

PROJETO MICROMAT

LEITURA DO EXP. 1

Cálculo de concentração de leveduras

Para calcular o número de células de leveduras por grama de fermento biológico (cel/g), observe a figura abaixo:

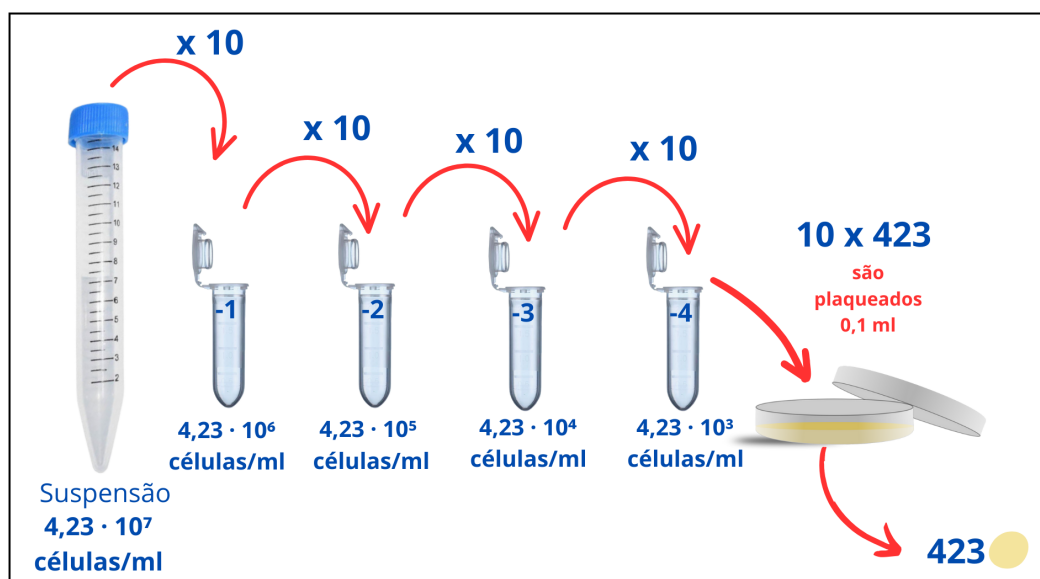


Figura 1: Exemplo de diluição seriada, na qual foram contadas 423 colônia na placa de diluição 10^{-4} .

Para estimar o número de células de levedura por grama de fermento biológico, é preciso fazer o cálculo "de trás para frente".

Partimos do pressuposto de que cada célula de levedura deu origem a uma colônia. Na placa de Petri, foram depositados 100 μ l, que deram origem a 423 colônias. Note que, 100 μ l correspondem a $\frac{1}{10}$ do volume da suspensão no microtubo, ou seja, se plaqueássemos todo o conteúdo do microtubo teríamos contado 10×423 colônias. Concluimos, portanto que no microtubo 10^{-4} havia $4230 = 4,23 \times 10^3$ células. Já no microtubo 10^{-3} há $10 \times$ mais células do que no microtubo 10^{-4} e assim por diante, desta forma:

- no microtubo 10^{-4} há 4230 células/ml
- no microtubo 10^{-3} há $4230 \times 10 = 4,23 \cdot 10^4$ células/ml
- no microtubo 10^{-2} há $4230 \times 10 \times 10 = 4,23 \cdot 10^5$ células/ml
- no microtubo 10^{-1} há $4230 \times 10 \times 10 \times 10 = 4,23 \cdot 10^6$ células/ml
- no tubo Falcon há $4230 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 = 4,23 \cdot 10^7$ células/ml

No entanto, ao considerar o **tubo Falcon**, é preciso ter em mente que na suspensão há um volume de 10 ml, ou seja, 10.000 μl . Sendo assim, a suspensão no **tubo Falcon** tem $4,23 \cdot 10^8$ células/10 ml.

E quantas células há por grama de fermento?

Como, no **tubo Falcon**, foram adicionados 0,1 g de fermento a 10 ml de suspensão salina, temos que multiplicar a concentração obtida por 10. No nosso exemplo, sabendo que 0,1 g de fermento contém $4,23 \cdot 10^8$ células, teremos $4,23 \cdot 10^9$ células por g de fermento biológico. Em português, isso seria o equivalente a 4 bilhões e 230 milhões de células de levedura por grama de fermento biológico.

Responda:

Tabela 1: Complete de acordo com seus resultados.

Microtubos	−1	−2	−3	−4	−5	−6
Concentração (células/ml)						

1. Se na placa referente à diluição _____ há _____ colônias, então na suspensão do tubo Falcon há _____ células/10 ml e _____ células/g.
2. Por que plaqueamos as diluições (microtubos) 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} ?
3. Por que não plaqueamos as diluições (microtubos) 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} ?
4. Utilizando o exemplo da **Figura 1**, se plaqueássemos a diluição 10^{-5} , quantas colônias haveria na placa? Dê um número aproximado.
5. Considere uma suspensão de $5,56 \times 10^9$ cel/ml. Quantas células por litro (cel/l) há nesta suspensão? E por microlitros (cel/ μl)?
6. Qual o volume de líquido em cada microtubo (−1, −2, −3, −4, −5, −6) e no tubo Falcon após completar o processo de diluições seriadas?
7. Sabendo que 10 gramas de fermento custaram R\$1,20 qual foi o custo de fermento em cada experimento? (lembrando que foram utilizados 0,1 g de fermento)
8. Ainda com o valor de R\$1,20 por 10 g de fermento, suponha que um aluno ao realizar o experimento 1 encontrou a concentração de $1,8 \cdot 10^{10}$ células/g. Quanto vale (em reais) cada célula do pacotinho? Use notação científica.
9. Vamos supor que, após aspirar 100 μl da diluição 10^{-3} (para transferir ao microtubo 10^{-4}), a ponteira caiu no chão, junto com a amostra de leveduras. Se formos aspirar novamente 100 μl do microtubo 10^{-3} , isso afetaria o resultado final? Explique.