



THEME 1 - La Terre, la vie et l'évolution du vivant  
**TP7 - Le métabolisme hétérotrophe : respiration et fermentation**



Les **levures** sont des champignons unicellulaires qui se développent notamment à la surface des fruits (prune) et sont capables de transformer le sucre en alcool (**éthanol**) : c'est la **fermentation**. Gilles est producteur de vin de Marcilly-le-Chatel (42) et souhaite passer au **label biologique**, ce qui impose d'utiliser uniquement les levures « indigènes » qui sont naturellement présentes sur le fruit lors de la récolte. Il fait donc appel à vous pour déterminer si les levures indigènes peuvent être utilisées pour produire du vin biologique.

**Problématique : Les levures indigènes peuvent-elles être utilisées pour faire du vin biologique ?**

<p><b>Matériel :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Documents 1 à 4 et Manuel BELIN p36-37</li> <li>- Matériel ExAO Eurosmart : bioréacteur, sondes O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> et éthanol (<b>Attention FRAGILE !</b>)</li> <li>- PC équipé du logiciel LatisBio nécessaire pour l'acquisition ExAO</li> <li>- Souches de levure indigène à tester + Solution de glucose</li> </ul>	<p><b>Aide :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Fiche protocole : réaliser une mesure ExAO</i></li> <li>- <i>Fiche méthode : Analyse de documents</i></li> <li>- <i>Fiche Coup de pouce : Comprendre un graphique ExAO</i></li> <li>- <i>Schéma de levure (échanges)</i></li> </ul>
--	--

Activités à réaliser	Compétences évaluées & Critères de réussite
<p>➤ <b><u>ETAPE 1 : Proposez une stratégie expérimentale</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Identifiez une stratégie qui permet de déterminer si la souche de levure indigène peut être utilisée par Gilles.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>📞 Appelez le professeur pour vérification</b></p> <p>➤ <b><u>ETAPE 2 : Mettez en œuvre le protocole proposé</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Réalisez l'expérience ExAO permettant de montrer la quantité d'alcool produite par la levure indigène, ainsi que les taux de dioxygène du milieu.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>📞 Appelez le professeur pour vérification</b></p> <p>➤ <b><u>ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats sous la forme la plus appropriée</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Imprimez le graphique obtenu puis annotez le (titre, légende, réactions identifiées)</li> <li>- <i>Schématisez une cellule de levure et les échanges réalisés (facultatif)</i></li> </ul> <p>➤ <b><u>ETAPE 4 : Répondez au problème initial</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Rédigez un texte qui rappelle ce qui a été observé, ce que l'on sait et ce qu'on peut conclure quant aux levures</li> </ul> <p><b>En fin de séance, rangez le matériel, nettoyez la paillasse et fermez la session informatique</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>Concevoir une stratégie expérimentale</b></p> <p><i>Comprendre ce qu'on doit faire (Quoi ?), comment on peut le faire (comment ?) et ce à quoi on s'attend (Attendu ?).</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Réaliser la manipulation en suivant le protocole</b></p> <p><i>Travailler calmement, vérifier le bon branchement des sondes, leur placement correct, vérifier la vitesse d'agitation, injecter le glucose doucement.</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Analyser, extraire des informations</b></p> <p><i>Identifier les réactions métaboliques ayant lieu au cours de l'expérience en analysant le graphique obtenu. Comparer avec les autres levures étudiées (document 4).</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Adopter une démarche explicative</b></p> <p><i>Identifier les éléments qui induisent des modifications du métabolisme des levures (environnement, patrimoine génétique). Relier les réactions aux organites présents (mitochondrie)</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Gérer le poste de travail</b></p> <p><i>Le matériel doit être propre et la paillasse rangée.</i></p>

## Protocole : Mise en évidence des réactions de production d'énergie par les levures

- Avant de commencer, **vérifier que le matériel est branché et allumé**
- Démarrez l'ordinateur et connectez-vous à une session informatique

