

Physik

Laser als Bazillen-Spürnase

LASER-BEUGUNGSMUSTER ALS "FINGERPRINT" VON BAKTERIEN

Je schneller Bakterien identifiziert werden, umso eher können Gegenmaßnahmen ergriffen werden. Daher entwickelte ich ein Verfahren, das gewachsene Bakterienkolonien mit einem Laser bestrahlt. Die so erhaltenen Beugungsmuster sind typisch für die verwendeten Bakterienarten.

DIE JUNGFORSCHERIN



Katarina Chapman (1999) Gymnasium Hochrad 22605 Hamburg

Eingang der Arbeit: 29.8.2016 Arbeit angenommen: 20.12.2016





Laser als Bazillen-Spürnase

LASER-BEUGUNGSMUSTER ALS "FINGERPRINT" VON BAKTERIEN

1. Einleitung

Das Identifizieren von Bakterien ist essenziell in allen mikrobiologischen und bakteriologischen Laboren und auch in Gesundheits- und Pflegeeinrichtungen ist es von Vorteil. Jedoch ist dies wegen der Größe und Beschaffenheit von Bakterien nicht einfach. Bakterien haben eine Größe von nur wenigen Mikrometern, meist 0,2 µm im Durchmesser und 2 µm bis 8 µm in der Länge. Unter einem Lichtmikroskop können sie nur begrenzt detailliert abgebildet werden, da das optische Auflösungsvermögen durch die Lichtwellenlänge und den Öffnungswinkel des Objektivs limitiert wird. Sie sind folglich nur grob als Punkte oder Striche zu erkennen. Allgemeine Morphologie und Anordnungsweise sind dadurch zwar erkennbar, aber es gibt keine spezifischen Indizien, die auf den speziellen Bakterienstamm hindeuten. In der Regel werden Bakterien durch biochemische Analysen identifiziert. Ein Beispiel ist die Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Diese

Methode gilt als sehr vertrauenswürdig, liefert jedoch erst nach vier bis sieben Tagen Ergebnisse. Im Allgemeinen sind biochemische Analysen oft aufwendig und teuer, beschädigen die Probe oder verlangen andere Informationen im Voraus.

Folglich wäre es sehr praktisch, wenn es eine alternative Methode gäbe, um Bakterien zu bestimmen, welche schneller und kostengünstiger ist. Die konkrete Idee, Bakterien mit einem Laser zu bestrahlen und ihre Streuungsmuster anzuschauen, bekam ich durch ein Projekt, in dessen Rahmen ich mit Schallwellen akustische Interferenzmuster erzeugt hatte. Da Schall jedoch eine relativ lange Wellenlänge hat, waren Interferenzphänomene durch Objekte, die wesentlich kleiner als diese Wellenlänge waren, erwartungsgemäß nicht zu beobachten. Bakterien sind kleiner als die Wellenlänge von selbst sehr hochfrequenten Schallwellen. Daraus schloss ich, dass man kurzwelligere Wellen bräuchte, wie elektromagnetische Wellen, da sonst keine Beugung stattfinden kann.

Die Voraussetzung für Interferenz ist Kohärenz, die "Eigenschaft zweier Wellenzüge, die dann vorliegt, wenn ihre Phasenverschiebung an einem festen Ort für alle Zeiten (des Versuchs) konstant bleibt" [1]. Während es möglich ist, Schallwellen lange kohärent zu halten, ist dies mit Licht nicht der Fall, da sich natürliches Licht aus vielen einzelnen Wellenzügen zusammensetzt. Um zeitlich und räumlich kohärentes Licht zu erzeugen, braucht man einen Laser, da dieser monochromatisches Licht (d.h. Licht derselben Wellenlänge) und (genügend) paralleles Licht aussendet. Zwar erzeugt auch ein Laser keine wirklich unendlich langen parallelen Wellenzüge - diese sind abhängig vom jeweiligen Gebrauch des Lasers entsprechend kürzer oder länger - aber es gibt Laser mit Kohärenzlängen von einigen Kilometern, welche für diese Versuche hinreichend "unendlich lang" und kohärent genug sind [2]. Es gibt also sowohl in Ausbreitungsrichtung als auch senkrecht dazu feste Phasenbeziehungen zwischen den Lichtwellen. Daher lassen sich mit Laserlicht die besten Interferenzerscheinungen erzeugen. Der Vorteil von Lasern ist außerdem, dass sie leicht zugänglich sind.

Eine Recherche zeigte, dass die Sammlung von Informationen über Bakterien durch Laserstreuung sehr aktuell ist [3, 4, 5, 6, 7]. Im Bereich der Laserlichtstreuung gibt es ausgereifte Methoden wie dynamic light scattering und static light scattering, wobei anhand von Streuungsintensitäten die Größe von Polymeren oder Partikeln in Lösungen gemessen wird [8]. Bei den noch zu entwickelnden Methoden der Streuung an Bakterien werden oft komplexe Aufbauten benötigt mit Linsen und Blenden. Das Ziel dieses Projektes ist, den Aufbau möglichst einfach zu halten, indem über die Bakterienprobe hinaus lediglich ein Laser benötigt wird.

Die Hauptfragen bei der Untersuchung waren, ob man durch Bestrahlen von

Bakterien etwas "sehen" kann, z.B. durch Beugungs- und/oder Streuungsphänomene, und wenn ja, ob man mit diesen Mustern zwischen unterschiedlichen Bakterien unterscheiden kann.

2. Material und Methoden

2.1 Versuchsaufbau

Für den Versuchsaufbau wurde ein grüner Laser (543,5 nm Wellenlänge, Leistung: 1,25 mW, Uniphase Modell Nr. 1676), ein Kreuztisch mit einer in x/y-Richtung verschiebbaren Fläche (den ich von einem Mikroskop abgebaut habe), ein Stativ zum Stabilisieren des Lasers, verschiedene Bakterienkulturen, Agar- und Blutagarplatten, ein Brutschrank, ein Mikroskop, Glasstäbe, ein Kühlschrank, ein Stativ für die Kamera, stresserzeugende Medien wie Salz und eine Kamera zum Abfotografieren des erzeugten Bildes verwendet.

