

EFEITO BACTERICIDA DA RADIAÇÃO SOLAR

Objectivo

Avaliar o efeito deletério da radiação solar sobre a sobrevivência bacteriana.

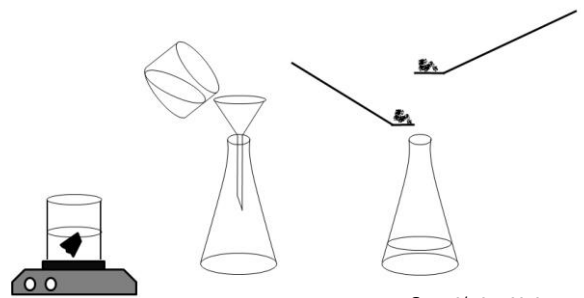
Descrição

- 1- Preparação, esterilização e plaqueamento do meio cultura;
- 2- Preparação do inóculo bacteriano;
- 3- Bioensaio;
- 4- Observação e discussão dos resultados.

Procedimento

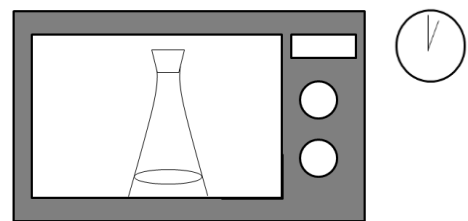
1. Preparação e esterilização do meio de cultura

Para preparar 250 mL de agar de carne: cozer 150 g de carne (vaca ou porco); desprezar a carne; depois de arrefecer, filtrar a solução através de gaze para um frasco de 1 L; adicionar 6 g de açúcar, 1.25 g de sal e 3.75 g de agar; misturar bem.



© IBMC/ FCUP 2010

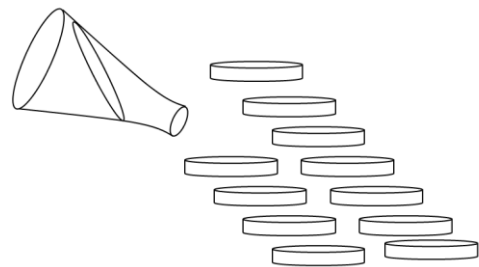
Esterilizar o meio de cultura utilizando o microondas (900 W) durante cinco minutos (para evitar sobreaquecimento, o aquecimento deve ser descontínuo: recomenda-se a utilização de ciclos de 1 minuto de aquecimento intercalados com períodos de 30 segundos de arrefecimento).



© IBMC/ FCUP 2010

2. Plaqueamento do meio de cultura

Numa bancada recentemente desinfetada, colocar o meio de cultura nas placas de Petri, quando este estiver aproximadamente a 45° C (evitando a solidificação do agar).

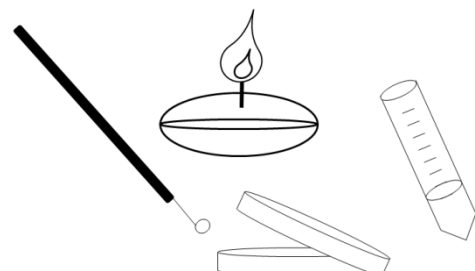


© IBMC/ FCUP 2010

Aguardar que o meio solidifique e inverter as placas.

