

FSNVST

Département de Biologie

Module : Microbiologie appliquée et environnementale

Cycle : Master 2 Microbiologie appliquée

Chargée de module : Pr. GUETARNI H.

TP4 : Fermentation non continue et analyse quantitative de biomasse".

1. **But** : Dans ce tp, l'étudiant va apprendre comment produire par fermentation non continue une masse bien déterminée à partir de la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae*.

2. **Principe** :

La biomasse microbienne représente l'ensemble des protéines d'organismes unicellulaire d'où l'abréviation « POU ». La biomasse microbienne ou "Single Cell Protein"(SCP) peut être une source de protéines, des vitamines, des antibiotiques et plusieurs d'autres molécules. Elle est produite à l'échelle de l'industrie par fermentation. Dans le présent travail, la fermentation de cette levure sera par culture discontinue, réalisé dans un système fermé où la quantité du produit est limité. Après cette fermentation, la biomasse microbienne sera déterminée par la pesée.

3. **Mode opératoire** :

- Deux types de levure sont utilisés dans ce travail : Saf-instant et la levure de boulanger humide.
- Mettre 100 ml du milieu liquide PDB (Potato dextrose broth) dans chaque Erlenmeyer et fermer avec du coton cardé (3 Erlenmeyers pour la fermentation de la levure Saf-instant et 3 pour la levure humide).
- Stériliser par autoclavage le matériel suivant : tous les Erlenmeyers contenant le milieu PDB, 2 tubes stériles contenant chacun 9ml d'eau distillée et 9 Pipettes graduées de 1ml.

- Préparation de la pré- culture : Mettre 1g de levure dans 9ml d'eau distillée stérile et agiter (Vortex).
- Chaque Erlenmeyer est inoculé par 1ml de la pré-culture (inoculer puis refermer les Erlenmeyers dans des conditions bien stériles).
- Les cultures sont incubées dans une étuve à agitation rotative à 30°C, 120 tours/minutes.
- Dosage de la biomasse par la pesée : Peser le poids humide et le poids sec.
- Détermination du poids frais (matière fraîche) : Le reste de la culture est récupéré puis centrifugé à 3500 tours/minutes pendant 15 minutes . Le culot obtenu est lavé deux fois avec l'eau distillée stérilisée (centrifuger à chaque lavage). Ensuite, peser le culot pour déterminer le poids en biomasse en matière fraîche.
- Détermination du poids sec (matière sèche) : Faire sécher le culot dans une étuve à 75°C durant 18 à 24 h. Déterminer après le poids de la biomasse sèche (ou matière sèche).

4. Travail à faire :

- Tracer un tableau de biomasse.
- Rédiger un compte-rendu sur le présent tp.