### **1- Réalisez le montage ExAO**

- **Placez la suspension de levures** dans l'enceinte (bioréacteur) : **remplir** le compartiment central
- **Mettez en place l'agitation** (pas trop intense pour ne pas former de bulles)
- **Refermez l'enceinte (vérifier le sens !)**
- **Placez les sondes** disponibles (sonde à O<sub>2</sub>, sonde à CO<sub>2</sub> / pH et sonde à éthanol)
- Paramétrez les sondes pour une acquisition en **milieu liquide** (mg/mL et non %)
- **Préparez une seringue de glucose** contenant 1 mL de solution de glucose

**Appeler le professeur pour vérification**

### **2- Réalisez l'acquisition de données**

- Lancez l'acquisition pour un total de **20 minutes**
- A **t=2 minutes**, **injectez doucement** la solution de glucose (ne pas faire de bulle sinon on injecte aussi de l'O<sub>2</sub> !)
- Au même moment, **placez un marqueur sur le graphique d'acquisition**
- En fin d'expérience, **adaptez les échelles** de votre graphique
- Imprimez votre production

**Appeler le professeur pour vérification**

### **3- Nettoyez et rangez**

En fin d'expérience,

- **Rincez les sondes à l'eau distillée** et remettez les en place comme en début de la séance
- **Récupérez l'agitateur** magnétique et videz la suspension de levure à l'évier
- **Rincez le bioréacteur à l'eau distillée**
- **Remettez le matériel en place** comme en début de la séance

**Appeler le professeur pour vérification**

## Document 1 : La vinification et les levures indigènes

Après les vendanges, le viticulteur récolte du raisin qui est recouvert d'une fine pellicule blanchâtre : la **pruine** (bien visible sur la photo ci-contre). Dans ce dépôt très fin, se trouvent des levures appelées **levures indigènes** (présentes naturellement). Lorsque les raisins sont pressés, les levures indigènes se retrouvent donc dans le jus de raisin et peuvent alors fermenter.

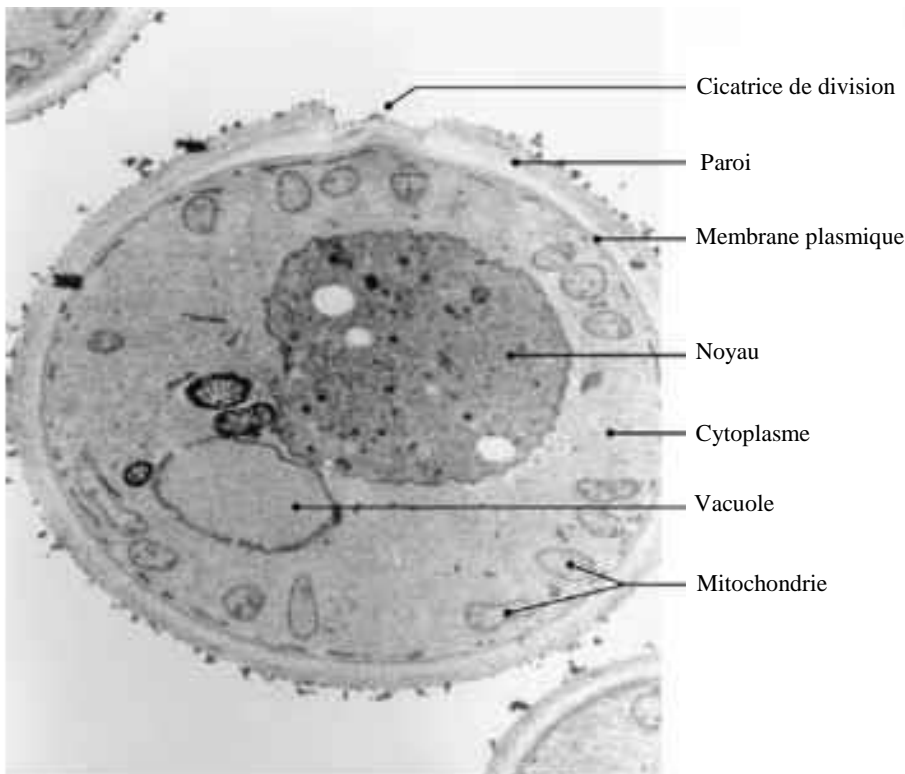
Les producteurs de vin biologique (biodynamie) utilisent uniquement cette levure indigène pour produire leur vin. Le vin est produit plus lentement et peut varier au niveau du goût mais il est naturel et gage que le viticulteur n'a pas employé de pesticides ou herbicides qui se retrouveraient dans la pruine.

