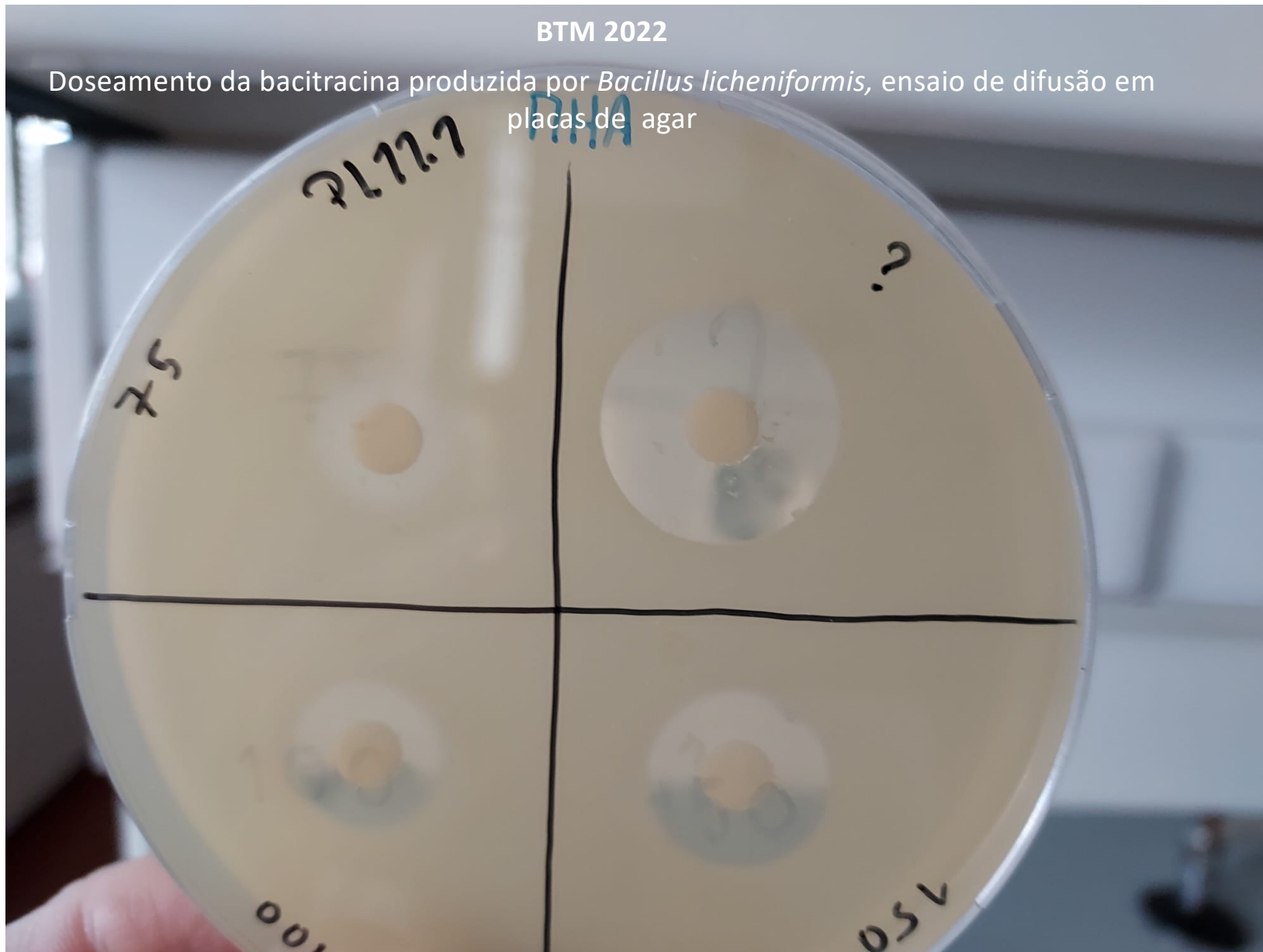


**BTM 2024/2025**  
**Distribuição dos trabalhos ao longo do semestre**

PL1 (25/09)	PL2 (2/10)	PL3 (9/10)	PL4 (16/10)	PL5 (23/10)	30 /10	PL6 (6/11)	PL7 (13/11)	PL8 (20/11)	PL9 (27/11)	PL10 (4/12)	(11/12)
TP0 Preparação de meios de cultura	1.1	1.2	1.3		Teste prático 1 sala 2.2.12 14 h	1.4					Teste prático 2
	2.1	2.2	2.3	2.4							
		3.1.1	3.1.2 3.2.1	3.1.3 3.2.2							
						4.1 Meios		4.2	4.3	4.4	
						5.1 Meios		5.2	5.3		
						6.1 Meios	6.2 (Sandra Cabo Verde) Controlo da esterilização – curvas de inativação e doses de esterilização				

