

# Introduction

---

L'OD600 est une mesure utilisée en biologie, qui permet de représenter une croissance d'une culture de bactéries sur plusieurs heures. Il s'agit de mesurer l'absorbance de la suspension bactérienne à 600nm, qui doit être caractérisée par 3 phases distinctes :

- « lag phase » : les bactéries se préparent à se multiplier, on observe donc une absorbance quasi constante pendant la première heure.
- « log phase » : une croissance exponentielle du nombre de bactéries, l'absorbance augmente donc fortement pendant cette période.
- « stationary phase » : phase pendant laquelle le taux de croissance/mort se compensent, la quantité de bactérie stagne et donc l'absorbance ne varie pas ou peu.

On propose ici d'étudier la bactérie *E. Coli* et d'essayer de mesurer l'absorbance à une longueur d'onde différente de la conventionnelle 600nm. En effet, le choix du 600nm est un choix « historique » mais tout autre choix de longueur d'onde compris entre 300 et 800nm devrait fonctionner.

## Expérience

---

Préparation du milieu de culture :

- On compte environ 20g de poudre LB pour 1 litre d'eau. Pour cette expérience, on va donc dissoudre 2g de poudre dans 100g d'eau. Bien agiter.
- Faire chauffer la solution à environ 100 °C pendant 15min pour bien la stériliser et faciliter la dissolution de la poudre.
- Laisser refroidir avant de l'utiliser. Verser ensuite le medium dans la cuvette du spectrophotomètre.

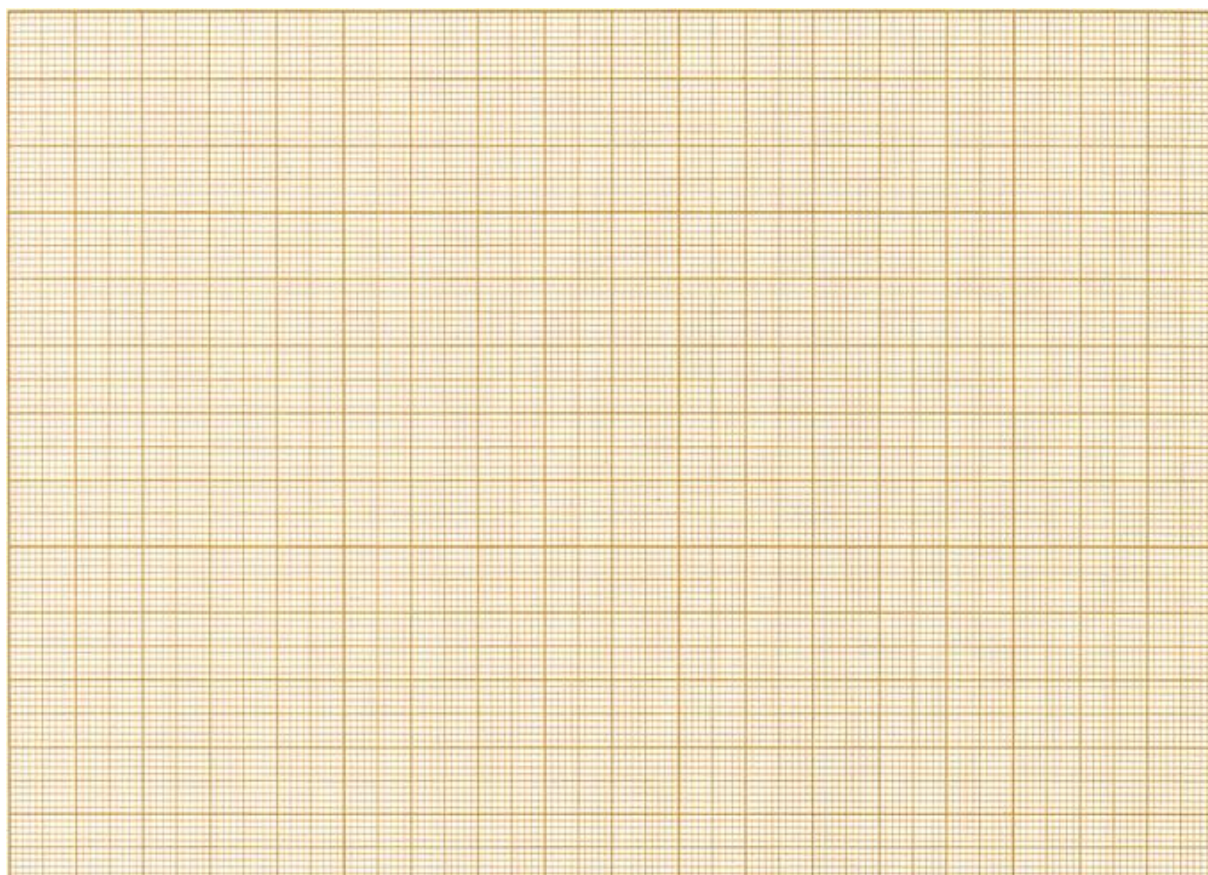
Pour le spectrophotomètre, on vise une mesure toutes les 30min, régler donc le temps inter-expérience à 1790s. Effectuer le blanc avec le LB medium avant d'y ajouter la souche bactérienne. Le choix de la longueur d'onde (R,G ou B) est libre. Avec un ordinateur, il est possible de récupérer les données des 3 couleurs et de pouvoir comparer les 3 directement.

Préparation de la suspension :

- A l'aide d'une pipette pasteur stérilisée, prélever une souche de *E. Coli* et la déposer dans la cuvette du spectrophotomètre.
- Régler l'incubateur sur 37 °C et 150rpm. Laisser incuber pendant la nuit, et revenir le lendemain pour noter les résultats. Une durée de 10h est suffisante pour distinguer les 3 phases.

Temps(s)	Absorbance

Tracer la droite sur Excel ou alors directement sur papier millimétré :



# Analyse

---

Arrivez-vous à bien distinguer les 3 phases typiques de la croissance bactérienne ?

Pourquoi ne peut-on pas en revanche effectuer un « OD250 », c'est-à-dire une mesure de l'OD dans l'UV ?