Cependant, de nombreux industriels estiment que les levures indigènes ne sont pas satisfaisantes. En effet, ils trouvent que ces levures sont souvent moins efficaces et produisent moins d'alcool. Il arrive qu'elles **produisent des acides** qui rendent le vin moins bon voire même mauvais et invendable. Ainsi, les grands producteurs ont tendance à stériliser le jus de raisin et à ajouter **une souche de levure spécialement conçue pour la production de leur vin**. Cela leur assure une production rapide, satisfaisante, sans risque et standardisée (toujours le même goût, même degré d'alcool ...).

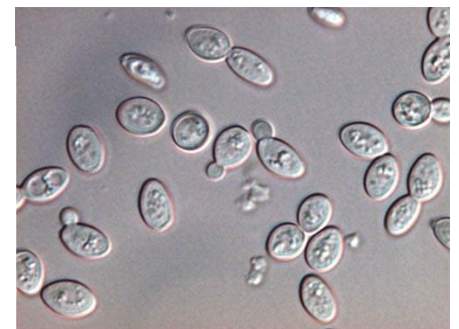


## Document 2 : Observations en microscopie électronique de cellules de levures

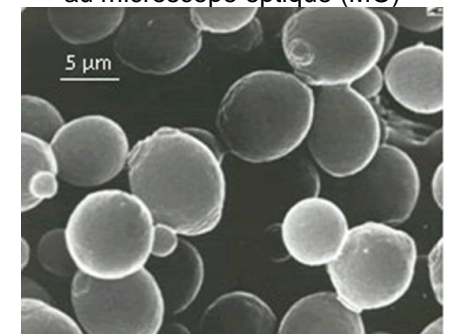
La levure est formée par une seule cellule (**unicellulaires**) ovoïde. Elle contient un **noyau** (cellule **eucaryote**) et contient des **mitochondries** qui lui permettent de réaliser la **respiration cellulaire**. On a constaté que les levures qui effectuent la **fermentation alcoolique** n'ont plus de mitochondries, ce qui permet de dire que cette réaction a lieu dans le **cytoplasme**.



Photographie d'une levure observée au microscope électronique à transmission (MET)

