



AGENTES FÍSICOS NO CONTROLE DO CRESCIMENTO DE CÉLULAS BACTERIANAS

1- INTRODUÇÃO

Diversas condições físicas inibem ou interrompem o crescimento dos microrganismos. O mais comumente utilizado é o calor úmido que desnaturam e coagulam as proteínas, em especial as enzimas. Entretanto a desnaturação das proteínas é dependente da temperatura e do tempo adequado. Outro método bastante utilizado é a radiação ultravioleta (UV), com comprimento de onda de 100 a 400nm, causando modificações das ligações covalentes do DNA, interferindo no pareamento normal das bases e impedindo a atividade da DNA polimerase, conseqüentemente provocando mutação. Devido a esse efeito é utilizado como um método esterilizante de superfície. A radiação UV apresenta baixo poder de penetração e não atravessa vidros, tecidos e papel.

2- OBJETIVOS

Verificar o efeito de diferentes temperaturas e condições no controle de bactéria em meio líquido.

Verificar a ação da radiação ultravioleta no controle do crescimento de bactérias em meio sólido.

3- MATERIAL E EQUIPAMENTOS

Material

- Tubos com caldo nutritivo inoculado com células bacterianas (*E. coli*)
- Cinco tubos de ensaio com 3,0 mL de caldo nutritivo

Equipamentos

- | | |
|------------------------|---|
| ➤ Autoclave | ➤ Pipetas |
| ➤ Termômetro | ➤ Lâmpada ultravioleta |
| ➤ Estufas | ➤ Cultura de bactéria em meio de cultura caldo nutriente e cultivada a 30 °C, por 24 horas. |
| ➤ Banho de aquecimento | |
| ➤ Alça de Drigalski; | |
| ➤ Paquímetro | |



Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050

3- PROCEDIMENTO

4.1. EFEITO DA TEMPERATURA NO CRESCIMENTO MICROBIANO

Em condições assépticas, inocular 0,1 mL da cultura de células bacterianas em cada tubo de ensaio com de caldo nutritivo.

TUBO 1- Aquecimento a 60° C por 30 minutos em banho termostato.

TUBO 2- Aquecimento a 100°C por 30 minutos em banho termostato.

TUBO 3 – Aquecimento a 100°C por 30 minutos em estufa seca.

TUBO 4 – Aquecimento a 60°C por 30 minutos em estufa seca.

TUBO 5 – Autoclave

1. Após os tratamentos térmicos, incubar os tubos a 37 °C em estufa durante 48 horas

4.2. EFETIO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NO CRESCIMENTO MICROBIANO

1. Fazer um risco no fundo da placa dividindo-a em dois. Inocular 0,1mL da cultura de células bacterianas em o meio Agar Triptona-NaCl.
2. Tirar a tampa no fluxo e cobrir metade da placa com papel alumínio e expor a radiação ultravioleta por 15 minutos.
3. Incubar a placa em estufa a 37°C por 24-48 horas.
4. Analisar os resultados do crescimento microbiano nos dois lados da placa.

RESULTADOS:

Analisar o crescimento tubos dos comparando a intensidade do crescimento por turbidez do meio de cultura. Anotar no quadro os resultados obtidos.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena - EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050

Tubo/placa	Tratamento	Crescimento
1	60°C - banho	
2	100°C - banho	
3	60°C - estufa	
4	100°C - estufa	
5	Autoclave	
Placa exposição UV	15 min - UV	

- + Crescimento escasso
- ++ Crescimento regular
- +++ Crescimento bom
- ++++ Crescimento abundante