

CARATTERISTICHE METABOLICHE DEI MICRORGANISMI

UTILIZZAZIONE DELL' AMIDO



a cura di Massimo Trauzzola e Rossana Baglioni

OBIETTIVO:

Verificare la capacità dei microrganismi di utilizzare l'amido quale fonte di glucosio per il proprio metabolismo

PRINCIPIO:

La capacità dei batteri di idrolizzare l'amido, trasformandolo in destrine, maltosio e glucosio, dipende da una proprietà genetica dei batteri stessi: quella di produrre l'enzima amilasi

Utilizzando un terreno di coltura in cui è presente amido, è possibile rilevarne la presenza, dopo semina e incubazione, con il reattivo di Lugol, che si colora in blu. Non danno invece colorazione blu i prodotti di idrolisi dell'amido.

L'aggiunta del Lugol sulla coltura determinerà una colorazione blu se il batterio in esame non possiede l'amilasi, giallo-bruno o rosso se il batterio è amilasi +

MATERIALI E STRUMENTI:

MATERIALI BIOLOGICI

Colture microbiche di *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*

MATERIALI CHIMICI

Liquido di Lugol

TERRENI DI COLTURA

Starch agar (Nutrient agar, Amido solubile)

VETRERIA, STRUMENTI

Beuta, treppiede, piastre sterili monouso, ansa, provette, portaprovette, bilancia tecnica, autoclave, termostato, bunsen

METODICA (1ª FASE)

1



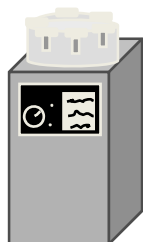
Preparare il terreno: soluzione al 10% di amido solubile in Nutrient agar fuso in ragione di 20ml di soluzione per 100ml di Nutrient agar.

2



Distribuire in 2 provettoni con tappo metallico (18-20 ml per provettone).

3



Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15'.

(2ª FASE)

1



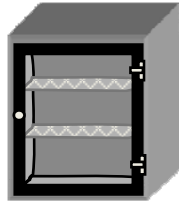
Piastrare in ambiente sterile.

2



Seminare solo metà di 2 piastre, una piastra con *Escherichia coli* e l'altra piastra con *Bacillus subtilis*.

3

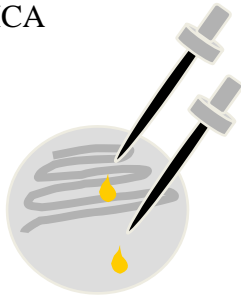


Incubare a 37° per 48 h.

METODICA

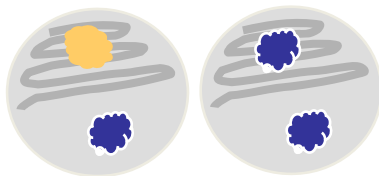
(3ª FASE)

1

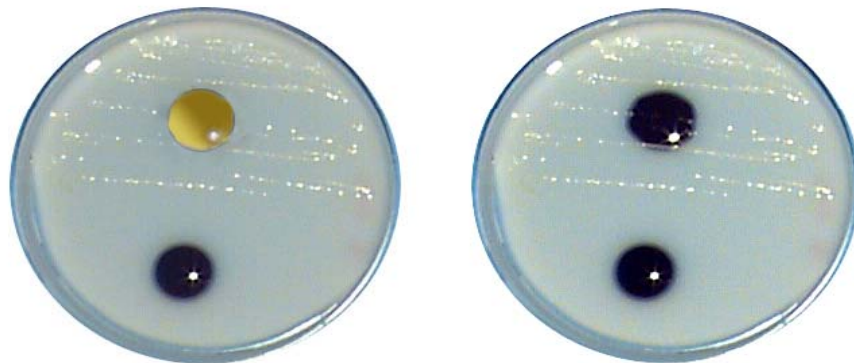


Aggiungere una goccia di Lugol sulla metà piastra seminata e una goccia sulla metà non seminata.

2



Una colorazione chiara denota che l'amido è stato idrolizzato, mentre la colorazione blu-azzurro rivela ancora presenza di amido.



Liquido di Lugol:

(soluzione iodo-iodurata) composto da 1 g di Iodio, 2 g di ioduro di potassio e 200 ml di acqua. La soluzione deve essere fresca perché con il tempo si decolora e acidifica per alterazione dello iodio.