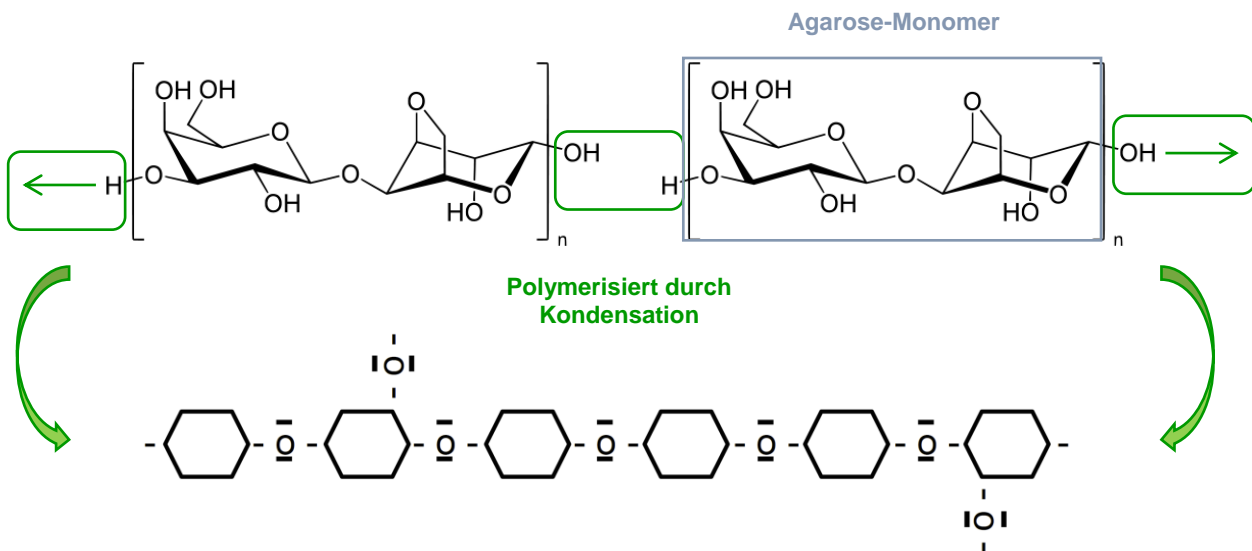


Warum geliert mein Agar nicht?

Agar-Agar

Agar-Agar ist eine Mischung aus Agarose-Polysacchariden (Agarose: Dimer aus D-Galactose und 3,6-Anhydro-L-galactose, siehe Abbildung) mit leichten Verunreinigungen aus den Algen, aus denen der Agar extrahiert wurde. Festigkeit erlangt Agar nach dem Schmelzen nicht durch Polymerisation, sondern ausschließlich durch das ‚Verknöten‘ der langen, fädigen Moleküle, während des Abkühlens (ab ca. $\leq 35\text{ }^{\circ}\text{C}$) – stabilisiert durch Wasserstoffbrücken, elektrostatische Anziehung und ähnliche schwache Wechselwirkungen.

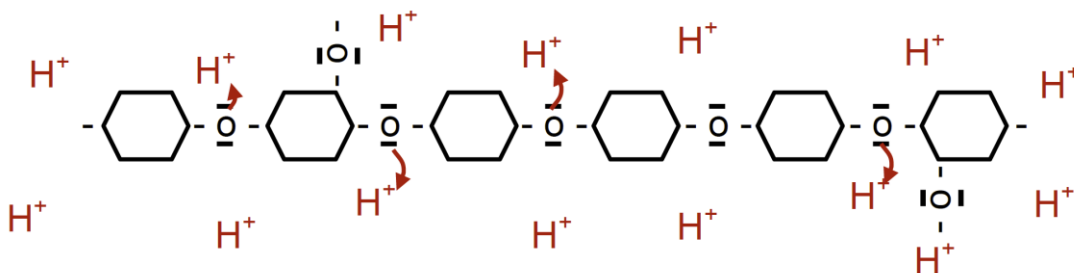


Unter Anwesenheit von Säure ...

