

# Agar-Agar für Nährlösung

C0075



## Herstellung

Die Beschreibung stützt sich auf die Herstellung von 1 Liter Nährsubstrat, womit 25 Petrischalen (40ml) begossen werden können (Klassensatz)

Auf ½ Liter Wasser (Wassernetz) wird ½ Liter pasteurisierter Traubensaft dazu gegossen. Danach geben wir 40g Agar-Agar dazu und rühren unter leichtem Erwärmen so lange um, bis keine Klumpen mehr zu sehen sind! Jetzt geben wir noch 50g Glucose dazu und erwärmen, bis die Lösung kocht. Ca. 30 Minuten kochen lassen, bis die Lösung durchmischt ist. Wichtig ist, dass beim Kochvorgang alles Kohlendioxid ausgetrieben wird.

Danach giessen wir den noch flüssigen Agar-Agar (85-95°C) in Petrischalen um (40ml pro Schale), und lassen ihn erstarren. Bei Raumtemperatur dauert dieser Vorgang rund 30 Minuten. Den Deckel geben wir sofort wieder darauf, um zu verhindern, dass fremde Mikroorganismen einfallen. Nach weiteren 30 Minuten reinigen wir die Deckel vom Kondenswasser und drehen die Schalen um. Damit verhindern wir, dass das Kondenswasser auf das Substrat tropft.

Jetzt können die Böden beimpft werden.

## Informationen über Agar-Agar

Agar-Agar ist ein für mikrobiologisches Arbeiten sehr gut geeignetes Festigungsmittel für Nährböden. Es wird aus einer Rotalge, die an der asiatischen Küste vorkommt, gewonnen und besteht chemisch aus einem Gemisch verschiedener Kohlenhydrate. Mit Agar-Agar hergestellte Nährböden verflüssigen sich bei 85°C und werden bei 45°C wieder fest. Durch andere Zusätze zum oben beschriebenen Nährboden können entsprechend den unterschiedlichen Anforderungen, die verschiedensten speziellen Nährböden für die Kultur von Mikroorganismen hergestellt werden.

## Sterilisation und Lagerung von Nährböden

Kulturgefäße und Nährböden müssen sterilisiert werden, damit alle Mikroorganismen sicher beseitigt werden. Sterilisierte Nährböden, die kalt und dunkel gehalten werden, sind längere Zeit (2-4 Monate) lagerfähig. Während Nährböden, um das Eintrocknen zu verhindern, immer im Dampf sterilisiert werden, können Geräte, leere Petrischalen, Kulturröhrchen usw. auch in trockener Hitze, zum Beispiel im Trockenschrank oder in der Backröhre, in 2-3 Stunden bei 150-200°C keimfrei gemacht werden



## Keimzahlbestimmung mit einer Verdünnungsreihe

### 1. Ansatz

- Wir lösen 1g Backhefe in 1 Liter Wasser und rühren um, bis eine einheitliche Suspension entstanden ist.

### 2. Gruppenarbeit

#### a) Arbeitsgang

- Wir leeren 100ml der hergestellten Hefesuspension in den 250ml Mischzylinder und schütteln ihn kräftig durch.
- Bereitgestellte Zentrifugengläser von 1-5 nummerieren. Danach Nr. 1 mit Hefesuspension beschicken.
- Jetzt sterilisieren wir die 1ml Messpipette im kochenden Wasser und saugen 0,1ml der Suspension auf.
- Jetzt sterilisieren wir den Drigalski-Spatel im kochenden Wasser und stellen eine Agarplatte bereit.
- Agarplatte öffnen, mit Pipette 0,1ml darauf tropfen und mit Drigalskispatel auf der Fläche regelmässig verteilen.
- Platte sofort verschliessen und Deckel mit Verdünnungsgrad beschriften, z.B.: Nr. 1, 10 –4g (Rasenbildung)

#### b) Routineschleife

- 250ml Mischzylinder leeren und mit 100ml Leitungswasser füllen.
- RG Nr. 2 beschriften und mit neuer Suspension beschicken.
- Pipette und Drigalskispatel im kochenden Wasser sterilisieren.
- 0,1ml aus RG Nr. 2 entnehmen und auf 2. Agarplatte bringen, mit Drigalskispatel ausplattieren und verschliessen.
- Deckel mit Verdünnungsgrad beschriften, z.B.: Nr. 2, 10 –7g.
- Wir wiederholen die ganze Routine fünf Mal;
- dies ergibt die folgende Verdünnungsreihe: 10 –4g, 10 –7g, 10 –10g, 10 –13g, 10 –16g.

#### c) Weitere Möglichkeiten

- In wachsende Kolonien bringen wir verschiedene Metalle und deren Salze und können Hemmhöfe beobachten.
- Zauberschrift: abimpfen der 10 –4g Kultur mit Pinsel. Nach 2 Tagen lesbar.

### A) Material und Chemikalien:

- C0075 Agar-Agar, (wie oben) 100g
- L5910 Petrischale, Glas 100x20mm
- L6784 Petrischale, KS 100x20mm 20Stk.
- B150 Drigalskispatel, Metall 40mm
- ASS1049 Drigalskispatel, Glas
- L5450 Messpipette 1ml

### B) Literatur

- Heinz Werner Baer Biol. Versuche im Unterricht Aulis Verlag Deubner und Co., Köln ISBN 3-7614-0195-7
- Baer/Grönke Biologische Arbeitstechniken Aulis Verlag Deubner und Co., Köln ISBN 3-7614-0219-8
- Fritz Steinecke Rudolf Auge Experimentelle Biologie Quelle & Meier Verlag, Heidelberg ISBN 3-494-00377-7
- Hans-Joachim Bogen Gezähmt für die Zukunft Leistungen und Perspektiven der Biotechnik
- Knauer Verlag / Ex Libris Zürich

**Autor:** G. Rebsamen, Sekundarlehrer, 8583 Sulgen