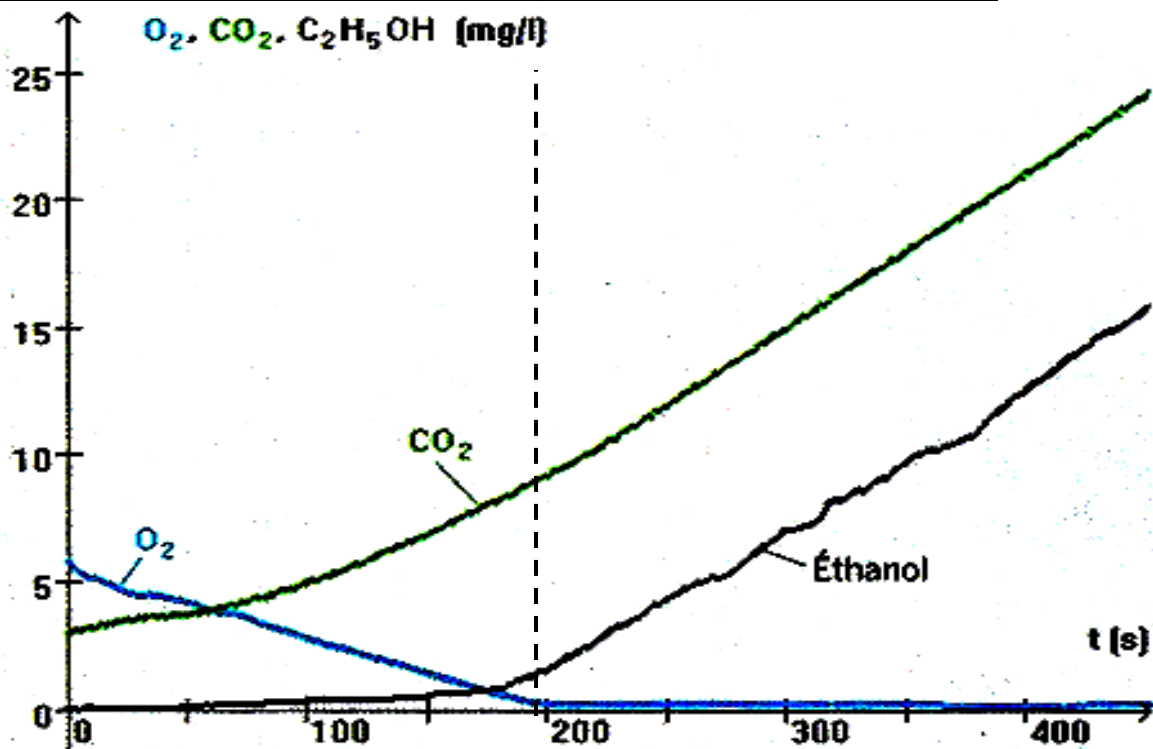


Photographie de levures observées au microscope optique (MO)