Laserlicht wurde wegen dessen langer Kohärenzlänge verwendet (s. Einleitung). Ein grüner Laser wurde gewählt, da diese Farbe nach blau und violett eine der kurzwelligsten Farben ist. Um die Bakterien mit dem Laser präzise bestrahlen zu können, wurde ein Versuchsaufbau überlegt, der gewährleistet, dass der Laser und die Probe sehr stabil gehalten werden und außerdem die Probe in sehr feinem Maße positioniert werden kann. Nach dem Probieren verschiedener Aufbauten stellte sich eine vertikale Anordnung des Lasers als beste heraus, da die Probe in diesem Fall am sichersten positioniert werden konnte (s. <u>Abb. 1</u> und <u>2</u>). Der Laser befand sich 21 cm von der Probe entfernt, welche sich wiederum 83 cm von dem Schirm entfernt befand. Der Schirm war eine weiße Pappe auf dem Boden. Ein Stativ hielt die Kamera, die das Ergebnis auf dem Schirm aus immer gleicher Entfernung abfotografierte. Da sich die Kamera außerhalb des Aufbaus befand, sind die Bilder perspektivisch verzerrt. Die Probe, also die Bakterienkultur, befand sich auf einer Müller-Hinton-Agarplatte, die von einem Kreuztisch festgehalten wurde. Der Kreuztisch befand sich zwischen zwei Tischen, damit der Laser bis zum Boden strahlen konnte. Da der Raum für die Versuche dunkel sein musste, um die entstehenden Bilder auf dem Schirm kontrastreich und differen-



ziert erkennen zu können, markierte ich mir die zu bestrahlende Stelle auf der Petrischale immer vor der Durchführung des Versuchs. Somit war bei der Auswertung klar, welche exakte Kolonie bestrahlt worden war.

2.2 Untersuchte Bakterien

Die Bakterien, die für die Versuche benutzt wurden, wurden so ausgewählt, dass es mehrere Vertreter aus den großen morphologischen Gruppen gab und sowohl grampositive als auch gramnegative Bakterien vorhanden waren. Die Gram-Färbung dient dabei als weiteres taxonomisches Merkmal, welches auf die unterschiedliche Färbbarkeit der Bakterien aufgrund von verschiedenem Aufbau der Zellwände basiert. Es wird dabei zwischen bakteriellen Zellwänden mit einer dünnen, einschichtigen (gramnegativ) oder einer dicken, mehrschichtigen Mureinhülle (grampositiv) unterschieden. Alle verwendeten Bakterien waren nicht pathogen. Trotzdem musste darauf geachtet werden, Handschuhe zu benutzen, um sich und andere Menschen vor möglicher Kontamination zu schützen.





Bakterien werden anhand ihrer morphologischen Struktur klassifiziert. Diese Gruppen sind *Coccus* (kugelförmig), *Bacillus* (stäbchenförmig) und *Spirillum* (spiralenförmig). Mit Spirillen wurde nicht gearbeitet, da diese zum Wachsen aufwendigere Bedingungen erfordern.

Die folgenden Bakterien wurden verwendet: Staphylococcus epidermis, Klebsiella pneumoniae, Neisseria mucosa, Moraxella osloensis, Enterococcus faecalis, Corynebacterium amycolatum, Bacillus subtilis und Escherichia coli.

Diese acht Bakterienstämme wurden vom medizinischen Versorgungszentrum, Labor Dr. Fenner und Kollegen zur Verfügung gestellt, wo ich während eines einwöchigen Ferienlabors lernte, wie Bakterien ausgestrichen und überimpft werden. Beim Überimpfen werden die Bakterien von einer bewachsenen Agarplatte auf eine frische Agarplat-

Tab. 1: Einordnung der verwendeten Bakterien in die Haupt- und Subgruppen von Bacillus und Coccus [9].					
	Coccus				
Diplococci	Enterococcus faecalis, Neis- seria mucosa, Moraxella osloensis				
Tetrad	Moraxella osloensis				
Staphylococci	Staphylococcus epidermis				
	Bacillus				
Einzelne Bacilli	Klebsiella pneumoniae, Corynebacte- rium amycola- tum, Escherich- ia coli				
Streptobacilli	Bacillus subtilis				

te übertragen, um diese durch das neue Nährmedium und den nutzbaren Platz am Leben zu erhalten. Der sogenannte Ausstrich bezeichnet die Methode der Vereinzelung der einzelnen Bakterien auf der Oberfläche des Mediums.

Die verwendeten Bakterien wurden nummeriert und in zwei Hauptgruppen unterteilt, *Coccus* und *Bacillus*, welche auch Subgruppen haben (s. Tab. 1). Die Hauptgruppe beschreibt die Morphologie der Bakterie, während die Subgruppe die Anordnungsweise der Bakterie in der Kolonie beschreibt. Manche Bakterien, wie hier *Moraxella osloensis*, werden mehr als einer Subgruppe zugeordnet, weil sie sich in verschiedenen Weisen anordnen können.

2.3 Versuchsdurchführung

Die Bakterienkulturen wuchsen ursprünglich auf Blutagarplatten (s. Abb. 3). Um die Extinktion des Lichtes durch den Agar zu verringern, wurden die Bakterienkolonien allerdings noch einmal auf Müller-Hinton-Agarplatten ausgestrichen, da diese farblos sind und daher das Laserlicht weniger beeinflussen. Die Bakterien wurden überimpft, indem sie mit einem sterilisierten Glasstab abgestrichen und auf eine neue Agarplatte aufgestrichen worden sind. Die neu beimpften Platten wurden über Nacht in einen Brutschrank bei 37° Celsius gestellt und zwischen Versuchen im Kühlschrank gelagert, damit es möglichst wenig neuen Bakterienwuchs gab. Wenn der Bakterienwuchs zu viel wurde und alle Kolonien einen Durchmesser von mehr als ca. 1 mm hatten, mussten die Bakterienkolonien beim nächsten Versuch wieder auf eine neue Platte überimpft werden.

Beim Fotografieren aller Beugungsbilder wurde folgendermaßen vorgegangen: Es wurde die Probe (auf einer Agarplatte gewachsene Bakterien) angesehen und zuerst eine Kolonie ausgesucht, die kleiner als der Durchmesser des Laserstrahls war, d. h. kleiner als 0,8 mm, damit der Rand der Kolonie vom Strahl mit erfasst wurde. Um das "Grundrauschen" zu minimieren, durfte die Kolonie im Vergleich zur bestrahlten Agarfläche nicht zu klein sein. Dabei musste darauf geachtet werden, dass die Kolonie isoliert und nicht mit einer anderen zusammengewachsen war. Erst anschließend wurden auch zusammengewachsene Kolonien bestrahlt und deren Bilder dokumentiert.

Um die Ergebnisse später in Relation zu den morphologischen Eigenschaften der Bakterien zu setzen, wurden Versuche mit drei verschiedenen Präparationsbedingungen durchgeführt.

