



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena –EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina de Microbiologia: da Teoria a Prática – LOT2053

**CONTINUAÇÃO: MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DO NÚMERO
DE CÉLULAS DE MICRORGANISMOS**

ROTEIRO 2

1- OBJETIVO

Construir uma curva padrão relacionando absorvância (DO) e concentração celular (mg/mL) para *Saccharomyces cerevisiae* utilizando o método de turbidimetria. Quantificar a concentração da biomassa celular de uma amostra com base na curva obtida.

3-PROCEDIMENTO

Será fornecida uma suspensão de células de *Saccharomyces cerevisiae*, um balão volumétrico e quatro tubos para preparo das diluições

3.1- CURVA PADRÃO: DETERMINAÇÃO DO PESO SECO

1. Pesar previamente o cadinho vazio e registrar o valor da massa.
2. Adicionar 10 mL da suspensão de *Saccharomyces cerevisiae* ao cadinho.
3. Secar a amostra em estufa a 80–90 °C até massa constante (até a próxima aula), resfriar em dessecador e pesar novamente, registrando a massa final para determinação da massa seca de células.

3.2- CURVA PADRÃO: RELAÇÃO DO PESO SECO X ABS

1. Preparar uma diluição 1:10 da suspensão original em balão volumétrico.
2. Transferir alíquotas graduais da diluição (por ex.: 1 mL, 2 mL, 3 mL e 4 mL) para quatro tubos de ensaio e completar cada tubo com água destilada até 5 mL.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena –EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina de Microbiologia: da Teoria a Prática – LOT2053

3. Medir a Densidade Óptica (DO) de cada tubo em espectrofotômetro, ajustando previamente com branco (água).
 4. Registrar os valores de DO e calcular a concentração correspondente (mg/mL).
 5. Construir o gráfico Absorbância × Concentração (mg/mL) e determinar a equação da reta e o coeficiente de determinação (R^2)
- Observação: Trabalhar sempre dentro da faixa linear do equipamento (normalmente 0,2–1,0 de DO). Acima deste intervalo, realizar novas diluições