

## Experiment 1: Mikrobiologische Vielfalt im Pansen eines Wiederkäuers

**VerfasserInnen:** René Gadiant, [Rene\\_Gadiant@access.unizh.ch](mailto:Rene_Gadiant@access.unizh.ch)  
 Beat Mattle, [beatmattle@mysunrise.ch](mailto:beatmattle@mysunrise.ch)  
 Regula Lustenberger, [regilustenberger@hotmail.com](mailto:regilustenberger@hotmail.com)

**Betreuer:** Kurt Hanselmann, [hanselma@botinst.unizh.ch](mailto:hanselma@botinst.unizh.ch)

**Inhalt:**

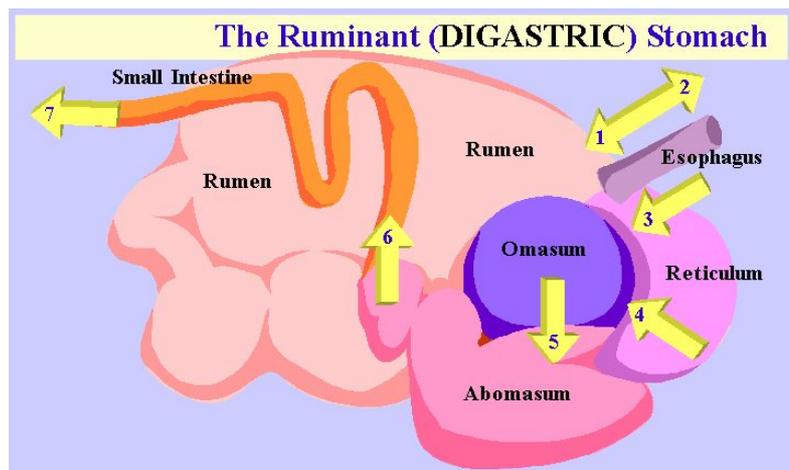
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Vorgehen</b>	<b>2</b>
<b>3. Ergebnisse &amp; Diskussion</b>	<b>3</b>

### 1. Einleitung

Dieser Versuch soll die enorme Vielfalt der Mikroorganismen im Pansensaft einer Kuh veranschaulichen. Ferner werden verschiedene Versuche mit diesen Mikroorganismen durchgeführt, um ein besseres Verständnis der Stoffwechselaktivitäten unter anaeroben Verhältnissen im Wiederkäuermagen zu erhalten.

Im Pansen einer Kuh findet die Verdauung von Cellulose und anderen Pflanzenpolysacchariden durch die Aktivität spezieller mikrobieller Enzyme statt. Bei etwa 39° und einem pH-Wert von 6,9 wird die Cellulose von den Anaerobiern aufgespalten, wobei unter anderem flüchtige Fettsäuren (VFAs) und die Gase Kohlendioxid, Wasserstoff und Methan entstehen.

**Abb. 1** Anatomie des Pansen und Wanderung der Nahrung (gelbe Pfeile)



Für diese Versuche lieferte uns eine fistulierte Kuh im Tierspital den nötigen Pansensaft. Eine Fistel ist eine Öffnung an der dorsalen Flanke einer Kuh, die direkten Zugang zum Panseninhalt gewährleistet (Abb. 2). 2,5dl sollten genügen, um die Versuche im Labor durchzuführen.

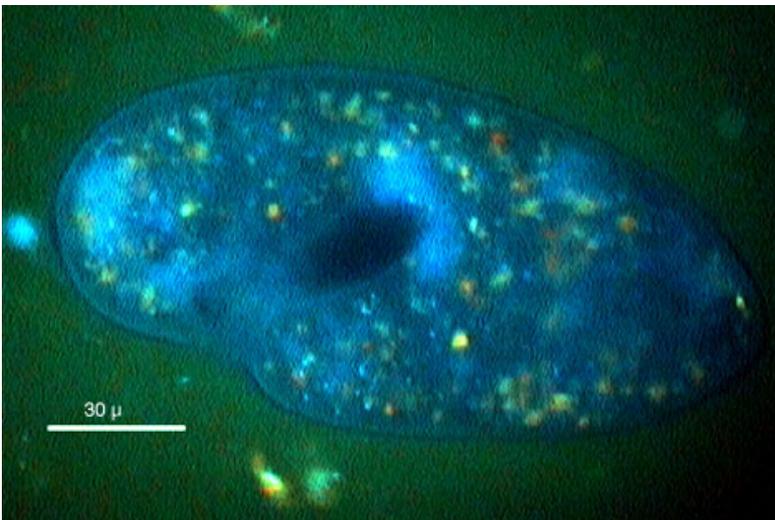


**Abb. 2** Pansensaftentnahme bei einer fistulierten Kuh

## 2. Vorgehen

### Mikroskopische Untersuchungen

Im Phasenkontrastmikroskop wurden schon bei geringer Vergrößerung zahlreiche Cilliaten (Abb. 3) und einzelne Flagellaten sichtbar, die sich durch Einstrudeln von kleineren Nahrungspartikel ernährten.