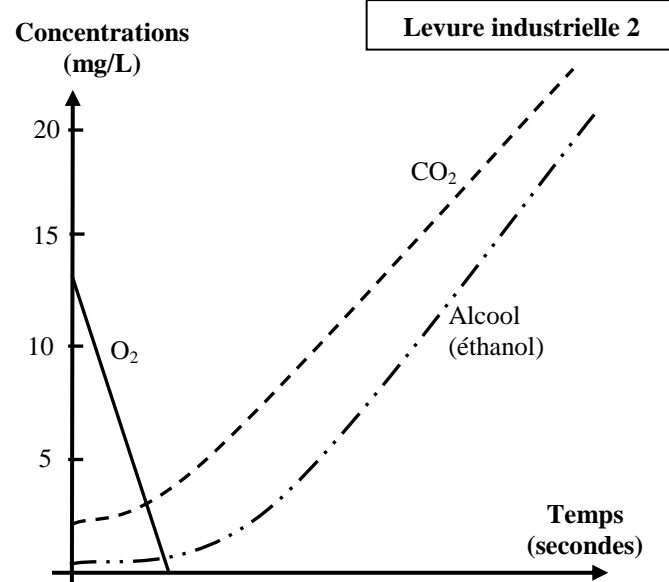
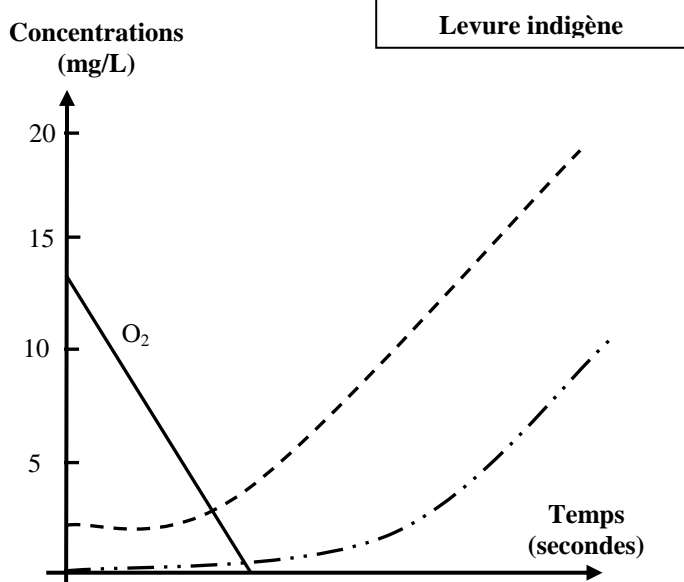
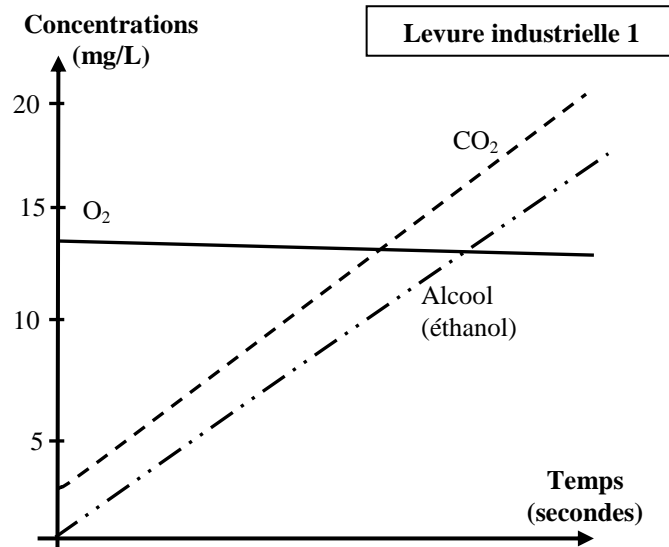
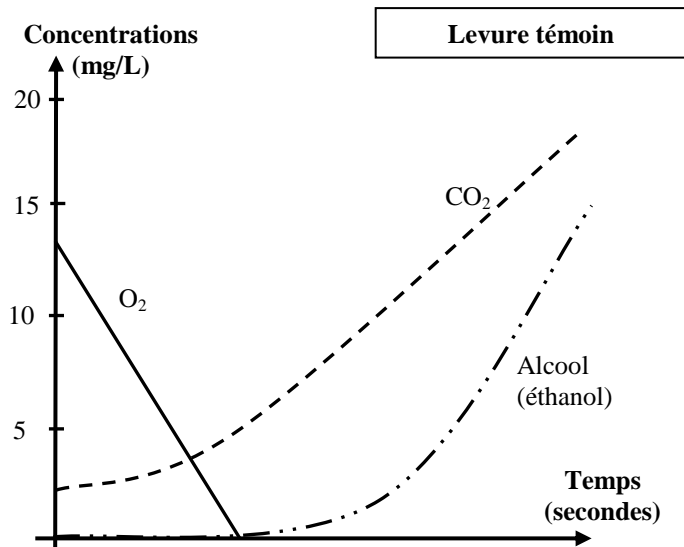


Photographie de levures observées au microscope électronique à balayage (MEB)

**Document 3 : Graphique ExAO montrant les réactions métaboliques d'une levure**



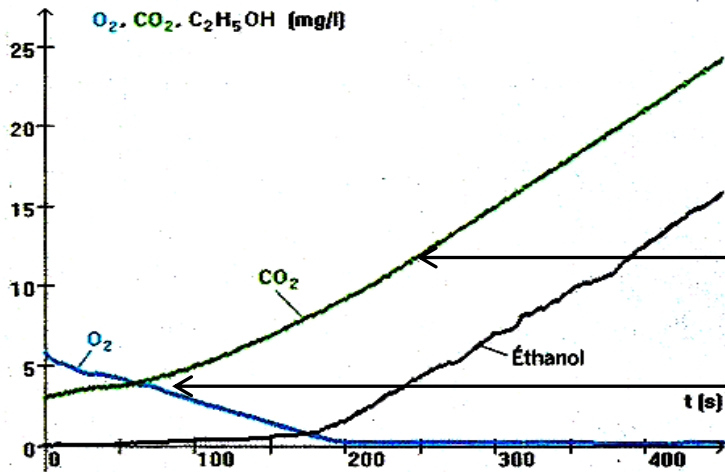
**Document 4 : Comparaison des réactions de 4 levures testées**





## Document Coupe de pouce : Comprendre un graphique ExAO

Pour comprendre un graphique ExAO, il faut identifier les variations des éléments testés. Tout élément qui augmente dans le milieu est produit alors que ce qui diminue est consommé. On peut alors déduire les réactions produites par les cellules, comme dans l'exemple ci-dessous.



