

Le vivant

Nutrition

**Réf :
107 550**

Français – p 1

**Kit initiation à la microbiologie :
Les levures**

Version : 7102

1. Introduction

Utilisés depuis plus de 4000 ans, l'activité fermentaire des levures *Saccharomyces cerevisiae* intervient dans de nombreux processus de la fabrication des aliments (boulangerie, pâtisserie, boissons alcoolisées). On les utilise aussi dans la production de biocarburants, en industrie pharmaceutique.

Les levures sont des microorganismes eucaryotes unicellulaires, non photosynthétiques. Classées parmi les champignons, les cellules des levures possèdent un noyau contenant le matériel génétique.

Le métabolisme des levures présente 2 processus distincts : la respiration et la fermentation. Ces 2 processus donnent lieu à deux grandes catégories d'applications.

La respiration : en condition aérobie, les cellules de levure oxydent complètement le glucose en CO₂. Il y a donc dégagement de CO₂ dans l'environnement. Les activités proposées ont pour objet de mettre en évidence ce processus.

La fermentation alcoolique : en condition anaérobie, les levures ont la faculté de transformer les sucres simples en alcool.

Les kits Collège ont été conçus pour des manipulations en classe sans matériel particulier, les levures sont des microorganismes d'une parfaite innocuité et relativement résistants aux contaminations. Les conditions stériles ne sont pas obligatoires.

Les cultures sont réalisées en bouillons liquides, qui permettent une manipulation et un ensemencement facilité. La visualisation du développement cellulaire apparaît sous forme d'un trouble qui s'accroît avec la multiplication des levures.

Cependant, les activités ont pour objectif d'être une initiation aux techniques de microbiologie, c'est l'occasion de mettre en pratique quelques règles de bases dans l'organisation et les gestes afin de limiter les risques de contaminations des cultures.

- Le matériel et les tubes doivent être très propres et secs.
- En atmosphère non stérile, limiter les mouvements d'air créés par les déplacements et la respiration, réduire les temps d'ouverture des tubes.
- Les manipulations se font sur une paillasse préalablement désinfectée à l'eau de javel diluée ou avec un détergent désinfectant.
- Manipuler avec des gants pour éviter les contaminations.

Composition du kit - pour 10 postes :

- Sachet Levure lyophilisée (*Saccharomyces cerevisiae*)
- 60 tubes stériles*
- 20 pipettes compte-gouttes
- 200 mL Milieu de culture liquide (sans sucre)
- 5 gr de glucose
- 5 gr de saccharose

* Il est possible de réutiliser les tubes : les laver à l'aide de liquide vaisselle, bien les rincer et les laisser sécher à l'envers.

Stockage et conservation

Après ouverture, stocker le milieu de culture et les sachets de levure au réfrigérateur (1 mois maximum).

Le reste du kit peut être stocké à température ambiante.

2. Activités

2.1 Activité 1 : Observation de la respiration et mise en évidence du dégagement gazeux

Objectif : l'activité microbienne est mise en évidence, dans un premier temps, par la visualisation du dégagement gazeux témoin de sa respiration. Le métabolisme respiratoire est confirmé dans un second temps par la caractérisation du CO_2 à l'aide du test à l'eau de chaux.

Mise en bouillon de culture

Matériel nécessaire :

Tubes à hémolyse stérile (fournis)
Milieu (sans sucre) 3,5 mL environ / tube
Glucose 0.08 g / tube
1 à 2 grains de levure lyophilisée
Pipettes compte-gouttes
Coton cardé



Comment ajouter le glucose ?

2 solutions sont possibles :

- Peser 0,08 g pour chaque tube
- Ou plus pratique : réaliser une solution de glucose pour la classe 1,6 g pour 10 mL d'eau (stérile ou de bouteille minérale), puis ajouter 0,5 mL de cette solution à chaque tube

Pour un groupe d'élèves :

- 1 tube de milieu glucosé
- 1 témoin – milieu glucosé non ensemencé (ce tube peut être commun à la classe)

Lors de la mise en culture entre 25 et 35 °C, on observe rapidement (2 à 5 mn) un dégagement gazeux dans le milieu glucosé.

Caractériser le dégagement gazeux.

Matériel nécessaire :

- Enceinte (flacon / tuyau)
- Erlenmeyer ou bécher
- 20 mL Eau de chaux
- Milieu culture:
 - 20 mL Milieu de culture
 - 1 g de glucose
 - Levure

Ensemencement de 15 à 20 grains de levure lyophilisée

Observation du dégagement gazeux rapide à température ambiante

Enceinte + eau de chaux →



2.2 Activité 2 : Mise en évidence du rôle des sucres

Matériel nécessaire :

- 2 tubes par groupe
- 3,5 mL / tube de milieu minimum peptone, extrait de levure
- 0,08 g (mini) de Glucose pour un tube
- 0,08 g (mini) de Saccharose pour un tube

Préparation des solutions de saccharose ou de glucose, 2 solutions sont possibles :

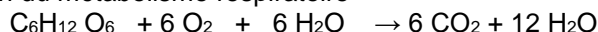
- Peser 0,08/ g pour chaque tube
- Ou plus pratique réaliser une solution de sucre pour la classe 1,6 g à 2 g pour 10 mL d'eau (stérile ou de bouteille minérale) puis ajouter 0,5 mL de cette solution à chaque tube

La manipulation

- 1 tube de milieu + glucose (on peut reprendre le tube de l'activité 1)
- 1 tube de milieu + saccharose
- 1 tube de milieu sans sucre
- 1 témoin – milieu glucosé non ensemencé (ce tube peut être commun à la classe)

Le milieu minimum apporte des protéines et lipides, ce qui n'est pas suffisant pour le développement. La levure a besoin d'une source de carbone apportée par le sucre (glucose ou saccharose).

Bilan du métabolisme respiratoire



2.3 Mise en évidence de la fermentation alcoolique

Matériel nécessaire :

- Enceinte (flacon / tuyau)
- Erlenmeyer ou bécher avec 40 mL eau de chaux ou d'eau
- Milieu culture:
 - 30 mL Milieu de culture
 - Levure (15 à 20) grains
 - 30 mL d'eau
 - 2 grammes de sucre (glucose et /ou saccharose)



En limitant le volume d'air dans le flacon, le milieu va se retrouver rapidement en condition anaérobie favorable au processus fermentaire.

Ce dispositif simple permet l'expulsion du dioxyde de carbone sans entrée nouvelle d'oxygène.

Le glucose est métabolisé très rapidement, contrairement au saccharose qui est plus lentement utilisé.

En 24 h, on constate que la solution est devenue trouble.

À l'ouverture du flacon, une odeur d'alcool se dégage, en laissant l'expérience se dérouler sur plusieurs jours ce phénomène s'accroît et l'odeur devient plus facile à caractériser pour les élèves.

Métabolisme fermentaire :



3. Service après-vente

Pour toute question, contacter le **Support Technique** au **0 825 563 563**.

JEULIN – S.A.V.

468 rue Jacques Monod

CS 21900

27019 EVREUX CEDEX France

0 825 563 563*

* 0,15 € TTC/min. à partir d'un téléphone fixe