

Príprava stuženého živného média (agar – Bristol medium)

Potrebný materiál

- zásobné roztoky **A, B, C, Fe-EDTA**
- **agarový prášok**
- **destilovaná voda**
- odmerná banka
- kadička
- magnetická miešačka alebo sklenená tyčinka
- varná platňa
- Petriho misky
- sterilný box / laminárny box

Postup

1. Sterilizácia laboratórneho skla

Pred začiatkom práce sterilizujte všetko laboratórne sklo, ktoré bude použité pri príprave média.

- sterilizácia v sušiarňi
200 °C počas 2 hodín

2. Príprava živného roztoku

Do odmernej banky nalejte malé množstvo **destilovanej vody**.

Postupne pridajte požadované množstvá zásobných roztokov:

- roztok **A**
- roztok **B**
- roztok **C**
- **Fe-EDTA**

Množstvá sa odmeriavajú podľa **počtu Petriho misiek** (podľa tabuľky Bristol media).

Tab. 1 Živná pôda – Bristol medium [11]

počet Petriho misiek	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Ø A [ml]	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ø B [ml]	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ø C [ml]	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Ø Fe-edta [ml]	0,025	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5
agar [g]	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Celkový objem [ml]	50	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000

3. Doplnenie objemu

Roztok doplňte **destilovanou vodou na požadovaný objem** (napr. 500 ml alebo 1000 ml).

Roztok premiešajte.

4. Pridanie agaru

Do pripraveného roztoku pridajte **naváženy agar**.

Štandardná koncentrácia:

20 g agaru na 1 liter média (2 % agar)

Príklady:

- 500 ml média → **10 g agaru**
- 200 ml média → **4 g agaru**

5. Rozpustenie agaru

Roztok prelejte do **kadičky** a zahrievajte na varnej platni za stáleho miešania.

Roztok:

- privedte k **miernemu varu**
- varte **15 – 25 minút**

kým sa agar úplne nerozpustí a roztok nezačne mierne hustnúť.

6. Sterilná príprava Petriho misiek

Pred nalievaním média:

- vydezinfikujte pracovnú plochu
- zapnite **sterilný / laminárny box**
- rozložte **sterilné Petriho misky**

7. Nalievanie agaru

Ešte **horúce médium** nalejte do Petriho misiek.

Objem:

cca 50 ml na jednu Petriho miskú (Ø 10 cm)

Pri nalievaní dodržujte **aseptické podmienky**.

8. Tuhnutie média

Agar nechajte **stuhnúť v sterilnom boxe**.

Čas tuhnutia:

20 – 25 minút

9. Skladovanie

Po stuhnutí:

- Petriho misky **označte**
- otočte **dnom hore**
- skladujte v **chladničke**