*in vertauscht worden. Dafür spricht, dass man, wenn man die Ausgleichsgerade berechnet und dabei den Parameter a mit der in der Quelle für b sowie den Parameter b mit der in der Quelle für a aufgeführten Gleichung berechnet, eine sinnvolle Funktion erhält, die die beschriebenen Eigenschaften eindeutig zeigt. Andernfalls liegt die Funktion im betrachteten Intervall gänzlich außerhalb des Bereichs der Messergebnisse und widerspricht klar den in der Quelle beschriebenen Eigenschaften. Die Ausgleichsgerade wurde also für die Trübungsmessung mittels der folgenden Formel berechnet:

$$y(x) = ax + b \quad a = \frac{N(\sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{N(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2} \quad b = \frac{(\sum x_i^2)(\sum y_i) - (\sum x_i)(\sum x_i y_i)}{N(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

1.4 Vernier Software & Technology 2018

Vernier Software & Technology (Hrsg., 2018): GoDirect[®] SpectroVis[®] Plus.

<https://www.vernier.com/files/manuals/gdx-svispl/gdx-svispl.pdf>

(Stand: 31. August 2018).

Specifications	
Light source	Incandescent with LED support
Detector	Linear CCD
Wavelength range	380 nm–950 nm
Wavelength reporting interval	~1 nm
Optical resolution (FWHM)	5.0 nm
Wavelength accuracy	± 4.0 nm
Photometric accuracy	±0.10 A.U.
Typical scan time	~2 s
Operating temperature	15–35°C
Battery	High-capacity, lithium-ion rechargeable battery
USB specification	2.0 full speed
Wireless specification	Bluetooth [®] v4.2
Dimensions	15 cm × 9 cm × 4 cm
Support for fluorescence	Excitation centered at 405 and 500 nm

Abb. 5: Vernier Software & Technology 2018 - Spektralphotometer, Spezifikationen

2 Abbildungsverzeichnis

Alle Abbildungen wurden in Form von Bildschirmphotographien selbst erhoben. Die Quelle der jeweiligen Grafik sowie den darin enthaltenen Informationen entspricht der jeweils angegebenen Internetquelle.

7 Selbstanfertigungsbestätigung

Ich erkläre hiermit, dass ich meine Seminararbeit ohne fremde Hilfe angefertigt habe und nur die im Literaturverzeichnis aufgeführten Quellen und Hilfsmittel benützt habe.

....., den
Ort Datum Unterschrift des Schülers