



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena –EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia da Teoria à Prática - LOT 2053
Profa. Tatiane da Franca Silva

AULA 2- ISOLAMENTO E CULTIVO DE MICRORGANISMOS

ROTEIRO 1: PREPARO DE MEIO DE CULTURA

1- INTRODUÇÃO

O meio de cultura é uma preparação sólida, semi sólida ou líquida de nutrientes utilizada em laboratório para o cultivo de microrganismos. A composição do meio deve ser semelhante ao substrato natural do microrganismo e deve proporcionar os nutrientes necessários para seu desenvolvimento.

2 -OBJETIVOS

Preparo adequado de meio de cultura contendo as exigências nutricionais para cada grupo de microrganismos.

3- MATERIAL E EQUIPAMENTO

Material

- | | |
|------------------|-----------------------------------|
| ➤ Espátula | ➤ Água destilada |
| ➤ Papel alumínio | ➤ Extrato de Carne |
| ➤ Erlenmeyer | ➤ Peptona |
| ➤ Tubos | ➤ Cloreto de Sódio |
| ➤ Placas | ➤ Extrato de levedura |
| ➤ Béquer | ➤ Glicose |
| | ➤ K ₂ HPO ₄ |

Equipamento

- Balança
- pH metro
- Autoclave



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena –EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia da Teoria à Prática - LOT 2053
Profa. Tatiane da Franca Silva

4- PROCEDIMENTO

4.1- PREPARO DA SOLUÇÃO SALINA

1. Preparar 130 mL de Solução Salina (1% NaCl)
2. Distribuir 90 mL na garrafa diluição e 18 mL em cada um dos dois tubos de ensaio.
3. Identificar o material

4.2- PREPARO DO MEIO DE CULTURA PARA O CULTIVO DE BACTÉRIAS AERÓBIAS

COMPOSIÇÃO DO CALDO NUTRIENTE

Extrato carne	3,0
Peptona	5,0
Cloreto de Sódio	1,0 g/L

4. Calcular a massa a ser pesada para cada componente do meio Caldo Nutriente para o volume final de 100 mL
5. Pesar os componentes e transferir para um erlenmeyer.
6. Adicionar 80 mL de água destilada.
7. Homogeneizar para a completa dissolução dos insumos.
8. Ajustar o pH do meio para **6,8 - 7,0**.
9. Medir em uma proveta o volume do meio. Caso necessário, completar com água destilada.
10. Distribuir 3,0 mL do meio em 3 tubos de ensaio. Identificar o material.
11. O saldo restante será utilizado na preparação do meio Agar Nutriente.

4.3- PREPARO DO MEIO AGAR NUTRIENTE PARA BACTÉRIA



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena –EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia da Teoria à Prática - LOT 2053
Profa. Tatiane da Franca Silva

1. Adicionar o Ágar na concentração final de **20g/L** no Erlenmeyer com o restante do meio de cultura e homogeneizar. Identificar o nome do grupo e se o meio é para levedura ou bactérias.
2. Esterilizar o caldo e Ágar nutriente em autoclave 121°C por 15 minutos
3. Acrescentar antifúngico na concentração de 0,02%
4. Distribuir 15 - 20 mL do Ágar nutriente em placas de petri e tubos para o meio sólido inclinado



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena –EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia da Teoria à Prática - LOT 2053
Profa. Tatiane da Franca Silva

4.4- PREPARO DE MEIO DE CULTURA PARA O CULTIVO DE LEVEDURAS

COMPOSIÇÃO DO MEIO

Extrato de levedura	10,0
K ₂ HPO ₄	0,5
Glicose	20,0 g/L

1. Calcular a massa a ser pesada para cada componentes do meio de cultivo de leveduras para o volume final de 100 mL
2. Pesar os componentes em papel de alumínio e transferir para um erlenmeyer.
3. Adicionar 80 mL de água destilada.
4. Homogeneizar para a completa dissolução dos insumos.
5. Ajustar o pH do meio para **4.3 - 4,5**.
6. Medir em uma proveta o volume do meio. Caso necessário, completar com água destilada.
7. Distribuir 3,0 mL do meio em 3 tubos de ensaio.
8. O saldo restante será utilizado na preparação do meio Agar Nutriente.

4.5- PREPARO DO MEIO ÁGAR PARA O ISOLAMENTO DE LEVEDURAS

1. Adicionar o Ágar na concentração final de **20g/L** no erlenmeyer com o restante do meio de cultura e homogeneizar o Erlenmeyer
2. Esterilizar o caldo e Ágar nutriente em autoclave 121°C por 15 minutos
3. Distribuir 15 - 20 mL do Ágar nutriente em em placas de petri e tubos para o meio sólido inclinado



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena –EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia da Teoria à Prática - LOT 2053
Profa. Tatiane da Franca Silva