

344 حدق

**ميكروبيولوجيا المياه
والصرف الصحي**

ا. الجوهرة العباد

alalabbad@ksu.edu.sa





المعمل السابع



IMViC

تابع اختبارات التفرقة بين مجموعة القولون





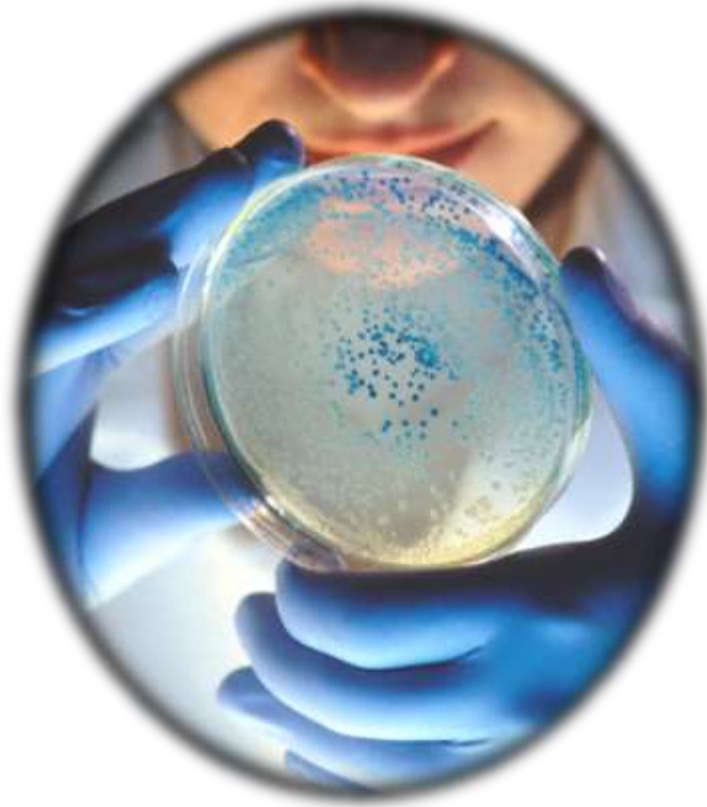
الاختبار الثاني



Methyl red test

اختبار أحمر الميثايل





أولاً: الأساس العلمي للتجربة



❖ بعض أنواع بكتيريا مجموعة القولون لها القدرة على تخمر الكربوهيدرات (السكريات كالجلكوز) منتجة أحماض .

❖ هذا الاختبار يقوم بتمييز الأنواع الميكروبية المنتجة للأحماض بكميات كبيرة عن التي لا تنتج إلا كميات قليلة .



❖ يستدل على قدرة البكتيريا على تخمر السكريات الموجودة في البيئة

باستخدام دليل أحمر الميثايل Methyl Red .

❖ تختلف درجة اللون الناتج باختلاف كمية الأحماض المنتجة في

الوسط البيئي فكلما كانت الكمية كبيرة تحول لون الدليل إلى اللون

الأحمر (أي أن كمية الحمض كافية لتغيير اللون)

❖ في حين أن الأنواع التي أنتجت كمية قليلة من الأحماض فيظل لون

الدليل أصفر وذلك لعدم وجود كمية كافية من الحمض لتغيير لون

الدليل .





ثانياً : الأدوات و المواد اللازمة



الأدوات و المواد اللازمة

1. أنابيب من بيئة مرق الجلوكوز Glucose broth .

2. الأنابيب التي أعطت نتيجة من الاختبار التكميلي .

3. مزارع نقية من بكتيريا E. coli

4. دليل أحمر الميثايل Methyl Red reagent .

5. ابر تلقيح .





ثالثاً : خطوات عمل التجربة



1. تحت ظروف التعقيم يتم تلقيح بيئة مرق الجلوكوز بلاقحة من الأنابيب التي أعطت نتيجة موجبة من الاختبار السابق .
2. يتم تلقيح أنبوبة واحدة ببكتيريا *E. coli* .
3. يتم ابقاء الأنبوبة الثالثة بدون تلقيح كـ كنترول .
4. تحضن الأنابيب عند 37م° لمدة 2 – 5 أيام .
5. أضف 5 نقط من دليل أحمر الميثايل مع الرج الخفيف لمدة من 15 – 20 دقيقة .
6. تفحص النتائج .