- a) Bestrahlung der acht Bakterienarten nach 12 Stunden im Brutschrank.
- b) Bestrahlung der acht Bakterienarten nach 48 Stunden im Brutschrank.
- c) Bestrahlung von Staphylococcus epidermis unter osmotischem Druck durch Hinzugabe einer 1 % NaCl-Lösung.

In Versuch a) wurden die Bakterien 12 Stunden bebrütet, welches genügend Zeit ist, damit die Bakterien höchstens 0,8 mm im Durchmesser große Kolonien bilden, die bestrahlt werden können. Nach 48 Stunden dagegen beginnen die Kolonien zusammenzuwachsen und sich zu überlappen. Mit diesem Versuch kann beobachtet werden, inwieweit sich die Größe der Kolonie und der damit zusammenhängende Durchmesser und Menge an produziertem extrazellulären Material das Beugungsbild beeinflussen. Diese beiden Versuche wurden an anderen Tagen und mit anderen Ausstrichen wiederholt. Bei der dritten Präparationsweise wurden die Bakterien mit einer Salzlösung unter osmotischen Druck gesetzt, welches eine hypertonische Umgebung verursacht. Die NaCl-Lösung wurde mit einem Glasstab auf schon gewachsene Bakterienkulturen verteilt. Hiermit kann untersucht werden, inwieweit eine veränderte Form der Bakterien das Beugungsbild beeinflusst. Das wird erreicht, indem Wasser aus der Zelle hinaus diffundiert und damit ein Dehydrieren der Zelle verursacht wird.

In einem vierten Versuch wurden Lysozym-Kristalle (ca. 2 μ m), die eine zu Bakterien vergleichbare Größe aufweisen, bestrahlt. Dieser Versuch diente zum Vergleich der Beugungsmuster mit einem Objekt vergleichbarer Größe, welches jedoch nicht – wie Bakterien – Kolonien bilden kann. Die Lysozym-Kristalle wurden auf die Agarplatte verteilt, um gleiche Bedingungen wie bei den anderen Versuchen zu haben. Damit konnte untersucht werden, inwieweit die makroskopische Form der kreisförmigen Kolonie eine Rolle beim Beugungsbild spielt.

In einem letzten Versuch wurde untersucht, ob die Ergebnisse vom ersten Versuch benutzt werden können, um zu überprüfen wie akkurat oder mehrdeutig die Fingerprints als Erkennungsmethode sind. Zwei verschiedene Testpersonen schauten sich je sechs Streuungsmuster an. Anhand einer von mir erstellten Tabelle sollten die Personen die bestrahlte Probe hinsichtlich des Bakterientyps identifizieren.

Es wurden außerdem noch Vorversuche durchgeführt, bei denen als Objekt Haare, gewebter Stoff und Doppelspalt-Dias verwendet wurden, um das Phänomen



Abb. 3: Vergleich der roten Blutagarplatten und farblosen Müller-Hinton-Agarplatten.

der Interferenz besser zu verdeutlichen. Zusätzlich wurde das Streuungsbild des reinen Agars – ohne Bakterien – untersucht.

3. Beobachtungen und Ergebnisse

3.1 Eigenschaften des Laserstrahls

Nach dem Handbuch des Lasers hat der zentrale Laserstrahl einen Durchmesser von 0,8 mm. Versuche zeigten jedoch, dass das Licht nicht so gebündelt bleibt: Zuerst wurde der Laser auf eine Wand in derselben Entfernung (104 cm) wie bei den Bakterienversuchen gerichtet, um zu sehen, wie der Strahl durch die Luft propagiert. Der Strahl war auf der Wand als Punkt mit einem intensiven Mittelpunkt von ca. 1 mm Durchmesser und einem sogenannten Specklemuster zu sehen (s. <u>Abb. 4a</u>). Specklemuster (auch bekannt als Lasergranulation) sind körnige Interferenzphänome, welche entstehen, wenn Licht von einer kohärenten Quelle wie einem Laser an einer unebenen oder

Q

O,



Abb. 4: (a) Durchmesser des Streulichtkegels ohne Probe auf der Wand aus 104 cm Entfernung, (b) Durchmesser des Streulichtkegels durch den Kreuztisch (21 cm vom Laser entfernt) ohne Probe auf der Wand aus 104 cm Entfernung, (c) Durchmesser des Streuungsmusters durch den Kreuztisch mit Agar ohne Bakterienprobe (21 cm

(c) Durchmesser des Streuungsmusters durch den Kreuztisch mit Agar ohne Bakterienprobe (21 cm vom Laser entfernt) aus 104 cm Entfernung.



inhomogenen Oberfläche gestreut wird. Die Unebenheiten wirken als Streuzentren und verursachen Lichtwellen unterschiedlicher Phasen, welche dann im Fernfeld interferieren [10]. Als der Laser auf eine Pappe statt auf die Wand gerichtet wurde, verkleinerte sich der Durchmesser des Specklemusters aufgrund der ebeneren Oberflächenbeschaffenheit der Pappe um etwa 1 cm. Der Durchmesser des gesamten Lichtkegels bei einer Entfernung von 104 cm betrug jedoch 80 cm \pm 2 cm. Gründe hierfür sind die Streuung des Laserlichts am Gehäuse des Lasers und durch Partikel in der Luft.

Dieses "Grundrauschen" war bei den Versuchen mit Bakterien kleiner, da der Laser durch einen Kreuztisch mit einem kreisförmigen Loch schien, welcher den Durchmesser des Lichtkegels minimierte. Somit entstanden auf der Pappe weniger Specklemuster. Der Durchmesser betrug daher nur noch 13,5 cm \pm 1 cm (s. <u>Abb. 4b</u>). Das Streuungsmuster, welches entstand, als durch eine unbewachsene Agarplatte gestrahlt wurde, wurde untersucht (s. <u>Abb. 4c</u>). Wegen des geleeartigen Mediums kam es hier zu zusätzlicher Streuung. Der Durchmesser des Streulichtkegels auf der Wand betrug nun 20 cm \pm 2 cm.

Zusätzlich war zu beachten, den Laser nur auf eine isolierte Bakterienkolonie zu richten. Wenn der Laser auf mehrere Kolonien gleichzeitig gerichtet wurde oder auf eine dicht bewachsene Stelle der Agarplatte, war das Beugungsbild überlagert und wies kein reproduzierbares Muster auf, sondern ein Muster, welches je nach Position der Kolonien stark variierte (s. <u>Abb. 5</u>). In den folgenden Versuchen wurden nur die Beugungsmuster der einzelnen Kolonien verwendet.