1- Je vois que ...

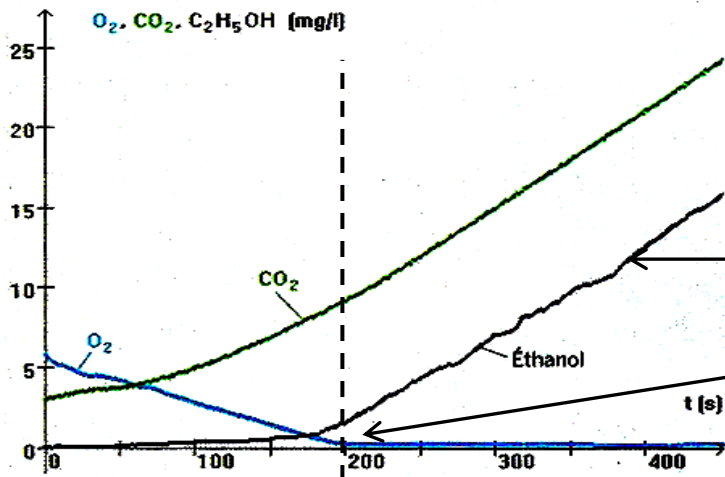
Augmentation de  $CO_2$   
→  $CO_2$  est PRODUIT

Diminution d' $O_2$   
→  $O_2$  est CONSOMME

2- Je déduis que ...

La cellule effectue la **respiration cellulaire**  
 $Glucose + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O + \text{énergie}$

Il faut souvent envisager que les cellules vont changer de réaction chimique à cause d'un élément qui vient à manquer par exemple. Il faut donc vérifier les **différentes phases** présentes sur le graphique.



1- Je vois que ...

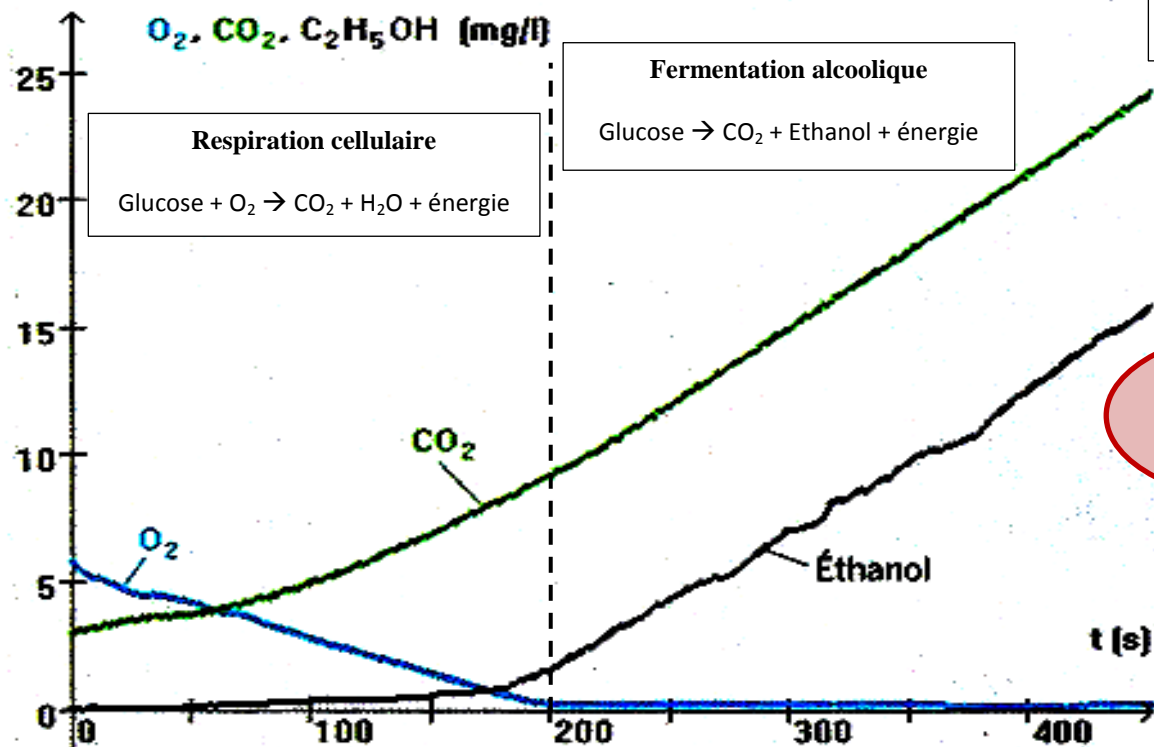
Augmentation de l'éthanol  
→ Éthanol est PRODUIT

