

# Hvordan støpe agar i petriskåler.

Denne teksten er ment som inspirasjon for lærere på grunnskole- og videregående nivå og bør sees på som en liten «hvordan» i forhold til å støpe agar i petriskåler.

## Introduksjon og litt teori:

Det finnes mange forskjellige typer agar. Noen er selektive agar som det kan dyrkes svært spesifikke typer bakterier eller sopp på, og andre er mer "allsidige" agar. Før du velger agar kan det være lurt å undersøke hvilken type som passer best til mikroorganismene du ønsker å dyrke.

De to mest brukte agarene er kjøttpeptonagar og PCA-agar (PCA står for Plate Count Agar). Begge disse er ikke-selektive agarer, og du kan dyrke "alle" bakterier som ikke er anaerobisk (bakterier som vokser i oksygenfrie miljøer) eller virkelig spesielle, på dem.

Det er flere ulike produkter med agar. Mange er likevel litt usikker på hvordan en skal gå fram for blande agar eller å støpe den selv. Derfor kjøper mange ferdigstøpte petriskåler eller agarpølser. Agarpølsene er lette å bruke hvor du selv må kutte av en skive agar og legge det i en petriskål. Begge produktene er utmerkede løsninger på et blunk og har fordelen at de er raske å bruke.

Det er imidlertid penger å spare ved å støpe din egen agar i petriskåler, og det kan være en flott øvelse for elevene å prøve teknikken.

Det store problemet med å støpe agar selv er nedfallsforurensning – det vil si bakterier fra luften som faller ned på agaren mens du støper den og senere forårsaker utilsiktet vekst. I industrien støpes agar i sterile kamre med

overtrykk eller i lukkede systemer, men de fleste utdanningsinstitusjoner har ikke dette, så nedenfor beskrives et effektivt og enkelt alternativ.

## Materialer:

016610 Petriskål i plast Ø 90 mm, pk a 20/  
016590 Petriskål i plast Ø 60 mm, pk a 20  
800940 PCA - agar i flaske, 250 ml/ 800738  
Agar på flaske, kjøttpepton, 250 ml  
049610 Spatel 21 cm  
005210 Spritbrenner glass  
086048 Engangshansker nitril, large, pk a 100  
052005 Rund plastbalje på 8 liter  
058210 Termometer -16 til +110 °C  
Et rengjort bord i et tomt rom der vinduene er lukket

Hvis du vil bruke agarpulver i stedet for agar på flasker, må du blande pulveret med dem selv. vann som det står i oppskriften og kommer i flasker som kan autoklaveres. For dette formålet kan følgende brukes:  
800918 PCA-agar, pose til 250 ml eller 800718  
Agarpulver, kjøttpepton, til 250 ml  
054830 Standflaske Bluecap økonomi 500 ml.

## Forberedelse:

Ta på deg en hanske og plasser de lukkede petriskålene som skal støpes inn så nær bordkanten som mulig. Petriskålene skal stå med lokket opp på rad langs kanten av bordet. Dette gjør det enkelt å sette lokket av og på, og enkelt å helle agaren i. Bak hver 5-6 petriskål setter du en alkoholbrenner (hvis du ikke har alkoholbrennere, kan telys brukes).



### Smelting av agaren:

Det er generelt to måter agaren kan smeltes på; i vannbad eller i mikrobølgeovn.

#### *Vannbad*

Start med å løsne lokket på agarflasken en hel omdreining – dette gjøres slik at luften inne i flasken kan slippe ut når den utvider seg under oppvarming. Legg flaskene i en gryte eller vannbad med vann og varm opp vannet. Vannet skal gå til rett under nakken eller der tettheten til flasken fortsatt er høyere enn tettheten til vannet, slik at flaskene ikke velter. Vannet varmes opp til mellom 65 – 85 °C. Flaskene tas ut av og til og væsken virvles rundt. Ikke åpne lokket eller rist flasken. Du fortsetter å varme opp til agaren er helt smeltet og klar til å helles i petriskåler. Agaren er fullstendig smeltet når væsken er helt klar og det ses ingen uklarheter eller klumper i væsken.

#### *Mikrobølgeovn*

Fjern metallokket og metallringen med en tang. IKKE legg metall i mikrobølgeovnen. Ta den rene og helst desinfiserte metallspatelen og sett den inn i agaren. Kjør spatelen rundt agaren slik at den hakkes i mindre biter. Dette gjøres for å fremme varmfordeling og forhindre støtkoking.