3.2 Einzelversuche zum Phänomen der Beugung

Um die Invarianz der mit diesem Aufbau erzeugten Beugungsbilder zu beweisen, wurden Einzelversuche durchgeführt, die mit der Literatur verglichen werden können. Diese Versuche trugen außerdem zum Verständnis der Theorie bei (s. Abb. 6). Untersucht wurde das Interferenzmuster an einem spaltförmigen Objekt (Abb. 6a) und an einem Gitter (Abb. 6c) und mit dem Beugungsbild aus der Literatur verglichen [11] (s. Abb. 6b). Das Muster ist identisch damit ist die Gültigkeit des Aufbaus bewiesen. Die Unterschiede in den Größenabständen der Maxima zeigt nur, dass das von mir verwendete Objekt eine andere Dicke hatte als das Objekt des verglichenen Beugungsbilds oder, dass die benutzten Laser eine andere Wellenlänge hatten. Zusätzlich wurde das Beugungsbild eines unperfekten Gitters untersucht. Dazu eignete sich als Objekt ein gewobenes Tuch.



3.3 Bestrahlung der Bakterien nach 12 Stunden im Brutschrank

Bevor die gewachsenen Bakterien mit dem Laser bestrahlt wurden, wurde die Morphologie der Bakterienkolonie unter dem Binokular näher untersucht (s. <u>Abb. 7</u>). Der Begriff Beugungsbild wird im Folgenden verwendet, da in diesen Versuchen Beugungseffekte in den Bildern beobachtet wurden. Die Nummerierung in <u>Abb. 7</u> ist in der Bildunterschrift dokumentiert und wird in allen weiteren Versuchen so beibehalten.

In <u>Abb. 7</u> ist zu erkennen, dass die Morphologie der unterschiedlichen Kolo-





nien variiert, sowohl bei der Ausbreitung aller Kolonien auf den Nährböden (a), (b) als auch beim Wachstum einer einzelnen Kolonie (c). Vor allem haben die Kolonien unterschiedliche Größen. Aber sie haben auch unterschiedliche Beschaffenheiten. Bakterien Nr. 5 und 6 haben einen ausgefransten Rand, wohingegen die anderen Bakterien eher schleimig sind. Bei Nr. 3, 4 und 8 kann man außerdem erkennen, dass der Rand der Kolonie eine hellere Farbe hat und daher dort dünner oder die Bakterien weniger dicht sein müssen.

In Abb. 8 sind die Beugungsbilder der acht Bakterienarten zu sehen, wobei a, b und c auf unterschiedliche Kolonien derselben Agarplatte verweisen. Es ist zu erkennen, dass a, b und c in den meisten Fällen sehr ähnlich sind. Es gibt eine Ausnahme bei Nr. 1c, was daran liegt, dass nicht nur eine, sondern mehrere Kolonien gleichzeitig bestrahlt wurden. Man kann zwischen Beugungsmustern, die konzentrisch wie Nr. 1, 2, 3, 5 und 8 sind oder einem sternförmigen, speichenförmigen Muster entsprechen wie Nr. 4 und 7, unterscheiden. Es gibt auch die Möglichkeit, dass sie beide Eigenschaften haben wie Nr. 6. Der Abstand zwischen den konzentrischen Kreisen variiert, wie auch die Größe des gesamten Musters.

3.4 Bestrahlung der Bakterien nach 48 Stunden im Brutschrank

Als erstes wurde mit dem Laser wieder die Agarplatte ohne Bakterien bestrahlt, welche ebenso 48 Stunden im Brutschrank gewesen war (s. Abb. 9). Die erhaltenen Beugungsbilder (s. Abb. 10) sind im Vergleich zu Versuch 3.3 kleiner und bei Staphylococcus epidermis ist in der Mitte des Musters ein "Zentralring" zu sehen (s. Abb. 10, Nr. 1), ein intensiver Ring in der Mitte des Musters. Es besteht die Tendenz, dass mehrere Kolonien gleichzeitig bestrahlt werden und dass die Muster deshalb nicht mehr ganz perfekt konzentrisch wie beim Versuch 3.3 sind. Stattdessen überlagern sie sich (s. Abb. 10, Nr. 2).



3.5 Bestrahlung von Staphylococcus epidermis unter osmotischem Druck

Wie in <u>Abb. 11</u> zu sehen ist, ändert sich das Beugungsbild der Probe, nachdem eine Salzlösung aufgetragen wurde, indem die äußeren Ringe im Vergleich zum Mittelpunkt weniger intensiv werden und das sonst konzentrische Muster sternförmiger wird. Der vorher vorhandene "Zentralring" (s. <u>Abb. 11a</u>) verschwindet bei der Zugabe der Salzlösung.

Staphylococcus epidermis	1	a	b	c	
Neisseria mucosa	2	-0			
Enterococcus faecalis	3	\odot	\bigcirc	\odot	
Bacillus subtilis	4		200		
Klebsiella pneumoniae	5	D	V		30 cm
Moraxella osloensis	6				
Coryne- bacterium amycolatum	7				
Escherichia coli	8	8	S	A	

Abb. 8: Beugungsbilder der acht Bakterienarten mit jeweils drei stichprobenartig ausgewählten Kolonien einer Größen; der Maßstab in 5c ist für alle weiteren Abbildungen zu übernehmen.

3.6 Interferenzmuster der Lysozym-Kristalle

Die Lysozym-Kristalle, welche eine geometrisch eckige Struktur haben und sich von der Struktur einer Bakterienkolonie unterscheiden, ergeben körnige Streuungsmuster, die sich deutlich von den Beugungsmustern der Bakterienkolonien unterscheiden (siehe <u>Abb. 12</u>).

3.7 Erkennen von Bakterienarten anhand der Beugungsmuster

Dieser Versuch diente dazu, zu prüfen ob die Bakterienarten anhand ihrer Beugungsmuster ("Fingerprints") unterschieden werden können. Beide Testpersonen haben in vier von sechs Fällen die Beugungsmuster der Bakterienart richtig zugeordnet. Dies führt zu einer Richtigkeit von 66,6 %.



Abb. 9: Streuungsmuster durch Agarplatte ohne Bakterien nach 48 Stunden im Brutschrank.

4. Diskussion

Die Beugungsbilder der acht Bakterienarten unterscheiden sich in wesentlichen Merkmalen. Hervorgerufen werden diese Unterschiede durch die Struktur und Morphologie, die offensichtlich die optischen Eigenschaften beeinflussen. Ein Beweis dafür ist, dass sich die Beugungsbilder verändern, wenn sich die Bakterien durch Umwelteinwirkungen verändern. Das können z. B. längere Brutzeiten oder andere osmotische Drücke sein.