$O_2$  a disparu  
→ Plus de respiration

2- Je déduis que ...

La cellule effectue la **Fermentation alcoolique**  
 $Glucose \rightarrow CO_2 + Éthanol + \text{énergie}$

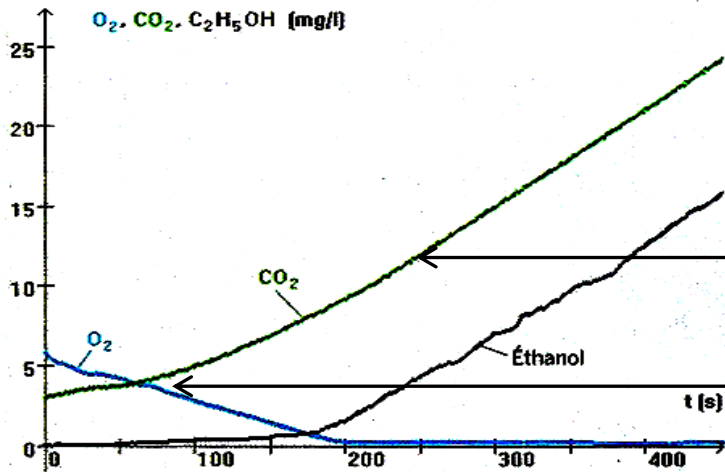
Cette réaction débute à 200 secondes environ.



3- J'annote sur le graphique

## Document Coupe de pouce : Comprendre un graphique ExAO

Pour comprendre un graphique ExAO, il faut identifier les variations des éléments testés. Tout élément qui augmente dans le milieu est produit alors que ce qui diminue est consommé. On peut alors déduire les réactions produites par les cellules, comme dans l'exemple ci-dessous.



1- Je vois que ...

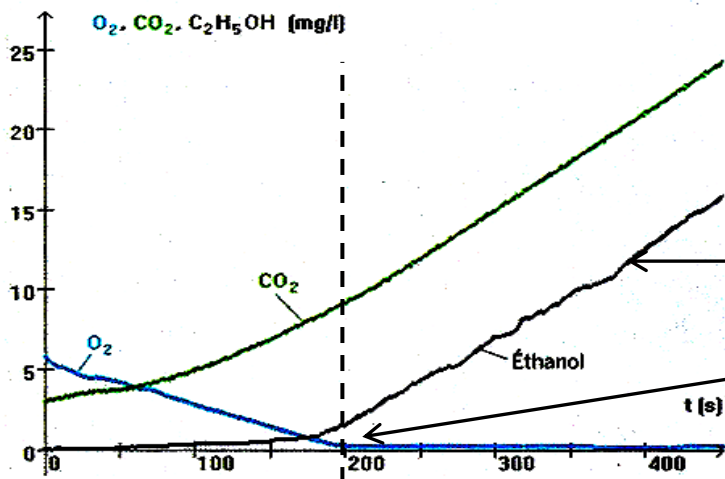
Augmentation de CO<sub>2</sub>  
→ CO<sub>2</sub> est PRODUIT

Diminution d'O<sub>2</sub>  
→ O<sub>2</sub> est CONSOMME

2- Je déduis que ...

