

Preparazione del terreno **LB liquido**

Obiettivo Preparare il terreno LB in forma liquida
per la crescita di batteri.

Autore Assunta Croce, PhD



Materiali e reagenti

- Estratto di lievito in polvere
- Triptone in polvere
- NaCl in polvere
- Soluzione di NaOH 5N
- Acqua deionizzata
- Cilindro da 1L
- Becher da 1L
- Bottiglia da 1L resistente al calore
- Spatola
- Scotch da autoclave
- Pennarello



Strumenti

- Bilancia
- Autoclave
- pHmetro



Sicurezza

- Camice
- Guanti
- Guanti per il calore



Tempo

Circa un'ora (compresa la sterilizzazione del terreno in autoclave)



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.** Quando le polveri saranno sciolte e il pH corretto, 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 liquido" 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 e conservarlo a 4°C.

Note

- Il terreno LB è un terreno che consente la crescita di diversi tipi di batteri: prima del suo utilizzo occorre riportare la temperatura a quella ambiente per impedire shock termici nei batteri inoculati.
- Se al terreno LB devono essere aggiunti antibiotici specifici, per esempio per far crescere solo i batteri resistenti, provvedere all'aggiunta dell'antibiotico quando il terreno è a temperatura ambiente.
- Prima di utilizzare il terreno LB, verificare che non sia inquinato dalla crescita di batteri o muffe, agitando il terreno e osservando la bottiglia in trasparenza: il terreno deve risultare limpido.