Der Effekt, der auftritt, wenn Wellen an einem Objekt von ihrem geraden Weg abgelenkt werden und sich in Bereiche ausbreiten, die sonst vom Objekt versperrt wären, wird Beugung genannt. Es wird zwischen Fresnel-Beugung und Fraunhofer-Beugung unterschieden, je nachdem, ob die Ebene der Beobachtung nah oder weit vom Objekt entfernt ist, und die Lichtstrahlen dadurch parallel bzw. nicht parallel auf dem Bildschirm auftreffen [12, 13]. Dabei werden die Wellenfronten im Fernfeld immer paralleler. In meinen Versuchen war die Bakterienkolonie nicht weit vom Schirm entfernt, die Messungen wurden also im Nahfeld aufgenommen und es wurde Fresnel-Beugung beobachtet.

Form und Struktur der Kolonie spielen für die Beugung eine bedeutende Rolle. Durch mikroskopische Aufnahmen der Bakterienkolonien (s. Abb. 7) kann man zwischen zwei Bereichen unterscheiden, der Mitte und dem Rand. In der Mitte der Kolonie lagern sich die ältesten Bakterien ab, die am meisten extrazelluläres Material abgesondert haben, in den Randbereichen dagegen weniger und junge Bakterien. Alles zusammen führt zu einem starken Gradienten in der Massendichteverteilung mit einem Maximum im Probezentrum. Die Transmission von Licht ist deshalb am Rand höher als in der Mitte.

Das Muster des resultierenden Beugungsbildes entsteht durch das Zusammenwirken vieler unterschiedlicher Effekte (<u>Abb. 14</u>). Ich vermute, dass die folgenden drei Effekte dominieren:

- Beugung an der makroskopischen, geometrischen Struktur der Kolonie, d. h. an den Rändern der Kolonie,
- Beugung an den mikroskopischen Substrukturen der Kolonie, d. h. an den einzelnen Bakterien, die sich in verschiedenen Weisen anordnen und
- Interferenz an der Kolonie, da sie wie eine Linse geformt ist.

Staphylococcus epidermis	1	a	b	c
Neisseria mucosa	2			
Enterococcus faecalis	3	۲		
Bacillus subtilis	5 4			ei
Klebsiella pneumoniae	5	<₿		
Moraxella osloensis	6			(
Coryne- bacterium amycolatum	7			
Escherichia coli	8	٠	٠	۲

Abb. 10: Tabelle der Beugungsbilder der acht verschiedenen Bakterienarten mit jeweils drei stichprobenartig ausgewählten Kolonien geeigneter Größe nach 48 Stunden im Brutschrank.

0



Da bei der Bakterienkolonie sowohl im makroskopischen, als auch im mikroskopischen Bereich Beugung stattfindet, unterscheidet man bei den auftretenden Effekten zwischen wellenoptischen Effekten und strahlenoptischen, d. h. kaustischen Effekten, die in Bereichen auftauchen, wo sich Strahlen überlappen.

Trifft das Laserlicht auf den äußeren Rand der Kolonie, passiert das gleiche wie an einem punktförmigen Hindernis. Das Licht wird gebeugt (Erklärung durch das Huygenssche Prinzip [14]). Wäre dies der einzige Effekt, dann würde ein Interferenzmuster aus konzentrischen Ringen (s. Abb. 13c) entstehen. Aufgrund der Linsenform der Kolonie kann dieser Effekt sogar zweimal auftreten. Dabei ist nicht der Effekt einer optischen Linse gemeint, sondern die linsenähnliche Form, welche zweidimensional einer Gaußschen Kurve entsprechen würde. Eine weitere "Kante" entsteht durch den Unterschied der Transmissionskoeffizienten der Mitte und des Randes, d.h. durch den Dickenunterschied der beiden Bereiche.

Diese "Kante" wirkt wie eine zweite Quelle und es entsteht an der Stelle eine neue, zweite Wellenfront [15], welche mit der ersten Wellenfront im Fernfeld konstruktiv interferiert. Das könnte den beobachteten "Zentralring" erklären (s. <u>Abb. 11a</u>, <u>Abb. 10</u>, Nr. 1).

Wie beschrieben hat die Kolonie eine konvexe Form, wenn sie im Querschnitt betrachtet wird. Dies lässt sich lichtmikroskopisch bestimmen. Sie lässt sich als linsenähnliches Objekt beschreiben, mit einer kreisförmigen Apertur, wodurch die Interferenzmuster entstehen. Wenn das Licht auf die Linse fällt, wird es beim Eintreten in die Kolonie und Austreten gebrochen. Je flacher die Kolonie ist, desto weiter wird der "Brennpunkt" entfernt sein und desto klarer wird das Beugungsbild. Dieser Effekt wird dadurch beeinflusst, wie sehr die Kolonie einer perfekten Linse ähnelt, d.h. ob die Oberfläche der Kolonie uneben oder glatt ist.

Die Beugung an der geometrischen Form einer Apertur hat konzentrische und

speichenförmige Ringe zur Folge, welche Airy-Ringen oder Beugungsscheibchen [16] und Spikes [17] ähneln. Diese wellenoptischen Phänomene sind sonst unerwünschte Effekte bei der Astrofotographie. An kreisförmigen Blenden wird das Licht gebeugt, sodass ein "zentrales Maximum, umgeben von Ringen abnehmender Licht-Strahlungsintensität" [17] entsteht, an nicht-kreisförmigen Blenden entsteht ein Lichtkreuz. Der Unterschied dieser zwei Blenden kann mit dem Unterschied der mikroskopischen Struktur von stäbchen- und kugelförmigen Bakterien verglichen werden (s. Abb. 13), da die dünnen Drähte der Spiegelaufhängung im Fernrohr bei nicht-kreisförmigen Blenden der Anordnung von stäbchenförmigen Bakterien ähneln.

Die Beugungsbilder der Bakterien sind nicht wie Beugungsbilder von geradlinigen Objekten wie z.B. einem Haar (s. <u>Abb. 6a</u>) oder einem Gitter (s. <u>Abb. 6c</u>). Dennoch weisen Beugungsbilder von stäbchenförmigen Bakterienarten ähnliche Muster auf (speichenartiges Muster: s. <u>Abb. 8</u>, Bakterienart Nr. 4,



Abb. 12: Struktur von Lysozym-Kristallen (a) und dessen Streuungsmuster (b, c).



einer kugelförmigen Bakterienart.