BTM 2022

Doseamento da bacitracina produzida por *Bacillus licheniformis*, ensaio de difusão em placas de agar



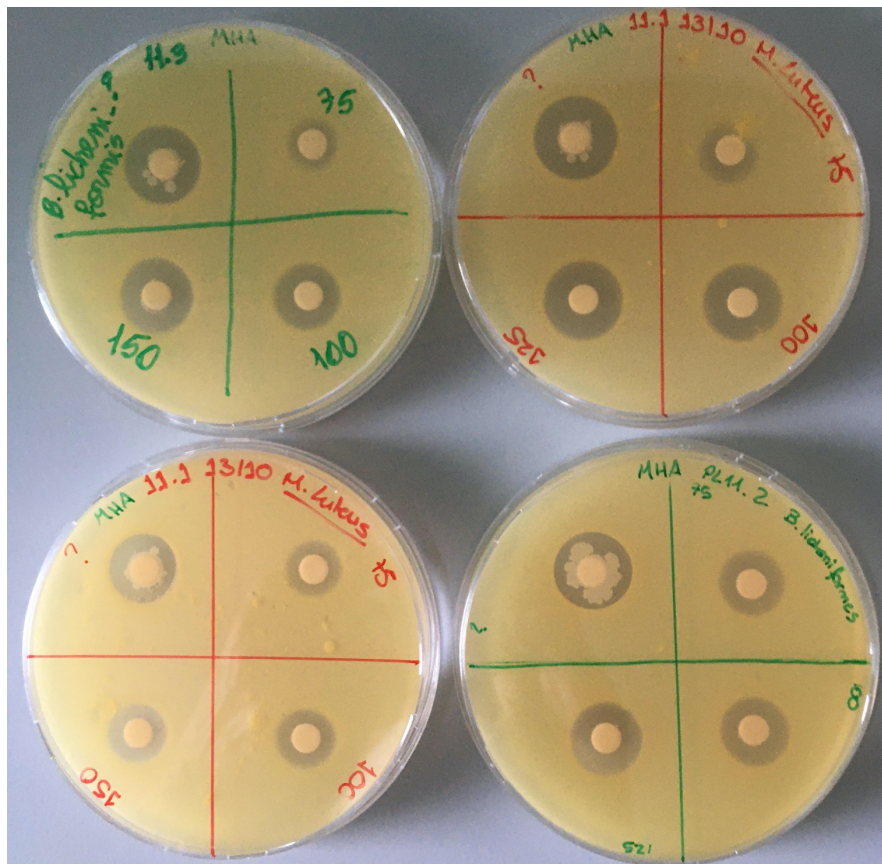
**Resultados doseamento da Bacitracina (EXEMPLO PL11 2023)**

[Bacitracina comercial] em micrograma/mL

[Bacitracina da cultura de *Bacillus licheniformis*] em micrograma/mL

		Diametro dos halos de inibição (em cm)			
		G1	G2	G3	G4
P.M. 2023	halo (cm)				
		1,0	1,30	1,4 cm	0,9 cm
Bacitracina]	75	1,0	1,10	1,4 cm	1 cm
		1,3	—	1,3 cm	—
		2,1	1,45	1,7 cm	1,2
100	1,5	1,20	1,5 cm	1,1	
	1,5	—	1,8 cm	—	
	125	1,4	1,65	1,8 cm	—
150	—	1,45	—	—	
	—	—	—	—	
	150	1,6	—	1,9 cm	1,4
?	2,2	—	1,9 cm	1,7	
	—	—	—	—	
	?	2,5	2,00	2,2 cm	—
.	1,6	1,80	2,1 cm	1,2	
	1,7	—	2,1 cm	1,9	
	162	219	2,2 cm	1,5	
			279	149	

Ensaio biológico pelo **método de difusão em placas de agar**, baseado na **relação linear** existente entre **diâmetro dos halos de inibição de crescimento** de uma estirpe indicadora (sensível) e o **logaritmo da concentração do agente inibidor** (soluções de bacitracina de concentração conhecida).



