

II3 - Diversité et complémentarité des métabolismes
MALTOSE ET METABOLISME DES LEVURES (1 sonde + 2 éthylotests)

Fiche sujet - candidat

Les levures sont des organismes unicellulaires hétérotrophes régénérant leur ATP par un métabolisme respiratoire et/ou fermentaire à partir d'un substrat de type glucide. Le maltose est un glucide présent dans le moût de bière et dont la molécule est formée de deux molécules de glucose.

On cherche à déterminer si une certaine souche de levures utilise le maltose et si oui, par quelle(s) voie(s) métabolique(s).

Matériel : - une chaîne d'acquisition ExAO comportant une sonde à dioxygène et une enceinte, - un ordinateur et son imprimante, un logiciel d'acquisition et sa fiche technique - répertoire d'enregistrement : _ _ _ _ _	- une suspension de levures (10 g.L^{-1}) oxygénée au moins 24 heures avec un bulleur d'aquarium, une éprouvette graduée ou équivalent - une solution de maltose (10 g.L^{-1}), une seringue de 5 mL - 2 éthylotests, deux compte-gouttes ou équivalents
---	--

Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
1. Justifier sur la fiche réponse candidat la pertinence de l'utilisation de la sonde à dioxygène et des éthylotests pour étudier les différents types de métabolisme. <i>Répondre à la question 1 pendant les temps d'attente après avoir pris connaissance du sujet</i>	Comprendre la manipulation	2
2. Réaliser le montage en suivant les consignes de la fiche technique. Appeler l'examineur pour faire contrôler le montage	Réaliser une manipulation d'après un protocole et utiliser une chaîne d'ExAO	5
3. Démarrer la mesure des concentrations en dioxygène dans la suspension de levures en respectant les conditions indiquées dans le protocole fourni. Ajuster l'affichage de façon optimale ; enregistrer à l'emplacement indiqué par l'examineur. A la fin des mesures, tester la présence d'éthanol en suivant les consignes du protocole fourni. Appeler l'examineur pour vérification puis imprimer Demander un résultat de secours en cas de besoin	Réaliser une manipulation d'après un protocole et utiliser une chaîne d'ExAO respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée des fonctionnalités du logiciel adaptation de l'échelle des axes aux phénomènes	5
4. Titrer le graphique (ou le document de secours), le légender en fonction des conditions expérimentales, du résultat des éthylotests.	Traiter des données sous forme d'un graphique	4
5. À partir de l'exploitation de vos résultats d'expérience, indiquer si cette souche métabolise ou non le maltose et si oui par quelle(s) voie(s) métabolique(s) : respiratoire ou/et fermentaire. Justifier vos réponses.	Appliquer une démarche explicative	3
6. En fin d'épreuve, ranger le poste de travail et fermer le logiciel.	Gérer et organiser le poste de travail, respecter les consignes de sécurité	1

Réalisation du montage

(On réalisera les points 1 et 2 dans l'ordre qui convient en fonction du matériel)

- **Installer** dans l'enceinte la sonde à dioxygène, à mi hauteur.
- **Verser**, à l'aide d'une éprouvette graduée ou équivalent, la quantité de suspension de levures nécessaire pour remplir l'enceinte.
- **Fermer** l'enceinte en évitant toute bulle d'air au niveau de la sonde et **éponger** les débordements.
- **Lancer** l'agitation modérée.
- **Préparer** une seringue avec un volume de la solution de maltose adapté au volume de l'enceinte.

Volume approximatif de l'enceinte (ml)	5	10	15	20	25
Volume de maltose à injecter (ml)	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5

Appeler l'examineur pour faire contrôler le montage.

Acquisition des mesures

- **Choisir** les paramètres de la mesure (**durée = 10 minutes, teneur en O₂ affichée** ; si le logiciel le demande : temps total fixe, nombre de points de mesure 600)
- **Lancer** la mesure
- à t = 2 minutes, **ajouter** dans l'enceinte le maltose préparé dans la seringue (penser à mettre un repère sur le tracé)
- **Poursuivre** l'enregistrement durant le temps restant
- **Présenter** les résultats de façon optimale en jouant sur les fonctionnalités du logiciel
- **Enregistrer** votre résultat dans le répertoire et **imprimer** le graphe obtenu.

Test de la présence d'éthanol avant et après l'injection de la solution de maltose

Attention l'éthylotest contient un produit toxique

- **Percer** l'éthylotest aux deux extrémités
- **Prélever** avec un compte-gouttes ou équivalent de la suspension de levures au fond de l'enceinte et, **remplir** l'éthylotest.
- **Observer** la coloration obtenue (le virage bien net du réactif au vert caractérise la présence d'alcool, le test est alors positif)
- **Faire** le test avec un autre compte-gouttes ou équivalent sur la suspension de levures fournie initialement.

Remarques :

1 - Pour rendre plus fiable la comparaison des résultats, les deux tests seront réalisés en même temps, après l'acquisition des mesures, car la coloration obtenue éventuellement évolue avec le temps.

2 - On constate parfois une présence d'éthanol dans la suspension initiale sans maltose. Plusieurs explications sont possibles mais elles ne sont pas demandées dans ce sujet. Cette présence initiale sera considérée ici comme négligeable et seule l'interprétation de la comparaison des deux tests sera prise en compte (différence significative ou non significative)