

LE BOUILLON NITRATE

Recherche de la nitrate réductase

1. Intérêt

Ce milieu liquide permet de mettre en évidence la présence d'une enzyme du métabolisme énergétique : la **nitrate réductase**.

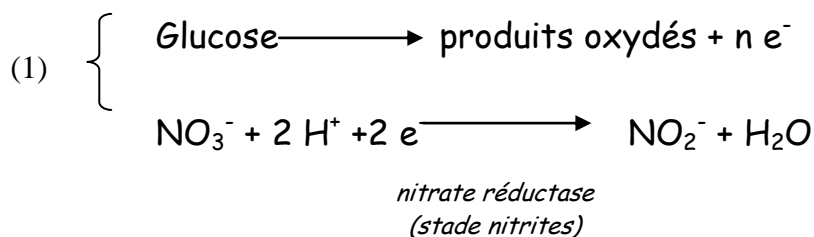
2. Composition

Bouillon nutritif additionné de nitrate de sodium (1%)

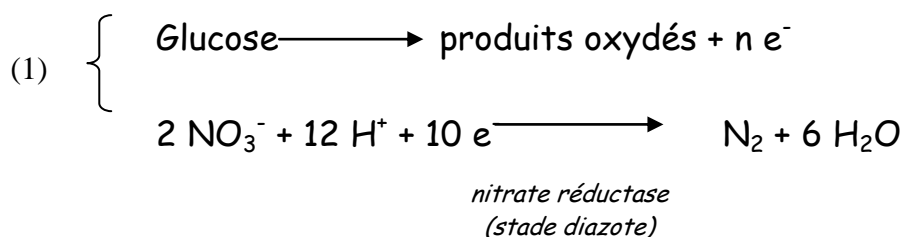
3. Principe

Dans la **respiration nitrate**, NO_3^- est utilisé comme accepteur final d'électrons provenant de l'oxydation d'un composé organique (ex : glucose). NO_3^- est réduit par la nitrate réductase :

- soit en nitrite NO_2^-



- soit en diazote N_2



La technique consiste donc :

- à mettre en évidence, dans un premier temps, la **présence éventuelle de nitrites** grâce au **réactif de Griess** (nitrite I = acide sulfanilique et nitrite II = α -naphtylamine) qui forme un complexe rouge foncé avec les nitrites.

Remarque : en présence d'autres composés azotés (N_2), le réactif conserve sa couleur jaune.

- à rechercher, en absence de nitrite, la **disparition des nitrates** en ajoutant du **zinc** qui catalyse la réduction des nitrates en nitrites alors mis en évidence par le réactif de Griess.

4. Technique d'ensemencement

- Ensemencer le bouillon nitraté avec quelques gouttes de suspension bactérienne.
- Incuber 24h à 37 °C.

5. Lecture

Après 24 heures d'incubation à 37°C :

- Vérifier que le bouillon est trouble (présence de culture)
- Ajouter le **réactif de Griess** (Nitrite I + Nitrite II).
- Observer la couleur du milieu.
- Ajouter du **zinc** selon le résultat de l'étape précédente et interpréter la couleur du milieu.

