



ÁGAR DICLORO-GLICEROL (DG 18)

CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS

USO

O Ágar dicloro-glicerol (DG 18) é recomendado para a contagem de leveduras e bolores que crescem em meio com baixa atividade de água (A_w inferior a 0,95). É particularmente adequado para a contagem e isolamento de bolores xerófilos encontrados em produtos desidratados ou pouco hidratados, muito adocicados ou salgados, frutos secos, cereais, bolachas, farinhas e outros produtos desidratados de carne ou peixe destinados ao consumo humano ou animal.

O meio reduz o tamanho dos talos de bolores e das colônias de leveduras, facilitando a sua contagem.

A fórmula-padrão do ágar está em conformidade com a composição definida nas normas NF V08-036 e NF ISO 21527-2.

HISTÓRIA

O ágar dicloro-glicerol é derivado da fórmula descrita em 1980 por Hocking e Pitt para a contagem de bolores que crescem em produtos com baixo teor de umidade. Em 2001, Deak *et al.* demonstraram, num estudo comparativo, que as culturas de *Brettanomyces anomalus*, *Cryptococcus albidus* e *Rhodotorula mucilaginosa* eram particularmente retardadas ou mesmo inibidas neste meio. Em contrapartida, as leveduras xerófilas como *Zygosaccharomyces rouxii* cresceram muito facilmente. Estes autores concluíram que o meio DG 18 estava mais particularmente adaptado a produtos com um baixo teor de umidade e que, consequentemente, não é universalmente aplicável para a contagem de um amplo espectro de leveduras e bolores que contaminam todos os produtos alimentares.

PRINCÍPIOS

A triptona e a glicose asseguram o crescimento de leveduras e bolores.

A concentração de 18% de glicerol reduz a atividade da água de 0,999 para 0,955.

O dicloro inibe a invasão de mucorales e reduz o tamanho de outras colônias.

A presença de cloranfenicol, um antibiótico termoestável, aumenta a seletividade do meio contra a maioria das bactérias contaminantes.



COMPOSIÇÃO TÍPICA

A composição pode ser ajustada para obter o desempenho ideal.

Para 1 litro de meio completo:

- Triptona.....	5,0 g
- Glicose.....	10,0 g
- Extrato monopotássico.....	1,0 g
- Sulfato de Magnésio , H ₂ O.....	0,5 g
- Dicloro (dicloro-2,6-nitro-4-anilina).....	2,0mg
- Cloranfenicol	0,1g
- Glicerol	220,0g
- Ágar bacteriológico	13,0g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 5,6 ± 0,2.

Para 29,6 g de base desidratada BK170:

- Triptona.....	5,0 g
- Glicose	10,0g
- Fosfato monopotássico	1,0 g
- Sulfato de magnésio, H ₂ O.....	0,5 g
- Dicloro (dicloro-2,6-nitro-4-anilina).....	2,0 mg
- Cloranfenicol	0,1 g
- Ágar bacteriológico	13,0 g

Obs: Glicerol não fornecido

Para 1 litro de líquido pronto para liquefazer (BM109):

- Triptona.....	5,0 g
- Glicose	10,0g
- Fosfato monopotássico	1,0 g
- Sulfato de magnésio, H ₂ O.....	0,5 g
- Dicloro (dicloro-2,6-nitro-4-anilina).....	2,0 mg
- Cloranfenicol	0,1 g
- Glicerol.....	220,0g
- Ágar bacteriológico	13,0

PREPARAÇÃO

Preparação de meios desidratados:

- Suspende 29,6 g de meio desidratado (BK170) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada;
- Adicionar 220 g de glicerol;
- Levar lentamente o meio à ebulição, com agitação constante, mantendo-o assim durante o tempo necessário para sua completa dissolução;
- Distribuir em tubos ou frascos de 100mL;

✓ **Reconstituição:**
29,6g/L + 220 g/L de glicerol

✓ **Esterilização:**
15 minutos a 121°C



- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos
- Resfriar e manter entre 44-47°C.

2/5

INSTRUÇÕES DE USO

Semeadura pour plate (NF V 08-036):

- Transferir 1 mL da suspensão e suas sucessivas diluições decimais em placas de Petri estéreis;
- Despejar aproximadamente 15mL de meio, por placa;
- Homogeneizar perfeitamente e deixar solidificar sobre superfície fria;
- Incubar a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 dias.

- ✓ **Semeadura:**
1 mL de profundidade
- ✓ **Incubação:**
5 dias a $25 \pm 1^\circ\text{C}$

Semeadura superficial (NF ISO 21527-2):

- Despejar o meio em placas de Petri estéreis;
- Secar as caixas em estufa com a tampa entreaberta;
- Transferir 0,1 mL da amostra a analisar e as suas diluições decimais para a superfície das placas;
- Inocular a superfície com o inóculo utilizando uma alça esterilizada;
- Incubar as placas, com a tampa para cima, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 a 7 dias.

- ✓ **Semeadura:**
0,1 mL na superfície
- ✓ **Incubação:**
5 a 7 dias a $25 \pm 1^\circ\text{C}$

RESULTADOS

Contar as placas com menos de 150 unidades formadoras de colônias ou formadoras de micélios.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó de cor creme, fluído e homogêneo.

Meio preparado: ágar âmbar.

Resposta cultural após 5 dias de incubação a 25°C (NF EN ISO 11133):

Microrganismos		Crescimento (Razão de Produtividade: P_R)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 00058	WDCM	$P_R \geq 50\%$ $P_R \geq 50\%$
<i>Wallemia sebi</i> 00182	WDCM	Inibido Inibido



<i>Escherichia coli</i> 00013	WDCM	
<i>Bacillus subtilis ssp.spizizenii</i> 00003	WDCM	

3/5

ARMAZENAMENTO / CONSERVAÇÃO

Meio base desidratado (sem glicerol): 2-20°C.

Meio completo pronto para liquefazer (com glicerol) em frascos: 2-8°C.

As datas de validade estão indicadas nos rótulos.

Meio preparado completos em frascos (*): 90 dias a 2-8°C.

Meio preparado completo em caixas (*): 8 dias a 2-8°C.

(*) Valor de referência determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

EMBALAGEM

Meio básico desidratado (sem glicerol):

Frasco de 500 g
BK170HA

Meio completo pronto para liquefazer (com glicerol):

Embalagem de 10 frascos de 100 mL
BM10908

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hocking, A.D., and Pitt, J.I. 1980. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low moisture foods. App. Environ. Microbiol.,39: 488-492;

Deak, T., Chen, J., Golden, D.A., Tapia, M.S., Tornai-Lehoczki, J., Viljoen, B. C., Wyder, M.T., and Beuchat, L.R. 2001. Comparison of dichloran 18% glycerol (DG18) agar with general purpose mycological media for enumerating food spoilage yeasts. Inter. Jour. of Food Microb. 67: 49-53;



NF V 08-036. Mai 2003. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures se développant sur un milieu à faible aw;

NF ISO 21527-2. Novembre 2008. Microbiologie des Aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et des moisissures. Partie 2 : Technique par comptage des colonies dans les produits à activité d'eau inférieure ou égale à 0,95;

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau. Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

4/5

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

As informações fornecidas nos rótulos têm precedência sobre as formulações ou instruções descritas neste documento e são suscetíveis de modificação a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: DG18_FR_V11.

Data de criação: 04-2003

Data de revisão: 07-2019

Motivo da revisão: Alteração na temperatura de armazenamento.

