

MEIOS DE CULTURA

Associação equilibrada de agentes químicos (nutrientes, pH, etc.) e físicos (temperatura, viscosidade, atmosfera, etc) que permitem o cultivo de microorganismos fora de seu “habitat” natural.

Principais funções dos meios de cultura:

- Fornecer condições para o crescimento do microorganismo desejado
- Fornecer condições para a formação do produto desejado (vinho, cerveja, etc.)
- Isolar e identificar espécies de microorganismos

DESENVOLVIMENTO OU PRODUÇÃO DE MEIOS DE CULTURA

Necessidade	Bactérias	Leveduras
Fonte Carbono (ex:amido, açúcares)	50-53 %	45-50 %
Fonte Nitrogênio (ex: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, água de milho)	12-15 %	7,5-11 %
pH ótimo	6,5-7,5	4,0-5,5
Temperatura de Incubação	Temp. p/ identificação coliformes em H_2O em caldo lactose à 35°C	Temp. ideal crescimento <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> \varnothing 30°C

Principais etapas no desenvolvimento de um meio de cultura

- FORMULAÇÃO: realização da dosagem de cada matéria-prima para composição do caldo nutritivo (meio de cultura, propriamente dito).
- ESTERILIZAÇÃO: Feita para garantir a ausência de outros microorganismos no meio, exceto os desejáveis.

Os agentes de esterilização podem ser físicos ou químicos. Os agentes físicos são a temperatura, luz, pressão, corrente elétrica, filtração; e os agentes químicos empregam substâncias químicas.

O calor é o mais eficaz agente esterilizante ◊ desnaturação da célula.

O congelamento mata algumas células, mas não é um processo de esterilização, pois existem microorganismos insensíveis e moderadamente resistentes que sobrevivem a temperatura de congelamento.

O calor pode ser empregado de várias formas:

- A seco – flambagem em chama direta ◊ esterilizar a alça de platina, tubos, ampolas.
- Ar quente (forno Pasteur – 170 a 180 ° C por 1 hora)
- A úmido – temperatura baixa (50 a 70°C por tempo longo – Pasteurização – leite, cerveja)
 - 100°C - água fervente (imersão do material em água fervente – instrumentos cirúrgicos, seringas)

- $>100^{\circ}\text{C}$ – vapor d'água sob pressão (autoclave $108 - 110^{\circ}\text{C}$ por 15 – 20 min – recipiente fechado em que a água é aquecida e o vapor d'água fica retido sob pressão).
- INOCULAÇÃO: Etapa onde se coloca o microorganismo no reator.
- INCUBAÇÃO: Fornecimento da temperatura e tempo ideal para o crescimento.

CLASSIFICAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA

a) Quanto à apresentação: podem ser sólidos e líquidos

Meios líquidos: para obter melhor crescimento de microrganismos, mais abundante, pois o contato com o material nutritivo é mais fácil. São também usados para o estudo da morfologia da célula, uma vez que oferecem à célula, menos resistência.

Meios sólidos: usados para isolamento. Os microrganismos desenvolvem na superfície dos meios sólidos, formando colônias. Também é empregado na conservação de cultivos por tempo mais ou menos longo, pois o acesso lento aos elementos nutritivos limita a reprodução.

b) Quanto às condições de cultivos:

Em função do pH: pode ser meio tamponado e meio não tamponado. Meio tamponado pode ser ácido ($\text{H}_3\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$) ou básico (NH_4Cl e NaOH) e possibilita à solução que não haja variação de pH. Meio não tamponado apresenta constituintes

normais, como a peptona e os aminoácidos, que funcionam como tampões, em virtude de sua própria natureza.

Em função do potencial de oxi-redução: meios para aeróbios e anaeróbios. Os meios comumente usados são para os aeróbios, com tensões normais de oxigênio. Os meios para microrganismos anaeróbios têm baixa tensão de O₂ a fim de permitir o crescimento daqueles organismos que não suportam viver sem presença de O₂. Pode-se também incluir no meio, uma substância capaz de retirar o O₂ do meio, como o tiogliconato, redutores inorgânicos como o ferro e o cobre em raspas ou limalhas.

c) Quanto à origem dos constituintes:

Meios naturais ou complexos ◇ contêm substâncias de origem biológica, como extrato de carne, de malte, etc., portanto de composição química muitas vezes não definidas. Os meios sintéticos ◇ todos os constituintes são substâncias isoladas, têm a composição conhecida e constante e são indicados para trabalhos de pesquisa.

d) Quanto à natureza dos constituintes:

As substâncias que satisfazem as exigências nutritivas da espécie microbiana são: água, sais minerais, C, N e S.

Minerais: todos os componentes que são minerais

Mistos: fontes de C e componentes minerais

Orgânicos: fontes de C, N e S

Completo: meios orgânicos acrescidos de fatores de crescimento como vitaminas.

e) Quanto à finalidade

Meios de crescimento e conservação: meios cuja composição atende às exigências nutritivas dos microrganismos, possibilitando o desenvolvimento em condições satisfatórias.

Meios de enriquecimento: adição ao meio, de determinadas substâncias que favorecem o desenvolvimento de certas linhagens. São meios adicionados de substâncias altamente nutritivas, como proteínas (sangue, plasma), aminoácidos, extrato de órgão de mamíferos, proteína de soja.

Meios seletivos: permitem dominância absoluta e o crescimento muito mais rápido do microrganismo que se procura isolar. É o caso do não crescimento das bactérias no meio ácido e a rápida multiplicação das leveduras no mesmo meio.

Meios para fins especiais: são meios que estimulam a capacidade que certos microrganismos têm, como formação de esporos, produção de enzimas, etc.

f) Quanto à procedência:

Naturais: são substâncias assim como elas se apresentam na natureza ou com pequenas modificações. Ex: leite, batata, suco de tomate.

Artificiais: são preparados no laboratório, pela mistura de diversos nutrientes. Ex: caldo simples.

Caldo simples:

Extrato de carne.....	3g	Peptona.....	10g
NaCl.....	5g	Água.....	1000mL

Aquecer até dissolver. Ajustar o pH 7,4 – 7,6.

Ferver 5 minutos, distribuir e esterilizar.

