



TERRENI DI COLTURA

9 - Modified version of ATCC 197 medium (TN)

Componenti	Concentrazione (g/L)
NaCl	10
KCl	0.1
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.2
NH ₄ Cl ₂	1
K ₂ HPO ₄	0.3
KH ₂ PO ₄	0.3
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.1
Cisteina-HCl	1
Estratto di lievito	2
Tryptone	2
Glucosio (soluzione stock)	5
Resazurina (soluzione stock)	0.001
Soluzione di vitamine * (soluzione stock)	
Soluzione di elementi in traccia** (soluzione stock)	

PROCEDURA:

Preparare le seguenti soluzioni stock in H₂O distillata:

- Glucosio 50%
- Resazurina 0.2%
- Soluzione di vitamine *

- Soluzione di elementi in traccia **

* Per preparare la soluzione di vitamine, sciogliere i seguenti componenti: acido p-aminobenzoico 5mg/L; acido nicotinico 5mg/L; D-Ca-pantenato 5mg/L; piridossina-HCl 10mg/L; riboflavina 5mg/L; tiamina-HCl · 2H₂O 5mg/L; biotina 2mg/L; acido folico 2mg/L; acido lipoico 5mg/L; vitamina B₁₂ 0.10mg/L. Portare a volume (1L) e sterilizzare per filtrazione (pori 0,22 µM).

** Per preparare la soluzione di elementi in traccia, sciogliere prima l'acido nitrotriacetico (1,5 g/L), regolare il pH a 6,5 con KOH, quindi aggiungere i seguenti componenti: MgSO₄ · 2H₂O 0,5 g/L, NaCl 1 g/L, FeSO₄ · 7H₂O 0,10 g/L, CoSO₄ · 7H₂O 0,18 g/L, CaCl₂ · 2H₂O 0,10 g/L, ZnSO₄ · 7H₂O 0,18 g/L, CuSO₄ · 7H₂O 0,010 g/L, KAl(SO₄)₂ · 12H₂O 0,020 g/L, H₃BO₄ 0,010 g/L, Na₂MoO₄ · 2H₂O 0,010 g/L, NiCl₂ · 6H₂O 0,025 g/L, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0,010 g/L. Portare a volume (1L), regolare il pH finale a 7,0 con NaOH e autoclavare a 121 °C per 20 minuti.

Sciogliere le quantità di ciascun componente elencato nella tabella, ad eccezione del glucosio, della resazurina e delle soluzioni di vitamine e di elementi in traccia, nel volume appropriato di H₂O distillata, tenendo conto del volume degli altri componenti, preparati come soluzioni stock, che devono essere aggiunti dopo la sterilizzazione. Prima della sterilizzazione, regolare il pH a 7,0 con NaOH 1M. Autoclavare la miscela sciolta a 121 °C per 20 minuti. Dopo la sterilizzazione, aggiungere il glucosio, la resazurina e le soluzioni di vitamine (10 ml/L) e di elementi in traccia (10 ml/L).