... erfolgt eine saure Hydrolyse der Agarose-Polysaccharide (siehe Abbildung), es entsteht eine „Zuckerlösung“, die nicht mehr verfestigen kann. Dieser Effekt wird verstärkt durch

- a) Hitze beim Autoklavieren (Aktivierungsenergie), b) Anwesenheit von größeren Mengen Zucker.

Bei zuckerhaltigen Agarmischungen – die meist zur Kultivierung von Pilzen und Hefen verwendet werden und daher ebenfalls niedrige pH-Werte aufweisen – ergibt sich somit eine weichere Konsistenz bereits ab $\text{pH} \leq 6,0$. Durch die relativ hohe Chargenvariabilität des Naturproduktes Agar-Agar, agieren einzelne Agarchargen empfindlicher (weicher) als andere.





Guter Rat ist Roth.

Technische Info

Typischerweise tritt dieser Effekt bei folgenden Medien auf

Dichloran-Bengalrot-Agar (DRBC), Dichloran-Glycerin-Agar (DG18), Kartoffelextrakt-Glucose-Agar, Malzextrakt-Agar, MRS-Agar pH 5,7, Sabouraud-Agars, Würze-Agar

Selten bei folgenden Medien

Antibiotikamedium Nr. 23, Candida-Chromogener Agar, MRS-Agar, Orangenserumagar

Unsere Empfehlung, um diesen Effekt zu vermeiden

Da weder der pH-Wert signifikant geändert werden, noch der Zuckergehalt vermindert werden kann, sollte der Agar nur sehr vorsichtig erhitzt werden. Wir empfehlen, die Autoklaviertemperatur auf 115 °C, maximal 118 °C zu reduzieren. Die Sterilisationsphase (Autoklavierzeit) sollte auf 10 Minuten (max. 15) Minuten eingestellt werden, da durch die Aufwärm- und die Abkühlphase des Gerätes Zeit addiert werden kann.

Hintergrundwissen

Durch die feuchte Hitze unter Druck während des Autoklaviervorgangs können nicht nur lebende Bakterienzellen, sondern auch Bakteriensporen effizient abgetötet werden. Die Abtötungsrate ist dabei logarithmisch, die **Dezimalreduktionszeit (D)**, also das Zeitintervall t innerhalb dessen (bei definierter Temperatur) 90 % der Keime absterben (Reduktion um Faktor 10^1 , also auf 10^{-1}), ist für jede Bakterienart spezifisch.

In der Mikrobiologie gilt in der Regel das **6D-Konzept**, nach dem es Ziel der Sterilisation ist, die Zahl der lebenden Bakterien um den Faktor 10^6 (auf 10^{-6}) zu vermindern. Die Sterilisationszeit sollte damit das 6fache der Dezimalreduktionszeit ($6D_{Temp}$) betragen. Im Lebensmittel- und medizinischen Bereich gelten mindestens 12D-Konzepte, hier muss die Keimzahl auf 10^{-12} reduziert werden.

Vegetative Bakterien (*E. coli*, Enterobakterien etc.), sowie Hefen und Schimmelpilze haben in aller Regel sehr kleine D-Werte von teilweise deutlich unter 2 Minuten, bereits bei 65 °C (D_{65}), oder Sekunden bei 121 °C. Hitzeresistente Bakterien brauchen zur Sterilisation teilweise mehrere Stunden bei 121 °C, Prionen werden nur bei 134 °C / 60 Minuten zerstört.

Beispiele für Dezimalreduktionszeiten bei 121 °C

Bakterienstamm	D_{121} (Minuten)	$6D_{121}$ (Minuten)
<i>Bacillus subtilis</i>	0,4-0,8	2,4-4,8
<i>Bacillus cereus</i>	0,03-2,3	0,18-13,8
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	2-5	12-30
<i>Clostridium botulinum</i> A und B	0,1-0,2	0,6-1,2
<i>Clostridium sporogenes</i>	0,1-1,5	0,6-9
<i>Clostridium thermosaccharolyticum</i>	ca. 70	ca. 7 Std.
<i>Escherichia coli</i>	D_{65} - 6 sec.	D_{65} - 36 sec.

s.f. 02.2016