BTM 2021

Doseamento da bacitracina produzida por *Bacillus licheniformis*, ensaio de difusão em placas de agar

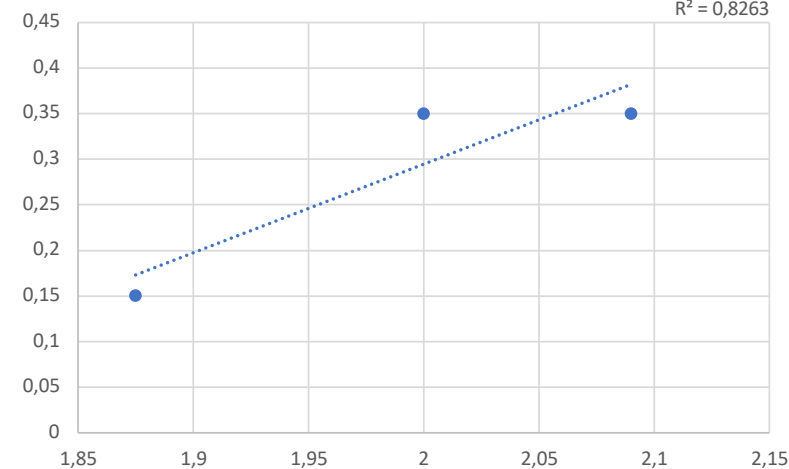
() bacitracina micrograma/mL	Eixo X log (bacitracina)	Eixo Y Halo inibição cm
75	1,875	0,15
100	2	0,35
125	2,09	0,35

Y  
diâmetro do halo de inibição do crescimento da estirpe indicadora (cm)  
X  
Logaritmo da concentração de bacitracina

