VII EAITI 2017 ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA | 09 e 10 de novembro de 2017

UTILIZAÇÃO DO TESTE DE EXCLUSÃO COM AZUL DE TRYPAN SOB CÂMARA DE NEUBAUER PARA A CONTAGEM DE BACTÉRIA DO ÁCIDO ACÉTICO.

Tayara Narumi Andrade (PIBITI/Fundação Araucária/UEL), Natália Norika Yassunaka Hata (Doutoranda), Wilma Aparecida Spinosa (Orientador), wilma.spinosa@uel.br

Universidade Estadual de Londrina/Centro de Ciências Agrárias.

Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciência de Alimentos, Microbiologia de Alimentos

Palavras Chave: *Komagataeibacter intermedius, azul de trypan, câmara de Neubauer, bactéria do ácido acético.*

Resumo

A indústria do vinagre necessita de quantificações rápidas e precisas de células viáveis das bactérias do ácido acético (BAA). Os resultados mostraram que a viabilidade celular de *K. intermedius,* utilizando-se o teste de exclusão com azul de trypan (TB) e a contagem em placas, não apresentaram diferença significativa. Sendo assim, a utilização do método de TB sob câmara de Neubauer pode ser considerada promissora no controle qualidade microbiológico de industrias vinagreiras.

Introdução

Bactérias do ácido acético (BAA) desempenham um importante papel na oxidação do etanol a ácido acético e água para a produção de vinagre. Este processo requer determinações de controle de qualidade que possam monitorar sua dinâmica microbiana de forma rápida, barata e precisa.

Tendo isso em vista, o presente trabalho teve como objetivo propor o teste de exclusão com TB sob câmara de Neubauer como um método alternativo e rápido em substituição ao método de contagem em placas.

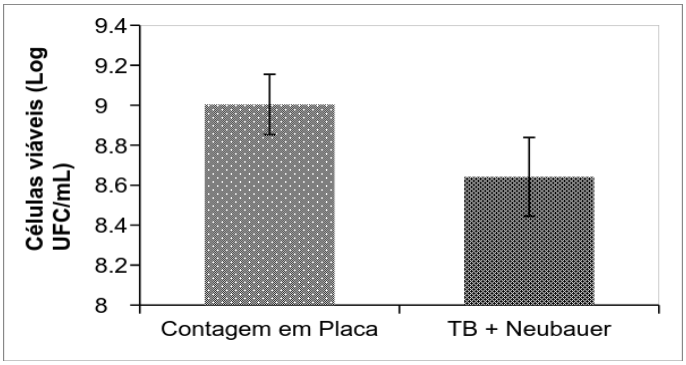
Material e Métodos

Primeiramente, procedeu-se com a construção da curva de crescimento do isolado bacteriano de *Komagataeibacter intermedius* para a obtenção de um inóculo com contagens próximas a 9 log UFC/mL. Este inóculo foi então adicionado de corante TB 0,2% para a contagem de células sob câmara de Neubauer e análise em microscópio ótico (Avelar-Freitas, 2014). Em paralelo, fez-se a contagem por semeadura em gotas (*Drop plate*) em placas contendo ágar MYP com sobrecamada.(Entani, 1985).

Resultados Obtidos

A construção da curva de crescimento de *K. intermedius* permitiu verificar que o crescimento máximo (9,18 log UFC/mL) do isolado foi alcançado em 72 horas. As contagens de células viáveis de *K. intermedius* pelo método de exclusão com TB sob câmara de Neubauer não apresentaram diferenças significativas em relação às contagens realizadas em placa, como pode ser observado na Figura1.

Figura 1. Comparação nas contagens de células viáveis de *K. intermedius* pelos métodos de semeadura em placas (*Drop plate*) e teste de exclusão por TB sob câmara de Neubauer.



Conclusão

A utilização do método de TB sob câmara de Neubauer para a contagem de BAA pode ser uma ferramenta promissora no controle de qualidade microbiológico e para a investigação da dinâmica de crescimento de microrganismos de indústrias vinagreiras.

Agradecimentos

Agradeço à Fundação Araucária e Universidade Estadual de Londrina pelo suporte e incentivo.

AVELAR-FREITAS, B. A. et al. Trypan blue exclusion assay by flow cytometry. Brazilian journal of medical and biological research, v. 47, n. 4, p. 307-315, **2014**.

ENTANI, Etsuzo et al. *Acetobacter polyoxogenes* sp. nov., a new species of an acetic acid bacterium useful for producing vinegar with high acidity. The Journal of General and Applied Microbiology, v. 31, n. 5, p. 475-490, **1985**.