

UTILIZZAZIONE DI CARBOIDRATI DIVERSI

a cura di Massimo Trauzzola e Rossana Baglioni



OBIETTIVO:

Saggiare la capacità dei microrganismi di utilizzare carboidrati diversi (Glucosio, Lattosio, Saccarosio) a scopi fermentativi.

PRINCIPIO:

I microrganismi metabolizzano diversi carboidrati attraverso processi fermentativi che portano alla produzione di acidi e/o gas.

La produzione di acidi si può rilevare utilizzando un terreno come il Phenol red broth base che contiene un indicatore di pH, il rosso fenolo, che è rosso in ambiente alcalino, arancio in ambiente neutro e giallo in ambiente acido.

La produzione di gas può essere rilevata con le campanelle di Durham.

MATERIALI E STRUMENTI:

MATERIALI BIOLOGICI

Colture microbiche di *Escherichia coli* e *Alcaligenes faecalis*

MATERIALI CHIMICI

Soluzioni al 10% di glucosio, lattosio, saccarosio

TERRENI DI COLTURA

Phenol red broth base

VETRERIA, STRUMENTI

Bunsen, beuta, treppiede, ansa, provettoni, portaprovettoni, palloncini tarati, siringhe e filtri sterili, campanelle di Durham, bilancia tecnica, autoclave, termostato, bunsen

METODICA

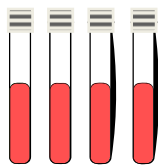
(1ª FASE)

1



Preparare il terreno. (pH del terreno 7,4)

2



Distribuire in provette con tappo a vite (10 ml per provetta; 3 provette per ogni microrganismo in esame più una provetta di controllo che non verrà inoculata).

3



Mettere in ogni provetta una campanella di Durham.

4



Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15'.

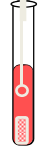
(2ª FASE)

1



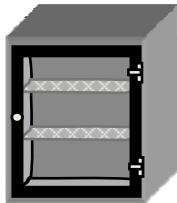
Aggiungere ad ogni provetta 1ml di soluzione di carboidrato, utilizzando una siringa munita di filtro sterile (3 provette per i 3 carboidrati diversi per ogni microorganismo in esame).

2



Con l'ansa, inoculare con lo stesso ceppo microbico le 3 provette con i 3 carboidrati diversi. Ripetere per ogni batterio in esame.

3



Incubare a 37°. Dopo 4h fare la prima lettura; la seconda dopo 24h.

(3ª FASE)

1

Osservare il colore del terreno e la presenza di gas all'interno delle campanelle (dopo 4 e 24 ore) e riportare i risultati nella seguente tabella:

microorganismo	glucosio		saccarosio		lattosio	
	gas	pH	gas	pH	gas	pH
<i>E. coli</i>						
<i>A. faecalis</i>						

La produzione di acido è segnalata dal viraggio al giallo del brodo di coltura. La produzione di acido è rapida, effettuare letture frequenti, la prima dopo 4 ore. Prolungando il periodo di incubazione si può assistere ad una inversione di reazione con viraggio dell'indicatore verso l'alcalinità.