Reta padrão de bacitracina

$$y = 0,9721x - 1,6496$$

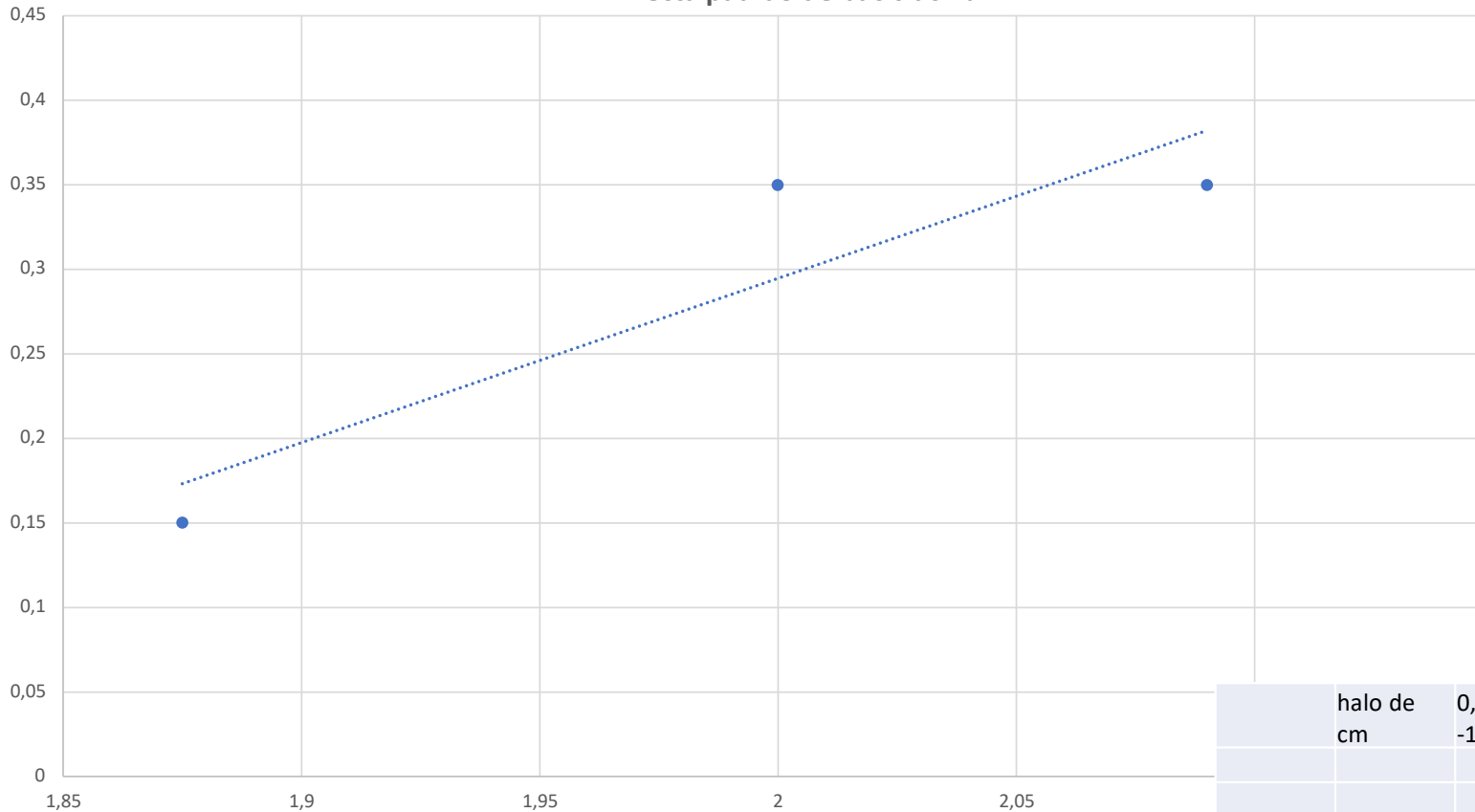
$$R^2 = 0,8263$$



halo de cm	$0,5 = 0,9721 * \text{Log}(\text{bac}) - 1,65$	$0,5 + 1,65 = 0,9721 * \text{Log}(\text{bac})$
		$0,9721 * \text{Log}(\text{bac}) = 2,15$
		$\text{Log}(\text{bac}) = 2,15 / 0,9721$
		$\text{Log}(\text{bac}) = 2,2$
		158

Y  
diâmetro do halo de inibição do crescimento da estirpe indicadora (cm)

Recta padrão de bacitracina



() bacitracina micrograma/mL	Eixo X log (bacitracina)	Eixo Y Halo inibição cm
75	1,875	0,15
100	2	0,35
125	2,09	0,35

$$y = 0,9721x - 1,6496$$

$$R^2 = 0,8263$$

Ensaio biológico pelo método de difusão em placas de agar, baseado na relação linear existente entre diâmetro dos halos de inibição de crescimento de uma estirpe indicadora (sensível) e o logaritmo da concentração do agente inibidor (soluções de bacitracina de concentração conhecida).

X  
Logaritmo da concentração de bacitracina

halo de cm	$0,5 = 0,9721 * \text{Log}(\text{bac})$	$0,5 + 1,65 = 0,972 * \text{Log}(\text{bac})$
	-1,65	$0,972 * \text{Log}(\text{bac}) = 2,15$
		$\text{Log}(\text{bac}) = 2,15 / 0,972$
		$\text{Log}(\text{bac}) = 2,2$
		158

### Resultados Chucrute (PL11 2023)

PL <sub>M</sub> (2023)	pH	% ácido láctico	cfu GYA	cfu MRS
Dias de incubação da couve T0	5,99	0,216	$1,75 \times 10^6$	$6,9 \times 10^4$
	5,78	0,720	$3,85 \times 10^4$	$6,4 \times 10^3$
	5,82	0,216	$7,15 \times 10^5$	$1,7 \times 10^3$
	5,9	0,216	$3,2 \times 10^5$	$1,3 \times 10^3$
T1	4,97	0,86	$1,19 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$
T2	5,28	0,324	$8,5 \times 10^5$	$1,045 \times 10^6$
T5	5,20	0,342	$1,1 \times 10^7$	$8,7 \times 10^6$
T7	3,84	0,90	$3,6 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$

Meio GYA (Glucose extrato levedura e agar)

