

# TP n°1

## L'activité de l'amylase (digestion de l'amidon) chez les microorganismes

### 1. Introduction

Les enzymes sont des biocatalyseurs produits par les organismes vivants pour faciliter et accélérer les réactions biochimiques. Parmi ces enzymes, l'amylase joue un rôle clé dans l'hydrolyse de l'amidon. Cette enzyme est largement présente dans divers organismes, y compris les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux, et elle est d'une importance considérable dans de nombreux secteurs industriels, tels que l'alimentation, la fabrication de textiles et la production de biocarburants.

### 2. But du travail

Ce protocole vise à mettre en évidence la présence et l'activité d'amylase chez des microorganismes en étudiant leur capacité à hydrolyser l'amidon.

### 3. Matériels et réactifs

- Milieu de culture contenant de l'amidon (GN à 1% d'amidon).
- Eau physiologique.
- Échantillon environnemental (par exemple, sol, eau, ou matière organique) / la souche à tester.
- Eau iodée (solution d'iode composée d'iode et d'iodure de potassium).
- Boîtes de Pétri stériles.
- Anses de repiquage stériles.
- Autoclave.
- Incubateur.

### 4. Procédure

#### Isolement des microorganismes

1. Pour préparer la suspension mère du sol, 10 g de l'échantillon sont dissouts dans 90 ml d'eau physiologique stérile.
2. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur vortex.

3. Préparer une série de dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  jusqu'à  $10^{-8}$ ) à partir de la solution mère.

### **La mise en évidence de la production de l'Amylase**

4. Préparez le milieu à base d'amidon en dissoudre 10 g d'amidon avec 1000 ml de gélose nutritive et laissez-le refroidir légèrement avant de le verser dans des boîtes de Petri stériles.
5. Une fois que le milieu est solidifié, 100  $\mu$ l de la dilution  $10^{-8}$  est étalé à la surface de milieu à base d'amidon.
6. Utilisez une anse de repiquage stérile pour déposer l'inoculum bactérien (la culture pur) sur la surface du milieu (sous forme d'un point ou d'une ligne droite).
7. Incubez les boîtes à 37°C pendant 24 à 48 heures ou jusqu'à l'apparition de colonies bactériennes bien visibles.

Après l'incubation, ajoutez quelques gouttes de solution iodée sur la surface de l'agar pour couvrir les zones autour des colonies bactériennes.

### **Observation**

- Si les bactéries produisent de l'amylase, une zone transparente apparaîtra autour des colonies après l'ajout de la solution iodée, indiquant que l'amidon a été hydrolysé.
- Si les bactéries ne produisent pas d'amylase, le milieu restera de couleur bleue-noire en présence d'iode, car l'amidon n'aura pas été dégradé.

### **Précautions**

- Travailler dans des conditions stériles pour éviter toute contamination.
- Manipuler la solution iodée avec précaution car elle peut être irritante.

## **5. Conclusion**

Dans chaque TP il faut toujours respecter les règles de sécurité et la méthode de travail pour qu'on ait toujours un travail bien fait et un TP mieux retenue.

## 6. Compte rendu du travail

Après chaque TP, l'étudiant doit rédiger un compte rendu comprenant:

1. Page de garde.
2. Partie bibliographique.
3. Objectifs et buts de TP.
4. Matériel et méthodes.
5. Réponses aux questions.
6. Conclusion.

- Quelle est la couleur du milieu autour des colonies bactériennes après l'ajout de la solution d'iode ?
- Observe-t-on des halos clairs autour de certaines colonies ? Si oui, lesquels ?
- Que signifie la couleur bleue observée ?
- Qu'indique la présence d'un halo clair autour d'une colonie ?
- Quelles bactéries produisent de l'amylase ?
- Quel est le rôle de l'amylase ?
- Comment cette expérience permet-elle de mettre en évidence la production d'amylase par les bactéries ?
- Quelles sont les limites de cette expérience ?
- Quels sont les intérêts de cette expérience dans le domaine de la microbiologie ou de l'agroalimentaire ?