La cellule effectue la **respiration cellulaire**  
**Glucose + O<sub>2</sub> → CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + énergie**

Il faut souvent envisager que les cellules vont changer de réaction chimique à cause d'un élément qui vient à manquer par exemple. Il faut donc vérifier les **différentes phases** présentes sur le graphique.



1- Je vois que ...

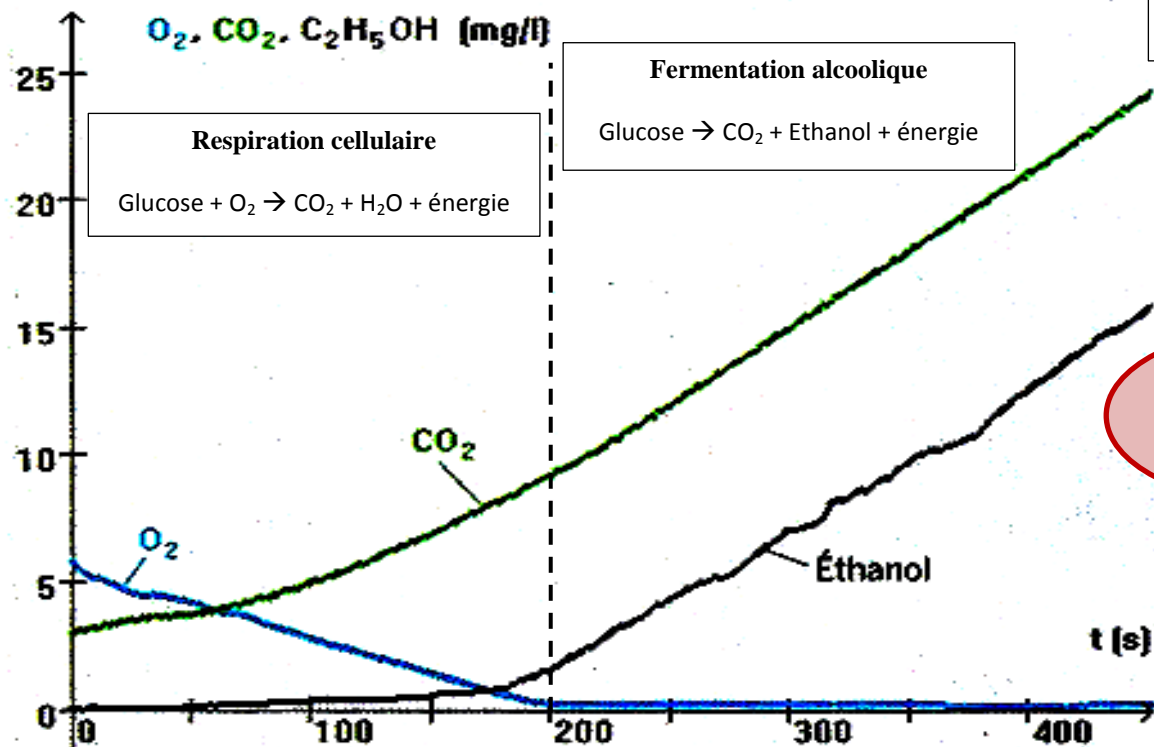
Augmentation de l'éthanol  
→ Ethanol est PRODUIT

O<sub>2</sub> a disparu  
→ Plus de respiration

2- Je déduis que ...

La cellule effectue la **Fermentation alcoolique**  
**Glucose → CO<sub>2</sub> + Ethanol + énergie**

Cette réaction débute à 200 secondes environ.



3- J'annote sur le graphique

