

# Preparazione del terreno **LB solido**

**Obiettivo** Preparare il terreno LB in forma solida  
per la crescita di batteri in piastra.

**Autore** Assunta Croce, PhD



# Materiali e reagenti

- Estratto di lievito in polvere
- Triptone in polvere
- NaCl in polvere
- Soluzione di NaOH 5N
- Agar
- Acqua deionizzata
- Cilindro da 1L
- Becher da 1L
- Bottiglia da 1L resistente al calore
- Spatola
- Scotch da autoclave
- Pennarello
- Piastre Petri in plastica sterili monouso da 90 mm



## Strumenti

- Bilancia
- Autoclave
- pHmetro



## Sicurezza

- Camice
- Guanti
- Guanti per il calore



## Tempo

Circa due ore (compresa la sterilizzazione del terreno in autoclave e la solidificazione delle piastre)



# Procedimento

- 1.** Per preparare 1L di terreno LB, pesare rispettivamente 10 g di triptone, 5 g di estratto di lievito e 10 g di NaCl e trasferirli nel becher da 1L.
- 2.** Prelevare, con un cilindro da 1L, 900 ml di acqua deionizzata e trasferirli nel becher. Mescolare.
- 3.** Aggiustare il pH a 7.0, aggiungendo goccia a goccia una soluzione 5N di NaOH.
- 4.** Aggiungere 10 g di agar in polvere e portare il volume a 1L, aggiungendo acqua deionizzata.
- 5.** Trasferire il terreno LB in una bottiglia da 1L resistente al calore, precedentemente marcata con scotch da autoclave con la dicitura "LB terreno solido" e la data di preparazione.
- 6.** Sterilizzare il terreno, ponendo la bottiglia in autoclave a 121°C per 15 minuti. Assicurarsi che il tappo non sia chiuso ermeticamente.
- 7.** Al termine del processo di sterilizzazione, raffreddare il terreno. Quando la temperatura è intorno ai 50°C e la bottiglia può essere maneggiata senza scottarsi, è possibile colare il terreno nelle piastre Petri.
- 8.** Considerando che per ogni piastra da 90 mm serviranno circa 20-25 ml di terreno, con 1L di terreno si prepareranno circa 40-50 piastre.
- 9.** Lasciare raffreddare le piastre con il coperchio semichiuso per permettere la solidificazione dell'agar.
- 10.** Quando l'agar sarà completamente solidificato, chiudere le piastre e conservarle a 4°C.

## Note

- *Se al terreno LB devono essere aggiunti antibiotici specifici, per esempio per far crescere solo i batteri resistenti, provvedere all'aggiunta dell'antibiotico al punto 7 dopo la sterilizzazione e prima di aver colato le piastre.*