رابعاً : النتائج



Mixed Acid Fermentation - Methyl Red

Uninoculated

(+)

(-)

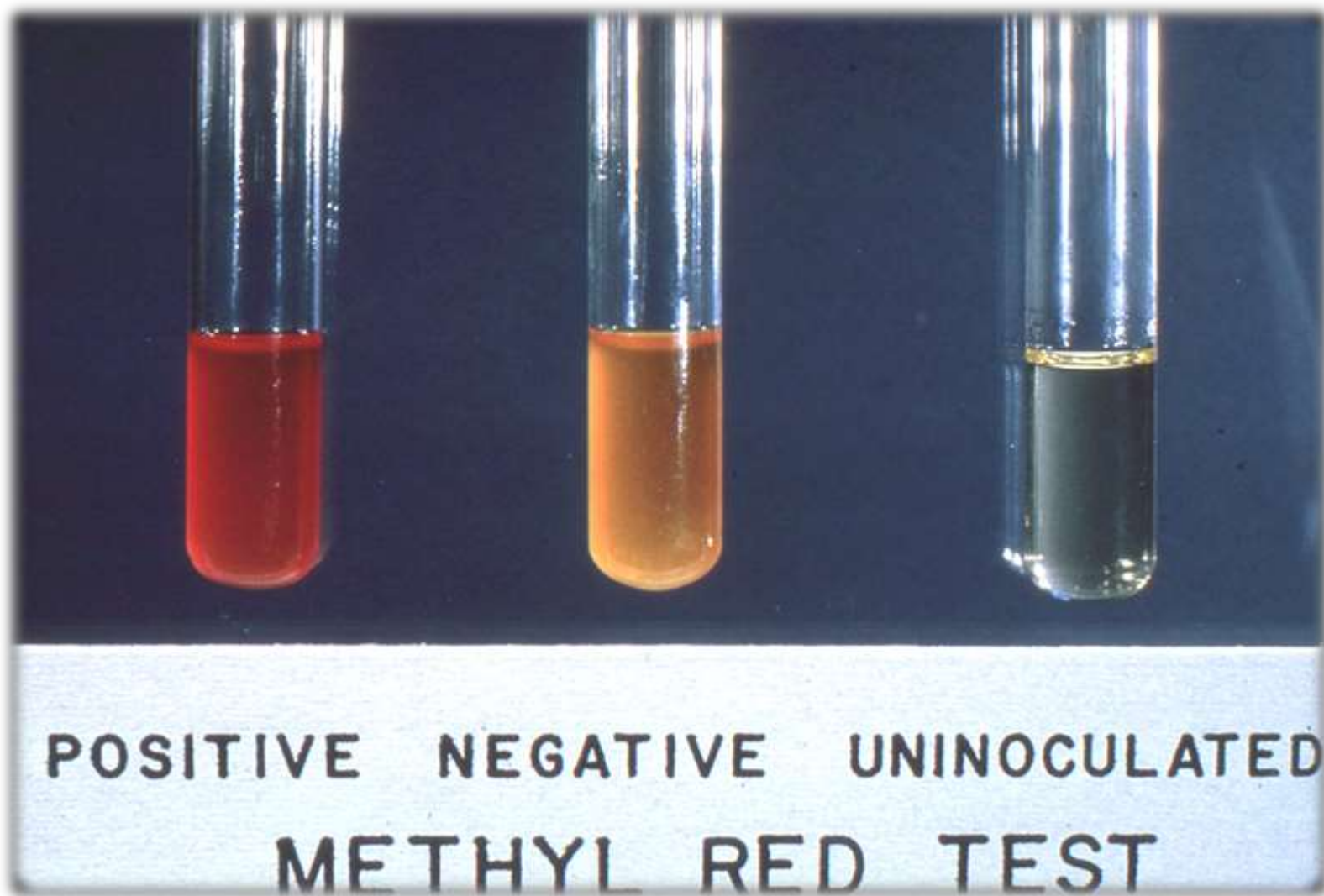
(-)

E. coli

E. aerogenes

S. marcescens





POSITIVE NEGATIVE UNINOCULATED
METHYL RED TEST



❖ يتكون كاشف Methyl Red من :

1. Methyl red indicator 0.1gr

2. Ethyl alcohol 95% 300 ml

3. Dist. Water 200 ml

❖ عندما تخمر البكتيريا سكر الجولوكوز أو اللاكتوز فإن أول ناتج

عمليات التخمر هو Pyruvic acid كنتاج أساسي لجميع

البكتريات, ثم تختلف بعدها مسارات التخمر حسب احتياج البكتيريا

الهوائي .



النتائج حسب التخمر لما بعد حمض البيروفيك

=

بكتريا تخمر الجلوكوز
منتجة نواتج ذات pH متعادل تقريباً
مثل الـ Acetoin و الـ Butanidol
و بالتالي تنخفض قيمة pH بصورة
قليلة جداً

+

بكتريا تخمر الجلوكوز
منتجة نواتج حامضية
مثل الـ Format و الـ Acetate
و تنخفض بذلك قيمة pH



نهایة العمل السابع

