

الدرس العملي الثاني

متابعة دراسة الصفات الأساسية لبكتريا
حامض اللاكتيك واختبار قدرتها علي
تخمير اللبن

٩ الأجهزة والأدوات:

١. حضانات كهربية (Incubators).
٢. شرايح زجاجية.
٣. إبر تلقيح (Inoculating loops).

المواد والمزارع الميكروبية:

١. محلول فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) تركيزه ٣%.
٢. بيئة اللبن السائلة والمحتوية علي دليل البروموكريزول البنفسجي موزعة بمعدل ١٠ مللي في أنابيب اختبار.
٣. بيئة ADAC السائلة موزعة بمعدل ١٠ مللي في أنابيب اختبار.

٤. مزرعة من ميكروب *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* منماة في بيئة MRS agar الصلبة وعمرها ١٨-٢٤ ساعة.

٥. مزرعة من ميكروب *S. thermophilus* منماة في بيئة agar (M17 + 0.5% glucose) الصلبة وعمرها ١٨-٢٤ ساعة.

٦. مزرعة من ميكروب *Lc. lactis* subsp. *lactis* منماة في بيئة agar (M17 + 0.5% glucose) الصلبة وعمرها ١٨-٢٤ ساعة.

٧. مزرعة من ميكروب *Lc. lactis* subsp. *cremoris* منماة في بيئة agar (M17 + 0.5% glucose) الصلبة وعمرها ١٨-٢٤ ساعة.

تحديد أنسب الظروف لتنمية بكتريا حامض اللاكتيك علي بيئات الزرع:

q قم بفحص الأطباق التي قمت بتخطيطها في الدرس السابق، وسجل ملاحظتك من حيث:

- نمو الميكروب وتكوينه مستعمرات علي البيئات المختلفة.
- نمو الميكروب وتكوينه مستعمرات تحت ظروف التحضين الهوائية أو اللاهوائية وباستخدام طريقة الطبقة المغطية أو بدونها.
- حجم المستعمرات ولونها علي البيئات المختلفة وتحت ظروف التحضين المختلفة.

اختبار قدرة بكتريا حامض اللاكتيك علي إنتاج إنزيم الكتاليز:

- قم بأخذ لمسات بإبرة التلقيح من المزارع الخمسة المذكورة في جزء المواد والمزارع البكتيرية عالية.
- قم بفرد اللمسة علي شريحة زجاجية ثم أضف نقطة من محلول فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) تركيزه 3% ثم لاحظ ظهور فقاعات هوائية من عدمه.
- يعد ظهور الفقاعات الهوائية دليلاً علي أن الميكروب لديه القدرة علي إنتاج إنزيم الكتاليز والذي يعمل علي تحلل مركب H_2O_2 مكوناً ماء وأكسجين والذي يؤدي تصاعده إلي ظهور الفقاعات.

سجل نتائج اختبار الكتاليز باستخدام العلامة + في حالة تكون فقاعات، والعلامة - في حالة عدم تكونها في الجدول التالي:

إنتاج الكتاليز	اسم الميكروب
	Ø <i>L. delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>
	Ø <i>S. Thermophilus</i>
	Ø <i>Lc. lactis subsp. Lactis</i>
	Ø <i>Lc. lactis subsp. Cremoris</i>
	Ø <i>Ln. mesenteroides subsp. cremoris</i>



تكون فقاعات غازية عند إضافة فوق أكسيد الهيدروجين إلي مستعمرات ميكروب لديه القدرة علي إنتاج إنزيم الكتاليز.

دراسة إنتاج الحموضة بواسطة بكتريا حامض اللاكتيك:

- قم بأخذ لمسات بإبرة التلقيح من المزارع الخمسة المذكورة في جزء المواد والمزارع البكتيرية عالية واستخدمها في تلقيح أنابيب بيئة اللبن السائلة المحتوية علي دليل البروموكريزول البنفسجي مع مزجها جيداً.
- يتم تحضين الأنابيب علي درجة حرارة مناسبة (٣٠°م للميكروبات المحبة للحرارة المتوسطة مثل *Lc. Lactis* subsp. *lactis* ، ٤٢° للميكروبات المحبة للحرارة العالية مثل *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* لمدة ٢٤ ساعة ثم يلاحظ التغيرات في لون البيئة.
- تلاحظ التغيرات الأخرى في البيئة مثل تكون غاز أو خثرة (لبن متجبين) أو انفصال شرش من الخثرة وكذلك ثبات الخثرة أو هضمها.

قم بتسجيل مشاهداتك في الجدول التالي مستخدماً علامة
(+ أو -)

انفصال شرش	هضم الخبثرة	تكون خبثرة	تكون غاز	تغير اللون	اسم الميكروب
					<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i> <i>S. Thermophilus</i> <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i> <i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>

التفرقة بين التخمر المتجانس والغير متجانس:

q قم بأخذ لمسات بإبرة التلقيح من مزارع الميكروبات التالية:

S. thermophilus, Lb. delbrueckii subsp.

Bulgaricus

Ln. mesenteroides subsp. cremoris

q استخدمها في تلقيح أنابيب بيئة ADAC السائلة ثم قم بالتحضين علي درجة حرارة ٢٧°م.

q بعد مرور ٢٤ ساعة من التحضين قم بتسخين إبرة تلقيح بحيث تحمر عقدها (loop) ثم قم بغمسها مباشرة في الأنابيب ولاحظ تكون غاز أو فقاعات غازية في الأنابيب والذي يدل علي ايجابية الاختبار.

قم بتسجيل مشاهداتك في الجدول التالي مستخدماً
علامة (+ أو -)

الاستنتاج	تكون غاز	اسم الميكروب
		<i>S. Thermophilus</i> <i>Lb. delbrueckii subsp. Bulgaricus</i> <i>Ln. mesenteroides subsp. cremoris</i>