Sett flaskene i mikrobølgeovnen og slå den på med maksimal effekt i ca. 90 sek. Ta dem ut og virvle innholdet rundt. Sett flaskene tilbake i mikrobølgeovnen og gi dem ytterligere 60 sekunder, hvoretter de tas ut igjen og væsken virvles rundt.

Du fortsetter dette til agaren er helt smeltet og klar til å helles i petriskåler. Agaren er helt smeltet når væsken er helt klar og det ses ingen uklarheter eller klumper i væsken.

**Kjøling.** Så snart agaren er helt smeltet, skal den avkjøles til 60 °C, fordi en altfor varm agar kan ødelegge petriskålen. Den enkleste måten

å kjøle ned på er i et vannbad fylt med kaldt vann fra springen der flaskene settes i. Ta på korken før du setter agarflaskene til avkjøling i vannbadet.

Det er relativt raskt å avkjøle agaren til 60 °C. Sjekk temperaturen i flaskene med et desinfisert termometer. Når temperaturen er 60 °C, må du skynde deg å helle agaren på petriskålene før den stivner igjen. Hvis dette skjer, kan du smelte agaren på nytt.

Tenn spritbrennerne før dere støper agaren.

### Støpning av agar i petriskåler:

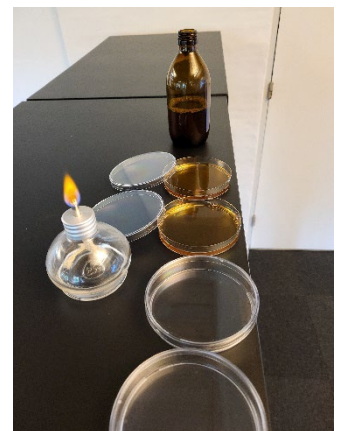
Skrut av lokket fra agarflasken og ta det over til raden med petriskåler som er tilberedt. Løft lokket av den første petriskålen på raden, hold den i den ene hånden og hell agar i petriskålen med den andre. På noen petriskåler er det en markering som du fyller skålen med agar til. En flaske agar på 250 ml. gir vanligvis 10 fylte petriskåler.

Hvis det er ungdomsskoleelever som skal jobbe med agaren kan det være en idé å gjøre laget litt tykkere siden agaren kan bli gjennomboret fordi elevenes finmotorikk ikke er helt på topp.

En god tommelfingerregel er å helle agar i petriskålen til bunnen er dekket og deretter gå videre til neste skål.

Legg lokket på kanten. Så snart du har helt agar i bunnen av petriskålen, legger du lokket delvis over bunnen, men slik at kanten av lokket bare hviler på kanten av bunnen. På den måten er det raskt å sette på lokket når agaren er herdet og avkjølt.

Grunnen til at du ikke legger lokket helt på en petriskål med varm agar er at det gir mye



kondens i skålen, det er ikke ideelt når bakterier skal dyrkes på agaren senere.

Du fortsetter nå nedover raden med petriskåler til du har fylt petriskålene du trenger (pluss noen ekstra). Så lar du det hele stå til agaren har stivnet.



Alkoholbrennerne må forbli tent gjennom hele prosessen. Varmen fra forbrenningen skaper en sone med stigende varm luft. Den stigende luften forhindrer nedfall av bakterier på de åpne petriskålene og kan i stor grad holde agar fri for forurensningen. Det er enkelt og effektivt.

Sett lokket nesten på. Når agaren har stivnet, legger du lokket nesten på petriskålen. Du lar bare lokket hvile på motsatt kant av bunnen, slik at bollen nå er nesten lukket. Den lille åpningen tillater fordampning av den siste kondensen og reduserer forurensningen av agar.



## Lagring.

Når agaren er avkjølt til romtemperatur settes lokkene helt på petriskålene. De kan da stables og kan legges i posen de tomme petriskålene var i. Lukk posen med litt tape og skriv datoen på den. Rullene med støpt agar kan enten brukes umiddelbart eller oppbevares i kjøleskapet.

All lagring og senere inkubasjon i et varmeskap eller annet foregår vanligvis opp ned – igjen for å forhindre kondens på agaren. Unntak fra oppbevaring av støpt agar opp ned er antibiotikaresistensforsøk, hvor det er antibiotikatabletter på agaren – tablettene vil falle av agaren hvis de ikke legges med bunnen ned



Støpt agar kan vare 10-14 dager i kjøleskapet fra produksjonsdatoen. Hvis det ikke er forurensning på agaren på det tidspunktet, kan den fortsatt brukes.