

Thème 3 – Chapitre 2 – Activité 1

CONTRÔLES DE PURETÉ, D'IDENTITÉ ET DE CAPACITÉ D'UN LEVAIN DE BRASSERIE

Éléments de réponse



ANALYSE DE L'ORGANIGRAMME

1.1.

Isoler le levain sur gélose nutritive et sur gélose Sabouraud permet de contrôler la pureté du levain et de comparer les caractéristiques macroscopiques des colonies de levure sur ces deux milieux de culture non sélectifs.

1.2.

Si le levain apparaît non pur (plusieurs types de colonies) après isolement sur gélose nutritive et gélose Sabouraud, il est nécessaire de réaliser un isolement sur gélose Sabouraud + chloramphénicol, car c'est un milieu sélectif des levures et moisissures grâce au chloramphénicol, antibiotique qui inhibe la flore bactérienne contaminante. Cet isolement permettra donc de purifier le levain contaminé.

2.1.

La préparation microscopique réalisée est un état frais ; son observation se fait à l'objectif x40 d'un microscope optique, avec une faible intensité lumineuse.

2.2.

Un auxanogramme est un test d'assimilation de molécules carbonées ou azotées comme seule source de carbone ou d'azote. L'identification de genre et d'espèce de la levure constituant le levain repose sur la mise en œuvre d'un auxanogramme au carbone. Les informations fournies par ce test seront une liste de molécules carbonées assimilables par cette espèce de levure comme seule source de carbone pour fabriquer toutes les molécules carbonées qui sont nécessaires à son fonctionnement cellulaire.

3.1.

$$V_{\text{glucide } 20\%} = (C_{\text{glucide } 1\%} \times V_{\text{HL}})/C_{\text{glucide } 20\%} = (10 \times 9 \cdot 10^3)/200 = 450 \mu\text{L} \text{ soit } 9 \text{ gouttes de pipette Pasteur (1 goutte de pipette Pasteur } \approx 50 \mu\text{L})$$

3.2.

Le milieu de Hugh et Leifson sera entièrement jaune après incubation, car la fermentation d'un glucide produit des acides organiques non volatils qui acidifient la totalité du milieu (en surface et en profondeur) et font virer l'indicateur de pH (le bleu de bromothymol) à sa teinte acide jaune.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1.1.

Après incubation, on n'observe qu'un seul type de colonie sur la gélose nutritive et sur la gélose Sabouraud. Les colonies présentes sur ces deux milieux gélosés ont un aspect macroscopique identique en dehors de leur taille ; on peut donc supposer que le levain est pur.

1.2.

La comparaison de la composition des deux milieux gélosés montre que la gélose Sabouraud est plus riche en molécules nutritives (plus de peptones et présence de glucose) et son pH acide de 5,7 est également plus favorable à la croissance des levures qui sont des micro-organismes acidophiles. Tous ces éléments expliquent la taille plus importante des colonies de levure sur la gélose Sabouraud par rapport à la gélose nutritive.

2.1.

Légende :

1 : cellule ovalaire de levure ; 2 : noyau eucaryote ; 3 : bourgeon.

2.2.

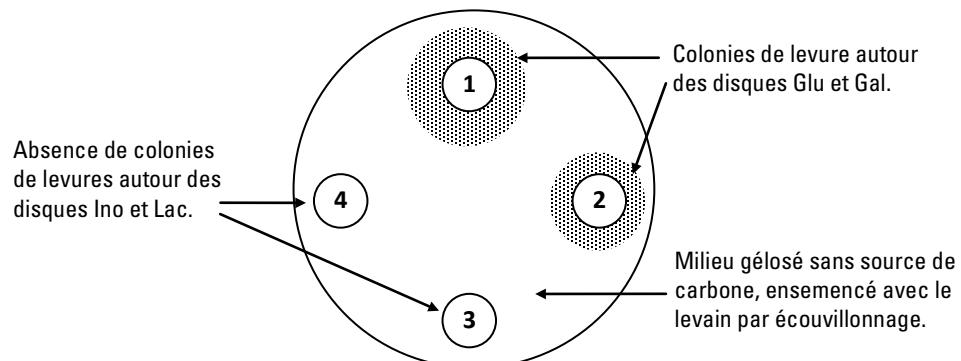
Sur le document 3 on observe des bourgeons à la surface de plusieurs cellules de levure ; le mode de reproduction observé est donc le bourgeonnement, mode de reproduction asexué de certaines espèces de levure.

2.3.

La galerie API 20C aux est un auxanogramme miniaturisé du carbone ; il se lit en comparant l'aspect des cupules tests avec celui de la cupule 0 (absence de culture) ne contenant pas de molécules carbonées. Si la cupule test (exemple cupule GLU) présente un trouble, cela implique qu'il y a eu culture donc que la levure testée est capable de se multiplier en présence de la seule source de carbone présente dans la cupule ; si la cupule test (exemple cupule INO) a le même aspect que la cupule 0, il n'y a pas eu culture, et la levure testée est incapable de se multiplier en présence de la seule source de carbone présente dans la cupule.

2.4.

Les cupules GLUcose, GALactose, INOsitol, LACTose donnent les résultats suivants en galerie API 20C aux : GLUcose +, GALactose +, INOsitol -, LACTose - ; donc en macro-méthode on obtiendra les résultats suivants : glucose disque 1 ; galactose disque 2 ; inositol disque 3 ; lactose disque 4.



2.5.

La lecture de la galerie API 20C aux identifie la levure appartenant à l'espèce *Candida guilliermondii*, or le levain de brasserie doit contenir les levures de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* ou *Saccharomyces boulardii* ; l'identité des levures du levain n'est pas celle attendue, il faut repartir de la forme lyophilisée de la levure.