

# Preparación de medios en tubo.

Pasos a seguir.

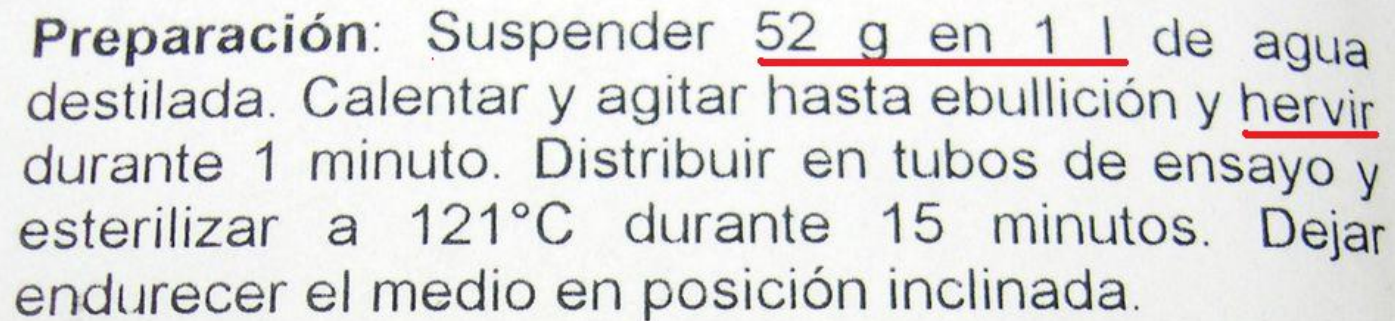
## Cómo calcular el volumen de medio a preparar.

1. Es necesario saber el volumen a añadir a cada tubo o placa.
  - Volumen a añadir en las placas: **De 15 a 20 ml de medio por placa.**
  - Volumen añadir en los tubos: Depende del diámetro y tamaño de los tubos. En general se suelen añadir entre **5 y 8 ml por tubo.**
2. Multiplicar por el número de tubos o placas a preparar.



## Cálculo de la cantidad de polvo liofilizado a pesar.

Lee las instrucciones de preparación del medio que vienen en la etiqueta. Recuerda que las cantidades que se indican son las necesarias para preparar 1 litro de ese medio de cultivo.



**Preparación:** Suspender 52 g en 1 l de agua destilada. Calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. Distribuir en tubos de ensayo y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Dejar endurecer el medio en posición inclinada.

Es conveniente preparar algo más del volumen que se necesita. Por ejemplo, si tenemos que preparar 250 ml de medio, haremos los cálculos para 300ml, esto evitará que nos quedemos cortos cuando hagamos la distribución final.

**Pesa en la balanza la cantidad de medio deshidratado calculada.**



## Hidratación.

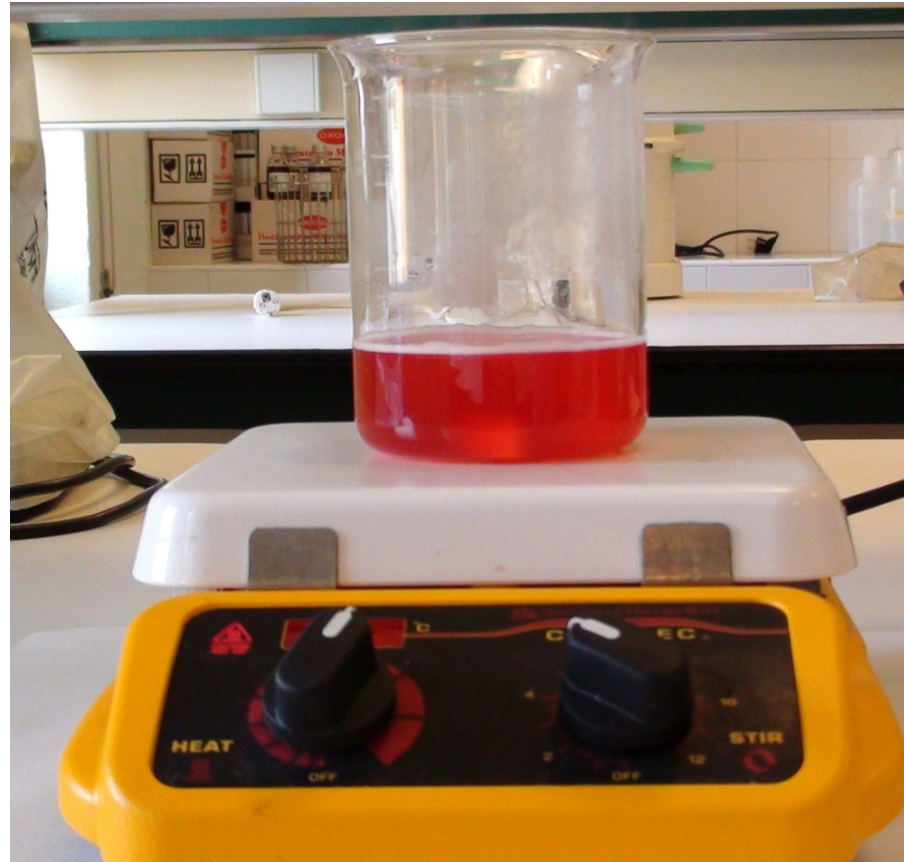
1. Prepara en una probeta el volumen de agua necesario.
2. Coloca el agua en un vaso de precipitados.
3. Añade el polvo deshidratado sobre el agua.

**No inviertas el orden en la mezcla , se formarán grumos que retrasarán la preparación.**



## Homogenización.

- Agita para mezclar bien el polvo deshidratado y el agua.
- En el caso de que el medio contenga agar, este es insoluble en agua por lo que es **necesario aplicar calor para que se funda** y la homogenización sea completa.



## Prepara la batería de tubos que vas a utilizar.



Escoge tubos del mismo diámetro.

Antes de empezar prepara un **tubo patrón con agua** que contenga un volumen similar al que quieres poner de medio en los tubos.

Este tubo nos indicará la altura hasta la que deberemos llenar el resto de los tubos con el medio preparado.

## Llenado de tubos.



Utilizando un embudo llena los tubos con el medio aproximadamente hasta la misma altura.

**RECUERDA** : Nunca debes llenar más de las dos terceras partes del tubo.



## Prepara el material para su esterilización en el autoclave.



### **RECUERDA:**

- Los tapones de los tubos (si son de rosca) deben estar flojos. Sino el contenido del tubo no se esterilizará.
- Debes colocar los controles de esterilización adecuados.

## En el caso de la preparación de slants



Una vez terminado el autoclavado, coloca los tubos **en la cabina de flujo laminar en posición inclinada** para que se cree la superficie de siembra.

- Una vez preparada la batería y cuando los tubos se hayan enfriado almacénelos a la temperatura adecuada.
- La mayoría de los medios de cultivo se guardan refrigerados a 4 °C si no se van a utilizar en el momento.
- **RECUERDA:** Rotular los tubos indicando:
  - Nombre del medio
  - Fecha de preparación.