

1. CHOIX D'UNE SOUCHE DE LEVURES POUR LA PREPARATION D'UN LEVAIN DE BRASSERIE

Au début de la phase de fermentation, le moût estensemencé avec un levain, c'est-à-dire une suspension de levures sélectionnées, avant d'être introduit dans les cuves de fermentation. **Ce levain est constitué par une culture de levures pure et riche de *Saccharomyces cerevisiae* présentant un bon % de viabilité.**

On se propose ici de choisir entre 2 levains L1 et L2 celui qui présente les meilleures qualités requises en vue de la fermentation.

Pour effectuer ce choix :

- Réaliser un examen microscopique approprié de chaque levain afin de détecter une contamination éventuelle.
- Sur le ou les levain(s) non contaminé(s), effectuer un dénombrement des levures par comptage au microscope en cellule de Malassez en présence de Bleu de Funk afin de déterminer la concentration cellulaire et le % de viabilité.
- Effectuer les dénombrements des levains non contaminés par culture en surface de milieu Sabouraud. Choisir 3 dilutions adéquates et réaliser les essais en double.
- Ensuite sur le ou les levain(s) suspects de contamination effectuer deux isolements : l'un pour ré isoler la levure en souche pure, l'autre pour isoler le contaminant et orienter son identification.

Compte rendu :

- *Donner les résultats expérimentaux*
- *Dire quel est le levain qui a été retenu et exposer les raisons de ce choix*
- *Orienter l'identification du ou des contaminant(s) éventuels du ou des levains et émettre des hypothèses quant à son ou leur identité en justifiant la réponse.*
- *Conclure*

2. ETUDE DE L'ACTION DES ULTRA VIOLETS SUR UNE SOUCHE DE LEVURES - DETERMINATION DE LA DL 50

OBJECTIF :

Etudier l'effet létal d'un rayonnement UV, effet dose dépendant, notion de DL50.

Maîtriser un protocole d'exposition aux UV.

Construire une courbe de survie et en déduire la DL50.

La souche utilisée est une souche de *Saccharomyces cerevisiae*.

PRINCIPE :

Plusieurs échantillons de levure à même concentration cellulaire sont exposés à des doses croissantes d'UV. Les échantillons sont ensuite étalés sur milieux gélosés afin de déterminer le nombre des survivants.

PROTOCOLE :

1. A partir d'une suspension de *Saccharomyces cerevisiae* de concentration connue (donnée en début de séance), préparer 10 mL d'une suspension à 10^3 cellules par mL.
2. Déposer 0,1 mL de cette suspension diluée au centre d'une boîte de milieu complet I puis étaler sur toute la surface avec un râteau ou des billes de verre. Ceci constituera une boîte témoin (à réaliser en double exemplaire).
3. Déposer 0,1 mL de la suspension diluée au centre d'une boîte de milieu complet I et exposer aux UV pendant 2 secondes (couvercle ouvert) puis étaler comme précédemment.
4. Répéter l'opération avec des temps d'irradiation croissants : 5, 8, 12, 20, 30, 50 et 80s (une boîte par essai).



Les rayonnements UV sont dangereux, porter des lunettes de protection et des gants lors des expositions !

Incuber les boîtes ensemencées 24 à 48 h à 30°C.

LECTURE :

- Compter le nombre d'UFC par boîte.
- Calculer le pourcentage de survivants pour chaque dose d'exposition (ici dose = temps d'exposition) par rapport aux résultats des boîtes témoins.
- Construire la courbe exprimant le nombre de survivants en fonction de la durée d'exposition aux UV et en déduire graphiquement la DL50 (dose létale 50%).