

# Etape pour la fermentation et la spectrophotométrie

## Etape 2 et 3: Fermentation du glucose en éthanol par la levure.

### 1.4 Filtration de l'hydrolysats

Filtrer sous vide l'hydrolysats.



## 2. Fermentation

### 2.1 Préparation du milieu nutritif.

Voir la fiche du professeur.

### 2.2 Préparation de la sous-culture.

1. Ajouter 20 g de levure fraîche dans 50 mL du milieu nutritif et ajouter 50 mL d'eau distillée.
2. Remettre en suspension la levure.



### 2.3 Fermentation.

1. Remplir le fermenteur avec :
  - 800 mL du milieu nutritif
  - 800 mL de l'hydrolysats.
2. Commencer la fermentation avec les paramètres suivants:
  - anaérobie
  - 30 °C
  - 200 tours par min.
  - pH 4,5



Mettre 100 mL de sous-culture dans le fermenteur après réglage des paramètres.

## 3. Mesures photométriques.

### 3.1 Extraction d'un échantillon.

Les échantillons sont extraits au tout début ( $t_0$ ) et pendant la fermentation après 15 ( $t_1$ ), 45 ( $t_2$ ), 90 ( $t_3$ ) et 150 ( $t_4$ ) minutes.

1. Laver le tuyau d'extracteur d'échantillon avant chaque extraction d'échantillon et extraire 5 mL du milieu de fermentation.
2. Jeter les 5 mL.
3. Extraire 5 mL du milieu de fermentation encore une fois.
4. Pipetter 1 mL du milieu pour la mesure du glucose et d'éthanol (3.2.1) et un autre mL pour la mesure de la turbidimétrie (3.2.2) dans deux tubes.
5. Centrifuger le tube de glucose et d'éthanol pendant 1 minute à 14000 tours par min.
6. Après centrifugation, pipetter 500  $\mu$ L du surnageant dans un nouveau tube.
7. Congeler le tube à -20 °C jusqu'à la détermination photométrique du glucose ou de l'éthanol.

### 3.2 Détermination photométrique.

#### 3.2.1 Détermination de l'éthanol et du glucose.

Faites attention pendant la détermination de l'éthanol à:

1. Un bouchon doit être sur la cuve après chaque pipettage et pendant la mesure !
2. Déterminer la concentration de glucose et d'éthanol selon la fiche méthode (pipetting schemes).



#### 3.2.2 Détermination de la turbidimétrie.

1. Déterminer la valeur du blanc avec 1 mL de sous-culture à 600 nm.
2. Extraire 125  $\mu$ L des 1 mL de l'échantillon et ajouter les aux 875  $\mu$ L de la sous-culture.
3. Mesurer la turbidimétrie de l'échantillon à 600 nm et écrire les valeurs.