**TP 01 : Étude de la Croissance de *Saccharomyces cerevisiae* en Milieu Liquide avec Différentes Concentrations de Saccharose**

**1. Introduction :**

Ce TP a pour but d’étudier l’influence de différentes concentrations de saccharose sur la croissance de *Saccharomyces cerevisiae*. La levure est un microorganisme capable d'utiliser le saccharose comme source de carbone, et ce TP permettra d’observer sa croissance en milieu liquide après une incubation de courte durée.

**2. Objectifs :**

* Observer la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* en fonction de différentes concentrations de saccharose.
* Comparer l'impact de ces concentrations sur la densité optique (DO) mesurée après incubation.
* Comprendre la relation entre la disponibilité du saccharose et la croissance des levures.

**3. Matériel Nécessaire :**

* *Saccharomyces cerevisiae* (levure de boulanger)
* Saccharose
* Eau distillée stérile
* Tubes à essai ou flacons stériles (10 mL)
* Pipettes stériles
* Spectrophotomètre (pour mesurer la DO à 600 nm)
* Bain-marie ou incubateur (30°C)
* Chronomètre

**4. Protocole Expérimental :**

**Préparation du milieu :**

1. Préparer trois solutions de saccharose à différentes concentrations : 1%, 5%, et 10%. Pour cela, dissoudre respectivement 1 g, 5 g, et 10 g de saccharose dans 100 mL d'eau distillée stérile.
2. Distribuer 10 mL de chaque solution dans des tubes à essai stériles.

**Ensemencement des cultures :**

1. Préparer une suspension de *Saccharomyces cerevisiae* à une DO de 1 (600 nm) dans de l'eau stérile.
2. Ajouter 1 mL de cette suspension dans chaque tube contenant les différentes solutions de saccharose.
3. Agiter doucement les tubes pour homogénéiser.

**Incubation :**

1. Placer les tubes dans un bain-marie ou un incubateur à 30°C pour une durée de 30 minutes.
2. Agiter les tubes toutes les 10 minutes pour assurer une bonne aération.

**Prélèvement des échantillons :**

1. Après 30 minutes d’incubation, prélever des échantillons pour mesurer la densité optique (DO) à 600 nm à l’aide d’un spectrophotomètre.
2. Noter la DO initiale (avant incubation) et après l’incubation.

**Contrôles :**

* Un tube sans saccharose (eau stérile seulement) pour servir de contrôle négatif.
* Un tube sans levure pour mesurer la DO de la solution de saccharose seule (fond de DO).

**5. Observations :**

* Mesurer la densité optique des cultures avant et après l’incubation.
* Comparer les résultats obtenus entre les différentes concentrations de saccharose et les contrôles.

**6. Questions du Compte Rendu :**

** Pourquoi avons-nous utilisé différentes concentrations de saccharose dans cette expérience ?
 Comment la concentration de saccharose influence-t-elle la croissance de Saccharomyces** cerevisiae **?
 Pourquoi la DO augmente-t-elle après l’incubation ?
 Expliquez l'importance des contrôles dans cette expérience.
 Que pourrait-on observer avec des concentrations encore plus élevées de saccharose ?
 Quelle est l'influence de l’agitation sur la croissance des levures ?
 Comment utiliseriez-vous ces résultats pour une application biotechnologique ?
 Quels autres substrats que le saccharose pourraient être utilisés pour favoriser la croissance des levures ?
 Pourquoi avons-nous incubé les cultures à 30°C ?
 Quelles seraient les implications si l'incubation était prolongée au-delà de 30 minutes ?**

**7. Questions de calculs et d'analyse :**

1. **Calcul de la croissance relative :**

Calculer la **croissance relative** des levures pour chaque concentration de saccharose à partir des valeurs de DO mesurées avant et après l’incubation.

**Croissance relative=DO finale−DO initiale/DO initiale×100**

Quelle concentration de saccharose a montré la plus grande croissance relative et pourquoi à votre avis ?

1. **Taux de croissance spécifique (µ) :**

Pour une incubation de courte durée, le taux de croissance spécifique peut être approximé en utilisant la formule suivante : **μ=ln (DO finale)− ln(DO initiale)/Δt**

où Δt est le temps d'incubation en heures.

Calculez le taux de croissance spécifique (µ) pour chaque concentration de saccharose. Comment la concentration en saccharose influence-t-elle le taux de croissance spécifique ?

1. **Comparaison des ratios de DO :**

Comparez les ratios de DO finale à la DO initiale pour chaque concentration : **Ratio=DO finale/ DO initiale ​**

Quelle concentration de saccharose montre le meilleur ratio et que cela indique-t-il sur la capacité de *Saccharomyces cerevisiae* à utiliser le saccharose ?

1. **Extrapolation de la durée de la phase exponentielle :**

Si on suppose que la levure suit une phase de croissance exponentielle avec un taux de croissance constant, extrapolez le temps nécessaire pour doubler la DO à 600 nm à partir du taux de croissance spécifique (µ). Le temps de doublement (Td) peut être calculé par : Td=ln(2)/μ

Calculez le temps de doublement pour chaque concentration de saccharose. Comment ce temps varie-t-il en fonction de la concentration en saccharose ?

1. **Hypothèse sur la saturation du saccharose :**

 À votre avis, que se passerait-il si la concentration en saccharose dépassait 10 % ? La croissance de *Saccharomyces cerevisiae* augmenterait-elle indéfiniment avec plus de saccharose, ou atteindrait-elle un plateau ? Expliquez pourquoi.