

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROJETO DESPERTANDO PARA A CIÊNCIA

AULA PRÁTICA DE MICROBIOLOGIA

Contagem de bactérias lácticas no leite fermentado

Prof^a. Dr^a: Mareci Mendes de Almeida

Aline Oksana Sikorski

Joana Darques Marques

ATIVIDADE PRÁTICA

Procedimentos e cálculos

- Preparar o Agar MRS
- Verificar a quantidade definida pelo fabricante (63,7g por L) e calcular por regra de três a quantidade necessária para preparar 150 mL.
- Diluir em água destilada sob aquecimento até total diluição.
- Para cada placa utiliza-se em média 20 mL de meio por placa.
- Água peptonada a 0,1%
- Verificar a quantidade definida pelo fabricante e calcular por regra de três a quantidade necessária para 225 mL (para a diluição 10^{-1}) e 9 mL em 10 tubos (para outras diluições) totalizando 315 mL.

Esterilização dos materiais

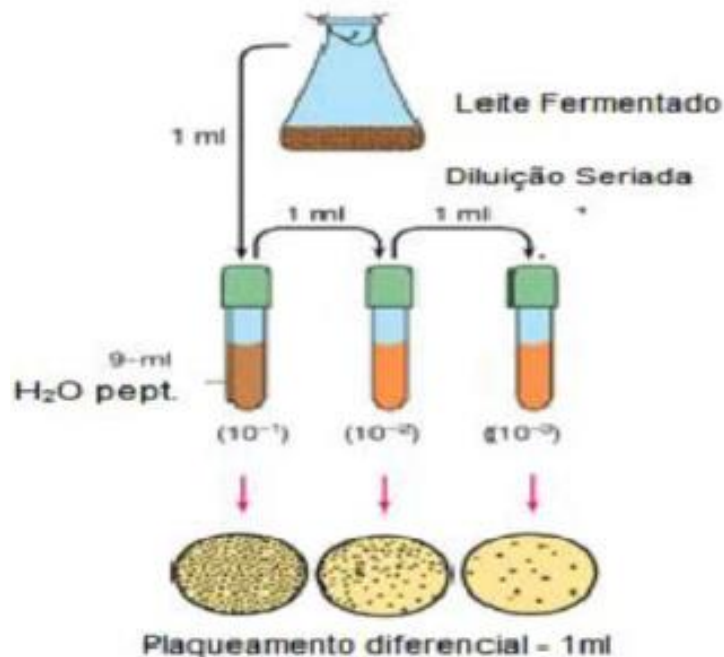
Embalar as vidrarias, colocar na autoclave por 15 minutos a 121°C , materiais limpos, (para materiais considerados “sujos” ou contaminados, colocar na autoclave por 20 minutos a 121°C , é necessário ter um cuidado maior para que não ocorra a contaminação da autoclave).

Bico de Bunsen

Para maior segurança da amostra e dos materiais estéreis é fundamental manter a uma distância máxima de 15 cm do bico de bunsen, evita a contaminação dos materiais e da amostra.

Diluições

- Pipetar 9 mL de água peptonada em cada tubo, adicionar 25 mL da amostra na diluição (10^{-1}) para as seguintes diluições:
- Retirar 1 mL da diluição (10^{-1}), colocar no tubo (10^{-2}), agitar e retirar 1 mL do tubo (10^{-2}) e colocar no tubo (10^{-3}) conforme a figura, e assim por diante até 10^{-8} :



Plaqueamento

Utilizar as 3 últimas diluições, colocar 1 mL da amostra nas placas e colocar o 20 mL Agar realizar movimentos em forma de oito.

Deixar esfriar o Agar próximo ao bico de bunsen, com a placa aberta.

Encubar

Fechar as placas colocar na estufa invertidas em uma temperatura de 30 °C, por 24 a 48 horas.

Contagem

- Após este período retirar da estufa e realizar a contagem das placas.
- Esta contagem é realizada pelo número de colônias conforme a diluição da placa.
- Número de colônias em cada placa da mesma diluição dividida pelo número de placas, multiplicadas pela diluição.