**TP3 : production et dosage de la biomasse par fermentation non continue de la levure *Saccharomyces cerevisiae***

Le terme de biomasse désigne le matériel organique cellulaire des organismes dans une culture cellulaire (animaux, végétaux ou microbiens).

La biomasse microbienne représente l’ensemble des protéines d’organismes unicellulaire, elle peut etre une source de protéines (enzymes,…), des vitamines, des antibiotiques, des vaccins, additifs alimentaires, des aliments et des alcoolset d’autres molécules.

**But du TP**

* Réalisation de la fermentation de la souche Saccharomyces cerevisiae et obtention de sa biomasse.
* Dosage de la biomasse obtene via trois deux méthodes : turbidité et poids frais.

**Matériels utilisés**

* Levure de boulanger (saccharomyces)
* Erlenmayer de 250 ml (09)
* Milieu de culture PDB (1litre)
* Pipettes graduées de 1ml stériles (9pipettes)
* 2 tubes stériles contenant chacun 9 ml d’eau distillée stériles.
* Coton cardé
* Centrifugeuse
* Spectophotométre
* Etuve à agitation rotative à 30 °C, 120 tpm.

**Méthodes**

**1.préparation d’inoculum**

- prendre 1g de levure et faire dissoudre dans 9 ml d’eau distilée stérile

- Faire bien agiter jusqu’àl’obtention d’une suspension homogéne.

**2. réalisation de la fermentation**

- des Erlenmayer de 250ml contenant 100 ml du milieu liquide de PDB sont stérilisés à l’autoclave à 120 °C pendant 20min

- une culture de la souche est inoculée dans chaque Erlenmayer respectivement en raison de 1 ml de la culture dans chaque Erlen (9 Erlen).

- tous les Erlenmayer sont fermés avec du coton, du papier aluminium et étiquetés.

- les cultures sont mise à une incubation dans une étuve à agitation rotative à 30 °C, 120 tpm.

- la densité optique (DO) à 540 est mesurée à chaque demi-heure durant 4 h.

- le réglage de l’appareil s’effectue avec un milieu PDB stérile.

**3. Evaluation de la production de biomasse**

- la première mesure est prise directement après l’inoculation du premier Erlen avec 1 ml de la suspension bactérienne.

-prendre les valeurs de la DO de chaque culture et les enregister dans un tableau.

- Tracer la courbe d’évaluation de la production de la biomasse en fonction du temps.

4. quantification de la biomasse résolue

Une fois la prise de la DO est établie, on prend le reste de la culture qu’on le centrifuge à 3500 tr/min pendant 15 min. le culot obtenu est pesé pour déterminer le poids en biomasse en matière fraiche.

**Travail à réaliser**

* Tracer la courbe d’évaluation de la production de la biomasse en fonction du temps.

Lorsque DO=1 représente un nombre de germes de 106 UFC /ml, on peut donc estimer le nombre UFC correspondant à chaque DO et tracer un tableau et le graphe lui corespondant.

* déterminer le poids en biomasse en matière fraiche.