

Étude de la correspondance entre le trouble du à la biomasse (atténuation à 600 nm) et la concentration en micro-organismes et la concentration en biomasse sèche.

Ce travail fait suite au travail « Mesure de la concentration en bactéries d'une suspension d'une souche pure *E. coli* K12 par comptage d'unités formant colonie (UFC) sur milieu solide. Mesure de biomasse sèche. Masse moyenne d'une bactérie » et en utilise certains résultats.

A disposition : culture de *E. coli* K12 (souche du groupe de risque 1) de 18 heures sur milieu LB (= culture Ec). Culture aérée, agitée, à 37°C. La croissance de la culture est terminée.

Note : milieu LB = milieu Luria Broth.

1. Mesure de la concentration en biomasse ([X]) par mesure du trouble (atténuation, OD), mise en évidence d'une relation linéaire $OD = f([X])$ avec limite de linéarité

OD : mesure du trouble du à la biomasse par mesure d'atténuation à $\lambda = 600$ nm. Utilisation d'un spectrophotomètre mono-faisceau pour les mesures.

Régler le spectrophotomètre à 600 nm et faire un zéro contre de l'eau. Mesurer l'atténuation (densité optique, optical density, OD) du milieu de culture stérile (OD_m). Et travailler selon les indications du tableau ci-dessous à compléter :

tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
culture Ec en mL	2	1	1	0,5	0,5	0,25	0,25	0,2	0,1	0,1	0,075
eau en mL	0	1	2	1,5	2	1,75	2,25	2,8	1,9	2,9	2,925
Dilution réalisée (d) = [X] en unités arbitraires	1	0,5									
Densité optique lue = OD_{lue}											
densité optique de biomasse = OD_x = $OD_{lue} - (OD_m \cdot d)$											

Conseils pour le compte rendu :

- Construire un schéma expliquant la nature exacte de la mesure de trouble réalisée (travail en groupe avec l'enseignant)
- Pour la souche, étudier la linéarité de la fonction $OD_x = f([X])$ sous forme graphique. [X] sera exprimé en unités arbitraires (avec, par exemple, la valeur 1 pour la suspension non diluée). Annoter le graphe. Donner la limite de linéarité.

2) Correspondance entre trouble de biomasse (par densité optique à 600 nm) et concentration en UFC et biomasse sèche

En utilisant les résultats du travail « Mesure de la concentration en bactéries d'une suspension d'une souche pure *E. coli* K12 par comptage d'unités formant colonie (UFC) sur milieu solide. Mesure de biomasse sèche. Masse moyenne d'une bactérie », donner la(les) règle(s) de correspondance entre atténuation à 600 nm et concentration en UFC et biomasse sèche pour la souche testée, dans le cadre d'une culture « jeune », avec le spectrophotomètre utilisé.

Risques, sécurité, gestion des déchets

Les manipulations proposées mettent en œuvre une souche du groupe 1. Les procédures classiques en usage dans le laboratoire (adapté aux bactéries du groupe 2) – et qu'il faut absolument connaître - sont donc plus qu'adaptées et suffisantes (par exemple la gestion des pointes de pipettes, des pipettes plastiques, des cuves pour photométrie chargées en micro-organismes, des milieux après incubation ...).

Lors de la manipulation du paragraphe 1, il convient de protéger la manipulation des contaminations (travail aseptique).

La manipulation n'exige pas une manipulation aseptique.

Bibliographie :

- Dossier technique de l'ingénieur, R2 355, Mesure de turbidité, Date de publication : 10/03/2009, Claude PELLETIER
- <http://zebu.uoregon.edu/2004/ph311/lec16.html> (consultation septembre 2020)
- IUPAC Gold Book, au terme « atténuation ».