

## 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 ».