



Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050
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
- Papel alumínio
- Erlenmeyer
- Tubos
- Placas
- Béquer
- Água destilada
- Extrato de Carne
- Peptona
- Cloreto de Sódio
- Extrato de levedura
- Glicose
- K_2HPO_4

Equipamento

- Balança
- pH metro
- Autoclave
- Câmara de Fluxo Laminar



Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050
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.

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

COMPOSIÇÃO DO CALDO NUTRIENTE

Extrato levedura	2,5
Triptona	5,0
Glicose	1,0 g/L

3. Calcular a massa a ser pesada para cada componente do meio Caldo Nutriente para o volume final de 100 mL
4. Pesar os componentes e transferir para um erlenmeyer.
5. Adicionar 80 mL de água destilada.
6. Homogeneizar para a completa dissolução dos insumos.
7. Ajustar o pH do meio para **6,8 - 7,0**.
8. Medir em uma proveta o volume do meio. Caso necessário, completar com água destilada.
9. Distribuir 3,0 mL do meio em 3 tubos de ensaio.
10. O saldo restante será utilizado no preparo do meio Agar Nutriente.

4.3- PREPARO DO MEIO AGAR NUTRIENTE PARA BACTÉRIA

1. Adicionar o **Agar** na concentração final de **20g/L** no erlenmeyer com o restante do meio de cultura e homogeneizar o Erlenmeyer
2. Esterilizar o caldo e Agar nutriente em autoclave 121°C por 15 minutos
3. Distribuir 15 - 20 mL do Agar nutriente em 4 placas de petri



Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050
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 no preparo do meio Agar Nutriente.

4.5- PREPARO DO MEIO AGAR PARA O ISOLAMENTO DE LEVEDURAS

1. Adicionar o **Agar** na concentração final de **20g/L** no erlenmeyer com o restante do meio de cultura e homogeneizar o Erlenmeyer
2. Esterilizar o caldo e Agar nutriente em autoclave 121°C por 15 minutos
3. Distribuir 15 - 20 mL do Agar nutriente em 4 placas de petri

Nota: Para evitar a contaminação com fungos, após a esterilização do meio de cultivo para bactéria pode ser adicionado substâncias com ação fungicida. Já para evitar a contaminação de bactérias no isolamento de leveduras, após a esterilização do meio de cultivo, pode ser adicionado antibióticos como a Amoxicilina.