

OSSIDAZIONE E FERMENTAZIONE

a cura di Massimo Trauzzola e Rossana Baglioni



OBIETTIVO:

Saggiare la capacità dei microrganismi di metabolizzare i diversi carboidrati (Glucosio, Lattosio, Saccarosio) mediante due processi: la fermentazione e l'ossidazione aerobia.

PRINCIPIO:

I processi per metabolizzare i carboidrati sono due: la fermentazione, che avviene in condizioni di anaerobiosi, e l'ossidazione aerobia.

I microrganismi che fermentano, producono una reazione acida (colorazione gialla) in entrambe le condizioni, quelli che ossidano producono una reazione acida solo in condizione di aerobiosi. I microrganismi non fermentanti e non ossidanti danno reazione alcalina (colorazione blu) in aerobiosi e nessuna modificazione di pH in anaerobiosi.

Il terreno contiene blu di bromotimolo come indicatore di pH; con la degradazione del carboidrato si ha una variazione del pH verso l'acidità e il conseguente viraggio del terreno da verde a giallo.

Con il test O/F si può determinare anche la produzione di gas da parte dei microrganismi e la loro mobilità (crescita diffusa a partire dalla linea dell'inoculo).

MATERIALI BIOLOGICI

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

MATERIALI CHIMICI e TERRENI DI COLTURA

Soluzioni al 10% di glucosio, lattosio, saccarosio, olio di vasellina o paraffina, O/F agar

VETRERIA, STRUMENTI

Bunsen, beuta, treppiede, ago per infissione, provette, portaprovette, palloncini tarati, siringhe e filtri sterili, bilancia tecnica, autoclave, termostato, bunsen

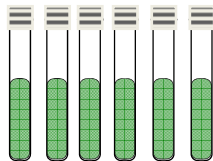
METODICA (1ª FASE)

1



Preparare il terreno.

2



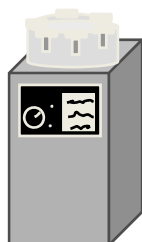
Distribuire in provette con tappo a vite (5 ml per provetta; 6 provette per ogni microrganismo in esame: 2 per il glucosio, 2 per il saccarosio e 2 per il lattosio).

3



Preparare una beuta con della paraffina o dell'olio di vasellina.

4



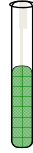
Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15' sia il terreno che la paraffina.

(2ª FASE)

1



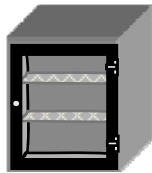
2



3



4



Aggiungere ad ogni provetta 0,5ml di soluzione di carboidrato, utilizzando una siringa munita di filtro sterile (2 provette per i 3 carboidrati diversi per ogni microorganismo in esame).

Seminare per infissione con lo stesso ceppo microbico le 2 provette con i 3 carboidrati diversi. Ripetere per ogni batterio in esame.

Coprire il terreno (una sola provetta per ogni zucchero) con 2 ml di paraffina liquida, infine tappare.

Incubare a 32°-35° per 48h esaminando le provette ogni giorno.

(3ª FASE)

1

Osservare la colorazione in ciascuna coppia di provette e riportare i dati in tabella.

microorganismo	glucosio		saccarosio		lattosio	
	aperta	chiusa	aperta	chiusa	aperta	chiusa
<i>E. coli</i>						
<i>A. faecalis</i>						

A = reazione acida

AG = reazione acida e produzione di gas

- - nessuna reazione o reazione alcalina



La produzione di gas si evidenzia con il distacco dal terreno e lo spostamento verso l'alto della paraffina.