(6), 7; <u>Abb. 10</u>, Nr. 4, 5, 7). Die Speichen im Beugungsmuster weisen Parallelen von Beugungsbildern an rechteckigen Objekten (s. <u>Abb. 6a, c</u>) auf und könnten an der inneren Struktur von stäbchenartigen Bakterienkolonien und an den Fransen am Rand erklärt werden. *Bacillus* Bakterien sind stäbchenförmig und verursachen eine Ausfransung des Kolonienrandes. Außerdem ordnen sich die Stäbchen alle kreuz und quer übereinander an wie ein sehr unregelmäßiges Gitter. Hier erfolgt Mehrfachstreuung an dieser Substruktur der vielen einzelnen Bakterien. Die Anordnung der Bakterien wäre noch unregelmäßiger als die Anordnung der Fäden im Tuch (s. <u>Abb. 6d</u>), d.h. das Beugungsmuster müsste aufgrund der vielen Speichen mehr die Form eines Ringes annehmen. Eine weitere Beobachtung ist, dass bei Bakterien, die länger im Brutschrank waren, die Beugungsbilder hauptsächlich kleiner werden. Der Brutschrank bewirkt, dass die Bakterien weiter wachsen können, die Kolonien werden größer, die inneren Strukturen werden heterogener, besonders die Ränder, da die Bakterien zur Seite wachsen. Es erfolgt eine Deformation der Kreisform.

୍ର୍

0



Abb. 14: Grafik zur Veranschaulichung der Entstehung der Beugungsmuster und der drei Hauptcharakteristika "konzentrische Ringe", "Zentralring" und "Speichenmuster" am Beispiel von *Bacillus subtilis*.



Wird die Kolonie so groß wie oder größer als der Strahldurchmesser, ist diese entweder ein opakes Hindernis oder die Beugung erfolgt ausschließlich an den Rändern und nicht durch den Effekt der Linse. Eine Deformation der Kreisform wurde durch die Hinzugabe von Salz bewusst provoziert, da sich hier die Bakterien wegen des osmotischen Drucks der hypertonischen Salzlösung zusammenziehen und Furchen bilden.

Bezogen auf die in der Einleitung gesetzten Versuchsziele, kann abschließend gesagt werden, dass durch das Bestrahlen von Bakterien mit einem Laser, Beugungsbilder zu sehen sind, die bei Kolonien derselben Bakterienart gleich sind. Die Beugungsbilder unterschiedlicher Bakterienarten unterscheiden sich in der Größe, dem Muster und der Intensität und können deswegen als "Fingerprint" der Bakterienart bezeichnet werden. Am Beugungsbild kann abgelesen werden, welche Morphologie die Bakterien haben, ob die Bakterien vergleichsmäßig groß oder klein sind und ob die Bakterien im fortgeschrittenen Wachstumsstadium sind bzw. ob sie viel extrazelluläres Material abgesondert haben.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel war es, zu untersuchen, ob man mit einem einfachen Aufbau (Laser und Probe) Beugungsbilder von Bakterien erzeugen und anhand dieser zwischen Bakterien unterscheiden kann. Dieses Ziel wurde erreicht. Die Beugungsbilder konnten den Bakterienarten zugeordnet und reproduziert werden. Damit wurde gezeigt, dass es generell möglich ist, Bakterien durch ihr Beugungsbild zu identifizieren. Zusätzlich wurde gezeigt, dass sich äußere Einflüsse auf das Beugungsbild auswirken und somit den Fingerprint verändern.

Ausblickend könnte diese Methode im Labor Verwendung finden. Bei großen Krankheitsausbrüchen, wie z.B. beim EHEC-Ausbruch in 2011, könnte der Auslöser schneller und auf einfachere Art gefunden werden. Durch das Nehmen von Proben unterschiedlicher Lebensmittel (Gemüsesorten) von diversen Produzenten und das Bestrahlen dieser mit einem Laser hätten die EHEC-Bakterien möglicherweise schneller gefunden werden können. Daraus ableitend hätte diese Methode auch in der Lebensmittelsicherheit Anwendungsmöglichkeiten.

Um die Beugungsmuster von Bakterien als vertrauenswürdige Methode zur Identifizierung benutzen zu können, müssen weitere Versuche mit veränderten Umweltbedingungen durchgeführt werden. Es müssen Beugungsbilder näher untersucht werden, um herauszufinden, was diese noch über die Bakterien aussagen können. Dabei könnte zum Beispiel ermittelt werden:

- a) was die minimale Größe einer Bakterienkolonie ist, damit Beugung noch stattfinden kann,
- b) ob es Unterschiede im Beugungsmuster von Bakterien gleicher Art, aber anderen Stammes gibt (E. coli K-12, E. coli BL21, EHEC, ETEC, usw. sind verschiedene Stämme von Escherichia coli und sehen unter einem Mikroskop gleich aus) und
- c) inwiefern die Wellenlänge des benutzten Lasers Einfluss auf das Gesamtmuster hat. Außerdem wäre es sinnvoll, die Messdaten (Lichtintensitätsverteilung auf dem Schirm) computergestützt zu erfassen und auszuwerten, um die Bakterien nicht nur mit dem bloßen Auge, sondern auch auf quantitativem Wege zu identifizieren. Da der "Fingerprint" nicht nur die Morphologie der Bakterienkolonie, sondern auch die Substruktur und die einzelnen Bakterien erfassen kann, ist zu vermuten, dass noch detailliertere Eigenschaften auf der molekularen Ebene, wie der chemische Aufbau der Bakterienzellwände, erfasst werden könnten.

Sollte das nicht der Fall sein, und keinen zusätzlichen Unterscheidungsfaktor bieten, ist es denkbar, dass einige Bakterienarten aufgrund mehrerer gleicher morphologischer Eigenschaften schwieriger zu identifizieren sind. Hier wäre das Kombinieren der vorgestellten Methode mit einer weiteren, z. B. chemisch selektiven Methode eine Möglichkeit.

Danksagungen

Ich bedanke mich bei Dr. Moritz Hentschke vom Labor Dr. Fenner und Kollegen, Hamburg, für hilfreiche Diskussionen sowie für die zur Verfügung gestellten Bakterienstämme und Agarplatten. Mein Dank gilt auch Markus Metz (CFEL, DESY) für die Zubereitung und Verfügungstellung der Lysozym-Kristalle. Ich bedanke mich zusätzlich bei Dr. Dominik Oberthür (CFEL, DESY) für ein interessantes Gespräch am Anfang meines Projekts, welcher mir einen Überblick über den derzeitigen Forschungsstand gab. Außerdem bedanke ich mich bei Dr.-Ing. Lothar Kreft (TUHH) und Lars Rokita (UHH) für die hilfreichen Verbesserungsvorschläge für meine Langfassung.