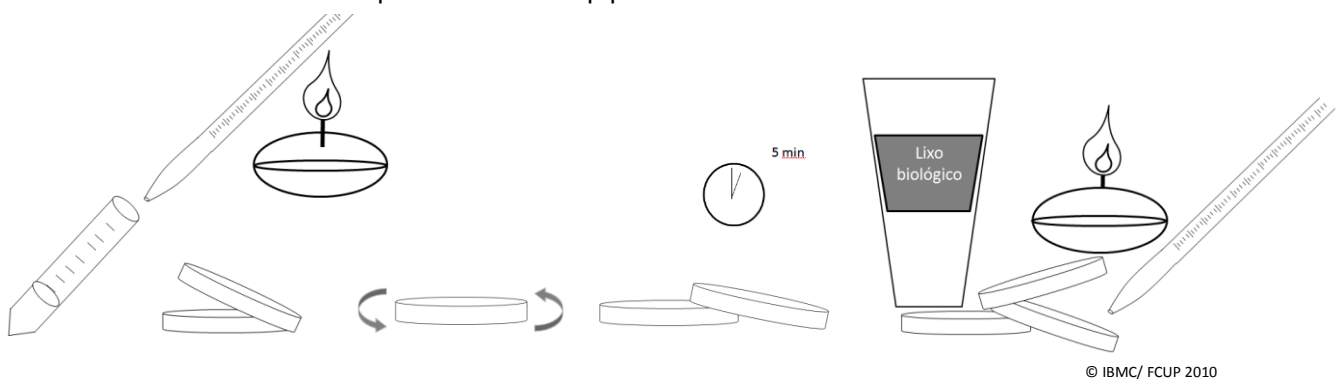
3. Preparação das placas

Preparar suspensões de *Bacillus* sp, transferindo uma pequena quantidade de células de uma cultura em placa para um tubo com 5 mL de água destilada esterilizada, e agitando cuidadosamente para homogeneizar o conteúdo.



© IBMC/ FCUP 2010

Transferir 1 mL de suspensão bacteriana para uma placa de meio; rodar cuidadosamente a placa fechada para distribuir a suspensão homogeneamente; deixar a placa inclinada durante cinco minutos e remover o excesso de suspensão com uma pipeta esterilizada.



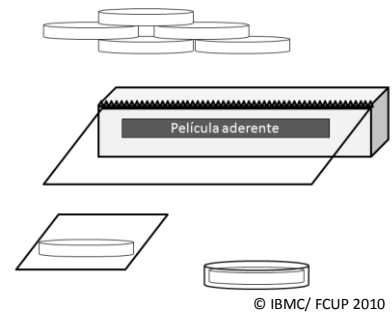
Deixar as placas repousar sem inverter durante cerca de cinco minutos.
Legendar as placas.

4. Bioensaio

Uma a uma, remover e armazenar as tampas das placas inoculadas numa área desinfetada (evitando contaminação), e envolver cada placa em película aderente.

Preparar três conjuntos de placas:

- 1- Quatro placas envolvidas em película aderente;
- 2- Três placas envolvidas em película aderente + lente de óculos de sol
- 3- Três placas envolvidas em película aderente + cartão opaco

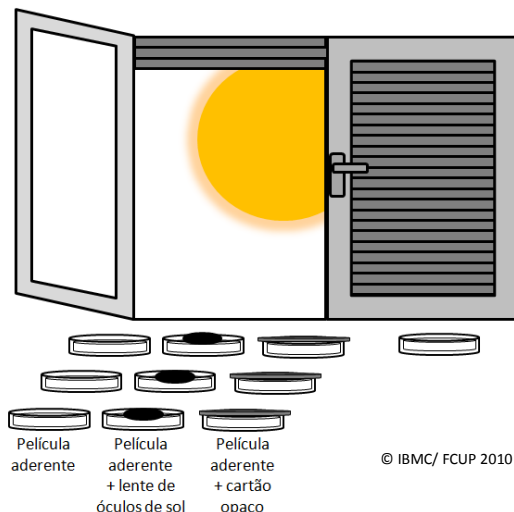


Exposição à luz solar:

Manter uma das placas do primeiro conjunto na obscuridade, envolvendo-a com folha de alumínio, e expor a superfície inoculada das restantes.

Remover uma placa de cada conjunto passado 30, 60 e 90 minutos de exposição. Legendar as placas.

Tapar e incubar as placas em posição invertida durante 8 a 10 horas a 37° C.



BIOSSEGURANÇA

Os participantes na actividade deverão lavar bem as mãos antes e após a realização da actividade. Todos os procedimentos deverão ser realizados em superfícies previamente desinfetadas com etanol. No final da experiência todo o material que tiver estado em contacto com as culturas bacterianas deverá ser devidamente esterilizado antes de ser eliminado.