

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

**AULA PRÁTICA DE MICROBIOLOGIA**

Preparo de meios de cultura

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>: Mareci Mendes de Almeida

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>: Nelci Catarina Chiquetto

Antônio Celso de Oliveira

Elizane Verônica dos Santos

Tayna Carraro

### **Materiais:**

- Tubos de ensaio;
- Becker;
- Erlenmeyer;
- Provetas;
- Pipetas;
- Balança analítica;
- pHmetro;
- Fogão;
- Autoclave;

### **Preparo do meio de cultura Ágar Batata.**

Inicialmente deve-se cortar as batatas (200g) em pequenos cubos; em uma panela adicionar 0,5 L de água. Levar ao fogo por 30 minutos até fervura.

Em seguida, deve-se filtrar (filtração simples) a batata cozida tomando em conta o aproveitamento das frações que podem ser perdidas na filtragem.

Em um Becker, adicionar o filtrado de batata e completar o volume para 1000 mL com água destilada.

Adiciona-se em seguida 10 g de maltose, aferindo-se o pH. Em seguida, acrescenta-se o ágar (15 g) até solubilização em aquecimento.

Fraciona-se em tubos de ensaio e esteriliza em autoclave por 20 minutos a temperatura de 120°C sob pressão de 1 atm. Após esta etapa, retira-se da autoclave os tubos de ensaio contendo o meio Ágar-Batata (os tubos de ensaio deverão ser inclinados para que haja solidificação do meio).

### **Preparo do meio PDA (Potato-Dextrose-Ágar)**

Deve-se preparar o meio de acordo com as especificações do fabricante, visto ser um meio de cultura pronto.

- Especificações:

39g de PDA / 1000 mL de água.

Proporção Infusão de batata/Dextrose/Ágar de 4g/20g/15g

Deve-se misturar em um béquer a quantidade de 39 g do meio PDA em um volume de  $\frac{3}{4}$  do béquer em questão, ou seja, 750 mL de água. Aquece para que haja a solubilização do meio.

Fracionar em tubos de ensaio e esterilizar em autoclave por 20 minutos a 120°C sob pressão de 1 atm. Após retirar os tubos da autoclave, os mesmos devem ser inclinados para que haja solidificação do meio.

### **Preparo do meio de cultura Ágar-manitol**

Deve-se preparar o meio de acordo com as especificações do fabricante, visto ser um meio de cultura pronto.

- Especificações:

27,8 g de Ágar-manitol / 1000 mL de água.

Deve-se misturar em um Erlenmeyer a quantidade de 27,8 g do meio em um volume de  $\frac{3}{4}$  do Erlenmeyer em questão, ou seja, 750 mL de água. Aquece para que haja a solubilização do meio.

Esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°C sob pressão de 1 atm. Após retirar da autoclave, deve-se distribuir o meio ainda quente em placas de Petri (antes de sua solidificação).

**Indicação:** Para cultivo de qualquer micro-organismo (Gram +).

### **Preparo do meio de cultura Ágar-CLED (*cystine lactose electrolyte deficiente*)**

Deve-se preparar o meio de acordo com as especificações do fabricante, visto ser um meio de cultura pronto.

- Especificações:

36 g de Ágar-manitol / 1000 mL de água.

Deve-se misturar em um Erlenmeyer a quantidade de 36 g do meio em um volume de  $\frac{3}{4}$  do Erlenmeyer em questão, ou seja, 750 mL de água. Aquece para que haja a solubilização do meio. Verifica-se o pH entre  $7,3 \pm 0,2$ .

Esterilizar em autoclave por 15 minutos a  $121^{\circ}\text{C}$  sob pressão de 1 atm. Após retirar da autoclave, deve-se distribuir o meio ainda quente em placas de Petri (antes de sua solidificação).

**Indicação:** Para isolamento, enumeração e identificação de micro-organismos e indicar a fermentação de lactose. Isolar e quantificar microrganismos Gram positivos, Gram negativos e leveduras.

(Cor natural do meio: verde)

**Resultado:**

Amarelo (LAC +) – fermenta lactose

Verde (LAC -) – não fermenta lactose

### **Preparo do meio de cultura Ágar-BHI (*brain heart infusion*)**

Deve-se preparar o meio de acordo com as especificações do fabricante, visto ser um meio de cultura pronto.

- Especificações:

52 g de *Brain Heart Ágar* / 1000 mL de água.

Deve-se misturar em um Erlenmeyer a quantidade de 52 g do meio em um volume de  $\frac{3}{4}$  do Erlenmeyer em questão, ou seja, 750 mL de água. Aquece para que haja a solubilização do meio. Fraciona-se em garrafas meia rosca.

Esterilizar em autoclave em garrafas meia rosca por 15 minutos a 121°C sob pressão de 1 atm. Após retirar da autoclave, deve-se distribuir o meio ainda quente em placas de Petri (antes de sua solidificação).

Utilização: É um meio de cultivo para *Streptococcus*; *Pneumococcus*; *Meningococcus*; enterobactérias; micro-organismos não fermentadores; leveduras; fungos.