Literatur

- Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg (1998). Lexikon der Physik: Kohärenz. Abgerufen von http://www.spektrum.de/lexikon/physik/kohaerenz/8123 (Letzter Zugriff: 14.07.2018).
- [2] Salzmann, W. (August 2013). Kohärenz. Abgerufen von http://www.physik.wissenstexte.de/kohaerenz.htm (Letzter Zugriff: 14.07.2018).
- [3] A. Suchwalko, I. Buzalewicz, H. Podbielska, "Statistical identification of bacteria species", Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education (A. Méndez-Vilas, Ed.) Formatex 2013 pp. 711 - 721.
- [4] E. Bae, D. Ying, D. Kramer, V. Patsekin, B. Rajwa, C. Holdman, J. Sturgis, V. J. Davisson, J.
 P. Robinson "Portable bacterial identification system based on elastic light scatter patterns", Journal of biological engineering 6, 1-11, 2012.
- [5] A. Suchwalko, I. Buzalewicz, H. Podbielska, "Bacteria identification in an optical system with optimized diffraction pattern registration condition supported by enhanced statistical analysis", Optics Express 26312, 2014 OSA.
- [6] I. Buzalewicz, A. Wieliczko, H. Podbielska, "Influence of various growth conditions on Fresnel diffraction patterns of bacteria colonies examined in the optical system with converging spherical wave illumination", Optics Express 21768, 2011 OSA.
- [7] H. Kim, A. K. Singh, A. K. Bhutia, E. Bae, "Laser-induced speckle scatter patterns in Bacillus colonies", frontiers in microbiology, Volume 5, Article 537, October 2014.
- [8] Lars Øgendal, "Light Scattering: a brief introduction", University of Copenhagen, 20th May 2015, http://igm.fys.ku.dk/~lho/personal/lho/LS_brief_intro.pdf (Letzter Zugriff: 14.07.2018).
- [9] Praija, S.C. (Elsevier India, 2009). Textbook of Microbiology and Immunology, Kapitel Bacteriology, Google Books. Abgerufen von https://books.google.de/books?id=HcgGLfxDJSQC&printsec=frontcover&dq=editions:RfYG7qzqLT8C&hl=en&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (Letzter Zugriff: 14.07.2018).

- [10] J. C. Dainty, "The statistics of speckle patterns", Queen Elizabeth College, London, E. Wolf, Progress in Optics XIV, North-Holland, pp 3-5 1976
- [11] Stw 2008, Single slit intensity distribution, Wikimedia Commons, https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Single_slit_intensity_distribution.png#/media/File:Single_slit_ intensity_distribution.png (Letzter Zugriff: 14.07.2018).
- [12] J. B. Marion, W. F. Hornyak "Physics for science and engineering", Holt-Saunders International Editions, pp. 1138, 1982.
- [13] Marti, O. (Dezember 2010), Vorlesungsskript Grundlagen der Physik Illa, Institut für Experimentelle Physik Universität Ulm. Abgerufen von http://wwwex.physik.uni-ulm.de/lehre/gk3a-2003/gk3a-2003.pdf (Letzter Zugriff: 14.07.2018).
- [14] Lernhelfer, Duden (2010), Das Huygenssche Prinzip. Abgerufen von https://www.lernhelfer.de/schuelerlexikon/physik-abitur/artikel/das-huygenssche-prinzip (Letzter Zugriff: 14.07.2018).
- [15] Atis Telecom Glossary, knife edge effect. Abgerufen von https://www.atis.org/glossary/ definition.aspx?id=4047 (Letzter Zugriff: 14.07.2018).
- [16] wikipedia, Beugungsscheibchen. Abgerufen von https://de.wikipedia.org/wiki/Beugungsscheibchen (Letzter Zugriff: 14.07.2018). Bild: Geek3 (Mai 2010), Airy disk, Wikimedia Commons, https://commons.wikimedia.org/wiki/ Diffraction?uselang=de#/media/File:Airydisk_sqrt.png
- [17] wikipedia, Spike (Beugung). Abgerufen von https://de.wikipedia.org/wiki/Spike_(Beugung) (Letzter Zugriff: 14.07.2018). Bild: Anton (Nov. 2007), Beugungsbild einer mit zwei Linien abgedeckten Kreisblende, Wikimedia Commons, https://de.wikipedia.org/wiki/Spike_ (Beugung)#/media/File:Diffractionwirerp.png (Letzter Zugriff: 14.07.2018).

FORSCHUNGSARBEITEN VON

In der Jungen Wissenschaft werden Forschungsarbeiten von SchülerInnen, die selbstständig, z.B. in einer Schule oder einem Schülerforschungszentrum, durchgeführt wurden, veröffentlicht. Die Arbeiten können auf Deutsch oder Englisch geschrieben sein.

Wer kann einreichen?

SchülerInnen, AbiturientInnen und Studierende ohne Abschluss, die nicht älter als 23 Jahre sind.

Was musst Du beim Einreichen beachten?

Lies die <u>Richtlinien für Beiträge</u>. Sie enthalten Hinweise, wie Deine Arbeit aufgebaut sein soll, wie lang sie sein darf, wie die Bilder einzureichen sind und welche weiteren Informationen wir benötigen. Solltest Du Fragen haben, dann wende Dich gern schon vor dem Einreichen an die Chefredakteurin Sabine Walter.

Lade die <u>Erstveröffentlichungserklärung</u> herunter, drucke und fülle sie aus und unterschreibe sie.

Dann sende Deine Arbeit und die Erstveröffentlichungserklärung per Post an:

Chefredaktion Junge Wissenschaft

Dr.-Ing. Sabine Walter Paul-Ducros-Straße 7 30952 Ronnenberg Tel: 05109 / 561508 Mail: <u>sabine.walter@verlag-jungewissenschaft.de</u>

Wie geht es nach dem Einreichen weiter?

CLH. 0 + 2 ADP + 2P

Die Chefredakteurin sucht einen geeigneten Fachgutachter, der die inhaltliche Richtigkeit der eingereichten Arbeit überprüft und eine Empfehlung ausspricht, ob sie veröffentlicht werden kann (Peer-Review-Verfahren). Das Gutachten wird den Euch, den AutorInnen zugeschickt und Du erhältst gegebenenfalls die Möglichkeit, Hinweise des Fachgutachters einzuarbeiten.

