

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

**OFICINA DE MICROBIOLOGIA**

Contagem de bactérias lácticas no leite fermentado

Joana Darque Marques  
Aline Oksana Sikorski  
Profa. Dra. Mareci Mendes de Almeida

## ATIVIDADE PRÁTICA

### Procedimentos e cálculos

- Preparar o Agar MRS
- Olhar 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%
- Olhar 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

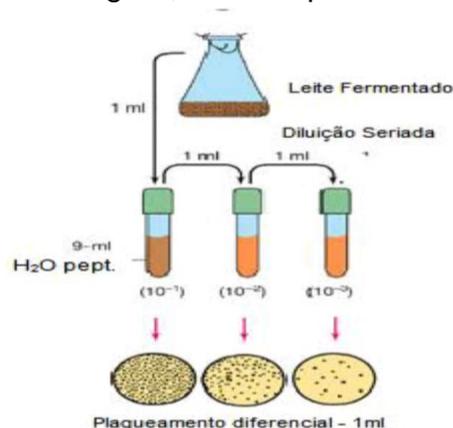
- Embalar as vidrarias, colocar na autoclave por 15 minutos a  $121^{\circ}\text{C}$ , materiais limpos, (para materiais considerados “sujos” ou contaminados, colocar na autoclave por 20 minutos a  $121^{\circ}\text{C}$ , é necessário ter um cuidado maior para que não ocorra a contaminação da autoclave).

### 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 25ml 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 1ml 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 1mL da amostra nas placas e colocar o 20mL 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  $30^{\circ}\text{C}$ , 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.

Como exemplo:

Houve contagem de duas colônias na placa a  $10^{-7}$  o resultado é considerado  $2 \times 10^7$  UFC/ml.