**Abb. 3** Eigenfluoreszenz eines Ciliaten, bedingt durch Methanarchäen, die sich auf oder in der Ciliatenzelle befinden



**Abb. 4** Prokaryotische Mikroorganismen unter dem Phasenkontrastmikroskop

Bei 400facher Vergrößerung konnten auch zahlreiche Prokaryoten (Bakterien und Archäen) beobachtet werden. (Abb. 4)

## Redoxuntersuchungen

Zum Pansensaft wurden geeignete Farbindikatoren (Methylenblau, Resazurin und Phenosafranin) beigemischt, welche die ablaufenden Redoxreaktionen aufzeigen.

### pH-Messung des Pansensaftes

Um den pH zu messen, können speziell dafür konzipierte Messgeräte, Teststreifen oder pH Farbindikatoren verwendet werden. Wir haben in unserem Versuch letztere als Hilfsmittel herbeigezogen.

pH-Indikatoren sind organische Farbstoffe, deren Farbe in Lösung vom pH-Wert abhängt. Wir haben in unserem Experiment Bromthymolblau verwendet. Es liegt im dissoziierten Zustand ( $\text{pH} > 7.2$ ) als blaue Base vor. Im pH-Bereich von 7.5 - 6.0 wechselt die Farbe zu grün, bei pH-Werten  $< 6$  ist die Farbe gelb.

Auf einer weissen Keramikplatte wurde etwas Indikator mit einem Tropfen Pansensaft vermischt.

Nach Zugabe des Pansensaftes änderte sich die Farbe von blau zu grün. Am Rand des Gemisches ist nach wenigen Minuten deutlich eine Rückfärbung zum ursprünglichen Blau zu erkennen.

## 3. Ergebnisse & Diskussion

### • Redoxbetrachtungen

Die unterschiedlichen Redoxindikatoren verfügen über verschiedene Redoxpotentiale. Die benötigte Zeit vom Hinzufügen des Indikators bis zum Zeitpunkt, bei dem der Pansensaft wieder seine ursprüngliche Farbe hat, ist von diesen Redoxpotentialen abhängig.

Der Pansensaft selbst verfügt über ein Redoxpotential von  $-300$  bis  $-400$  mV. Somit ist ersichtlich, dass sich das Methylenblau ( $E_h = +10$  mV) und das Resazurin ( $E_h = -45$  mV) schneller entfärbten als Phenosafranin ( $E_h = -270$  mV). Am schnellsten ging es mit Methylenblau.

Pansensaft, der mit einer Glukoselösung versetzt wurde, zeigte eine schnellere Entfärbung, als solcher, dem die gleiche Menge destilliertes Wasser zugefügt wurde. Dies zeigt die hohe Aktivität der Mikroorganismen, welche den neu zugefügten Zucker sofort zu oxidieren beginnen.

Pansensaft, welcher zuerst gekocht und dann mit Glukose versetzt wurde, zeigte keinerlei Redoxaktivitäten, da die Mikroorganismen durch das Erhitzen auf  $100^\circ\text{C}$  abgetötet wurden.

An der Kontaktfläche zwischen dem Pansensaft und der im Reagenzglas eingeschlossenen Luftblase (das Röhrchen wurde nicht vollständig gefüllt), war nach der Entfärbung immer wieder Farbe des Indikators sichtbar. Diese Farbe zeigt, dass ein Redoxgleichgewicht besteht und stellt die rückoxidierte Form des Indikators dar. Als Oxidationsmittel wirkte der Sauerstoff der eingeschlossenen Luft.

- **pH-Betrachtungen**

Aus den Beobachtungen kann geschlossen werden, dass der pH-Wert des verwendeten Pansensaftes tatsächlich um 6.8 – 6.9 herum liegt. Dies auf Grund der Färbung des Indikators und dem Wissen von dessen Umschlagbereich bei pH 7.5 – 6.0.

Der beobachtete blaue Rand des Indikatortropfens ist auf an diesem Ort herrschende Basizität zurückzuführen. Diese kommt wie folgt zustande: Die im Pansensaft gebildeten Gase ( $\text{CO}_2$  und  $\text{CH}_4$ ) tendieren (vor allem am Rand) dazu, sich zu verflüchtigen.  $\text{CO}_2$  aus Kohlensäure ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) entweicht aus dem nun offenen System. Der zuerst noch als grüner Farbstoff vorliegende Indikator fungiert dabei als Protonenlieferant und geht selbst über zur konjugierten Base (blau). Die Kohlensäure selbst wird ebenfalls wieder vom als Base vorliegenden Indikator deprotoniert. Ein Gleichgewicht – welches auf der Seite der konjugierten Base des Indikators liegt – stellt sich ein und äussert sich im beobachteten blauen Rand.