Die Erfahrung zeigt, dass Arbeiten, die z. B. im Rahmen eines Wettbewerbs wie **Jugend forscht** die Endrunde erreicht haben, die besten Chancen haben, dieses Peer-Review-Verfahren zu bestehen.

Schließlich kommt die Arbeit in die Redaktion, wird für das Layout vorbereitet und als Open-Access-Beitrag veröffentlicht.

Was ist Dein Benefit?

Deine Forschungsarbeit ist nun in einer Gutachterzeitschrift (Peer-Review-Journal) veröffentlicht worden, d.h. Du kannst die Veröffentlichung in Deine wissenschaftliche Literaturliste aufnehmen. Deine Arbeit erhält als Open-Access-Veröffentlichung einen DOI (Data Object Identifier) und kann von entsprechenden Suchmaschinen (z. B. BASE) gefunden werden. MaC12

Richtlinien für Beiträge

PIB

FÜR DIE MEISTEN AUTOR/INN/EN IST DIES DIE ERSTE WISSENSCHAFTLICHE VERÖFFENTLICHUNG. DIE EINHALTUNG DER FOLGENDEN RICHTLINIEN HILFT ALLEN – DEN AUTOR/INNEN/EN UND DEM REDAKTIONSTEAM

Die Junge Wissenschaft veröffentlicht Originalbeiträge junger AutorInnen bis zum Alter von 23 Jahren.

- Die Beiträge können auf Deutsch oder Englisch verfasst sein und sollten nicht länger als 15 Seiten mit je 35 Zeilen sein. Hierbei sind Bilder, Grafiken und Tabellen mitgezählt. Anhänge werden nicht veröffentlicht. Deckblatt und Inhaltsverzeichnis zählen nicht mit.
- Formulieren Sie eine eingängige Überschrift, um bei der Leserschaft Interesse für Ihre Arbeit zu wecken, sowie eine wissenschaftliche Überschrift.
- Formulieren Sie eine kurze, leicht verständliche Zusammenfassung (maximal 400 Zeichen).
- Die Beiträge sollen in der üblichen Form gegliedert sein, d. h. Einleitung, Erläuterungen zur Durchführung der Arbeit sowie evtl. Überwindung von Schwierigkeiten, Ergebnisse, Schlussfolgerungen, Diskussion, Liste der zitierten Literatur. In der Einleitung sollte die Idee zu der Arbeit beschrieben und die Aufgabenstellung definiert werden. Außerdem sollte sie eine kurze bekannter, Darstellung schon ähnlicher Lösungsversuche enthalten (Stand der Literatur). Am Schluss des Beitrages kann ein Dank an Förderer der Arbeit, z. B. Lehrer und

Sponsoren, mit vollständigem Namen angefügt werden. Für die Leser kann ein Glossar mit den wichtigsten Fachausdrücken hilfreich sein.

- Bitte reichen Sie alle Bilder. Grafiken und Tabellen nummeriert und zusätzlich als eigene Dateien ein. Bitte geben Sie bei nicht selbst erstellten Bildern, Tabellen, Zeichnungen, Grafiken etc. die genauen und korrekten Quellenangaben an (siehe auch Erstveröffentlichungserklärung). Senden Sie Ihre Bilder als Originaldateien oder mit einer Auflösung von mindestens 300 dpi bei einer Größe von 10 x 15 cm! Bei Grafiken, die mit Excel erstellt wurden, reichen Sie bitte ebenfalls die Originaldatei mit ein.
- Vermeiden Sie aufwendige und lange Zahlentabellen.
- Formelzeichen nach DIN, ggf. IUPAC oder IUPAP verwenden. Gleichungen sind stets als Größengleichungen zu schreiben.
- Die Literaturliste steht am Ende der Arbeit. Alle Stellen erhalten eine Nummer und werden in eckigen Klammern zitiert (Beispiel: Wie in [12] dargestellt ...). Fußnoten sieht das Layout nicht vor.

- Reichen Sie Ihren Beitrag sowohl in ausgedruckter Form als auch als PDF ein. Für die weitere Bearbeitung und die Umsetzung in das Layout der Jungen Wissenschaft ist ein Word-Dokument mit möglichst wenig Formatierung erforderlich. (Sollte dies Schwierigkeiten bereiten, setzen Sie sich bitte mit uns in Verbindung, damit wir gemeinsam eine Lösung finden können.)
- Senden Sie mit dem Beitrag die Erstveröffentlichungserklärung ein. Diese beinhaltet im Wesentlichen, dass der Beitrag von dem/der angegebenen AutorIn stammt, Rechte Dritter verletzt keine werden und noch nicht an anderer Stelle veröffentlicht wurde (außer im Zusammenhang mit Jugend forscht oder einem vergleichbaren Wettbewerb). Ebenfalls ist zu versichern, dass alle von Ihnen verwendeten Bilder. Tabellen, Zeichnungen, Grafiken etc. von Ihnen veröffentlicht werden dürfen. also keine Rechte Dritter durch die Verwendung und Veröffentlichung verletzt werden. Entsprechendes Formular ist von der Homepage www.junge-wissenschaft.ptb.de herunterzuladen, auszudrucken, auszufüllen und dem gedruckten Beitrag unterschrieben beizulegen.
- Schließlich sind die genauen Anschriften der AutorInnen mit Telefonnummer und E-Mail-Adresse sowie Geburtsdaten und Fotografien (Auflösung 300 dpi bei einer Bildgröße von mindestens 10 x 15 cm) erforderlich.
- Neulingen im Publizieren werden als Vorbilder andere Publikationen, z. B. hier in der Jungen Wissenschaft, empfohlen.



Impressum

[JUNGE wissenschaft]

Junge Wissenschaft

c/o Physikalisch-Technische Bundesanstalt (PTB) www.junge-wissenschaft.ptb.de

Redaktion

Dr. Sabine Walter, Chefredaktion Junge Wissenschaft Paul-Ducros-Str. 7 30952 Ronnenberg E-Mail: sabine.walter@verlagjungewissenschaft.de Tel.: 05109 / 561 508

Verlag

Dr. Dr. Jens Simon, Pressesprecher der PTB Bundesallee 100 38116 Braunschweig E-Mail: jens.simon@ptb.de Tel.: 0531 / 592 3006 (Sekretariat der PTB-Pressestelle)

Design & Satz

Sabine Siems Agentur "proviele werbung" E-Mail: info@proviele-werbung.de Tel.: 05307 / 939 3350

Physikalisch Technische Bundese estell Bundesallee 100

doi: 10.7795/320.201806