glucose  
extrato levedura  
agar

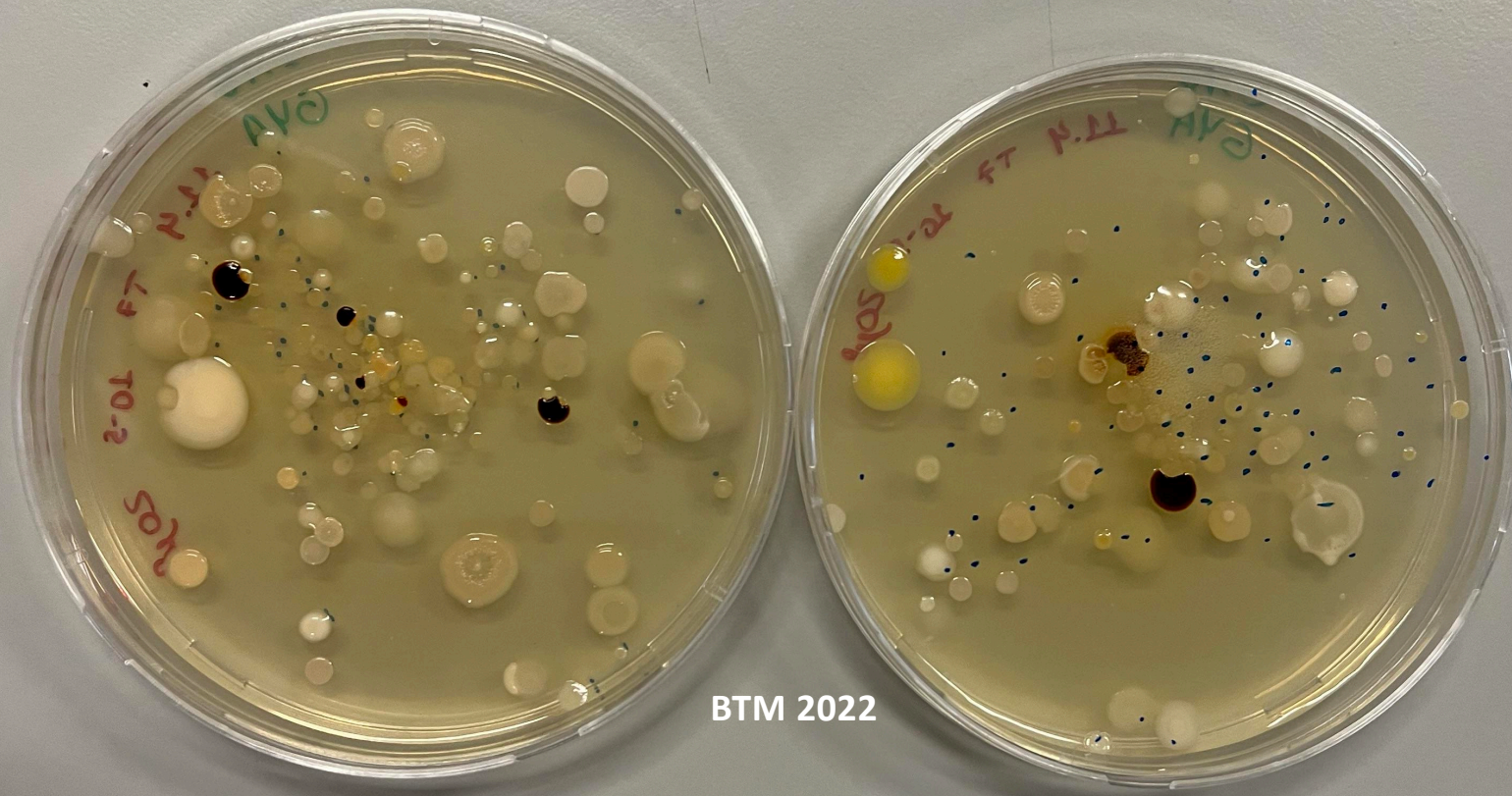
Usado no crescimento de bactérias totais (com poucos requisitos nutricionais)

Meio MRS (Man Rogosa& Sharpe)

1% peptona  
1% extrato de carne  
0,4% extrato levedura  
2% glucose  
0,5% acetato de sódio  
0,1% Tween 80 (polissorbato 80)  
0,2% hidrogenofosfatode dipotássio  
0,2% citrato de triamônio  
0,02% sulfatode magnésio  
0,005% sulfato de manganês  
1% agar

pH ajustado para 5,5 a 25º C

Usado no crescimento de bactérias lácticas



BTM 2022

Meio GYA

glucose  
extrato levedura  
agar

Usado no crescimento de bactérias totais (com poucos requisitos nutricionais)





## Meio MRS (Man Rogosa& Sharpe)

1% peptona

1% extrato de carne

0,4% extrato levedura

2% glucose

0,5% acetato de sódio

**0,1% Tween 80 (polissorbato 80)**

0,2% hidrogenofosfatode dipotássio

**0,2% citrato de triamônio**

0,02% sulfatode magnésio

0,005% sulfato de manganês

1% agar

pH ajustado para 5,5 a 25° C

Usado no crescimento de bactérias lácticas

## TP 2 - Evolução da População Bacteriana na Fermentação da Couve em Chucrute

### Fundamento teórico

#### Bactérias Lácticas

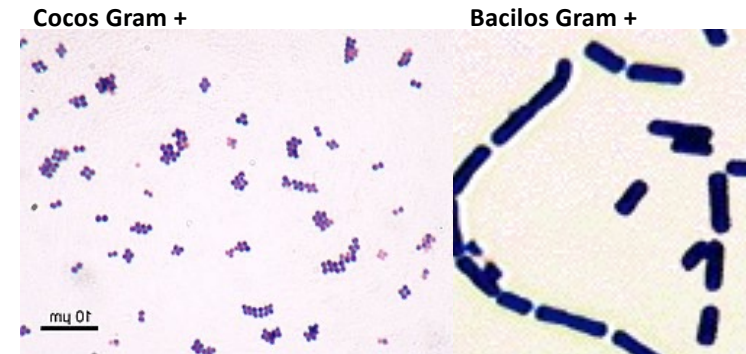
- Gram positivas
- Geralmente imóveis
- Não formadoras de esporos
- Forma de **cocos** ou **bacilos**
- Produzem **ácido láctico** como principal produto da **fermentação**
- São **fermentativas anaeróbias** mas **aerotolerantes** (anaeróbias facultativas)
- Geralmente **catalase-negativas**

As homoláticas incluem espécies dos géneros:

*Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e alguns *Lactobacillus*.

As heteroláticas incluem:

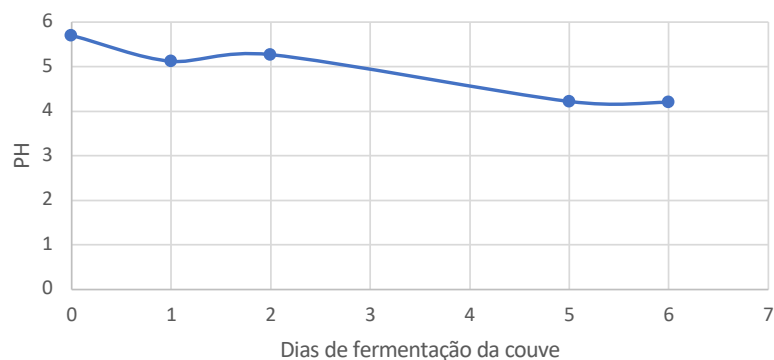
*Leuconostoc* e alguns *Lactobacillus*



## BTM 2024 - PL12

dias incubação	PH
0	5,7
1	5,12
2	5,27
5	4,22
6	4,2

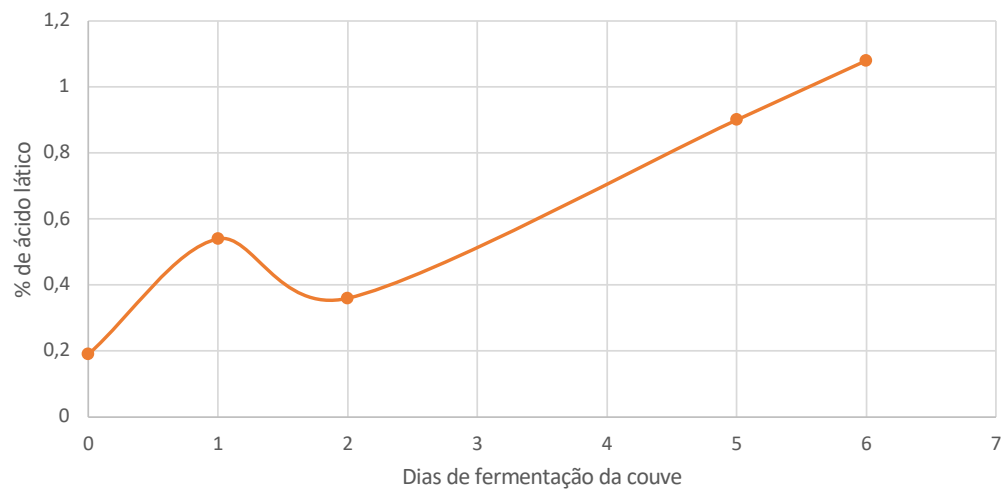
Varição do PH durante a fermentação da couve a chucrute (2024)



Dias incubação	cfu   mL GYA Azul	cfu   mL MRS Laranja
0	820000	130000
0	950000	210000
0	1400000	23000
0	730000	44000
1	28000000	3300000
2	2300000	3400000
5	5300000	13000000
6	8000000	3900000

dias incubação	% ácido láctico
0	0,19
1	0,54
2	0,36
5	0,9
6	1,08

Varição da % de ácido láctico durante a fermentação da couve a chucrute (2024)



Evolução das bactérias da couve durante a fermentação a chucrute Azul - totais laranja - lácticas

