



2019	SL01
Cours	La turbidimétrie

Introduction

Dans un liquide, comme l'eau, les particules peuvent se trouver sous deux états :

- Dissoutes : elles sont invisibles, comme les ions ou le saccharose ;
- En suspension : elles ne peuvent pas se dissoudre dans l'eau et restent en suspension.

On peut noter qu'une particule soluble peut passer en suspension, au-delà d'une certaine valeur, la limite de solubilité (exprimée en g/L). La solubilité dépend de la température (augmente avec la température) et de la nature du solvant.

Ex : pour NaCl, dans une eau pure à 0°C, la limite de solubilité est de 357 g/L. Si on verse 400 g de NaCl dans une eau pure à 0°C, 357 g seront solubilisés et 43 g passeront en suspension.

Bertrand Faurie – 2020

Turbidité

La norme NF EN ISO 7027, de mars 2000, définit la **turbidité** comme **une réduction de la transparence d'un liquide par la présence de particules non-dissoutes** (donc en suspension).

Il est possible d'observer directement cette turbidité au laboratoire :

- Une suspension bactérienne très développée ;
- Une riche suspension de levure ;
- Les étalons de Mac Farland.

Intuitivement, on remarque que plus une suspension est riche en cellules et plus sa turbidité augmente. Ainsi, on peut assimiler **la valeur du trouble** provoqué par des cellules en suspension (bactéries ou levures), à **une concentration en cellule**.

Dans le cas du laboratoire, la turbidité sert uniquement à la détermination de la concentration en bactéries d'une suspension.

La mesure de la turbidité

1 – Qualitative

Les étalons de Mac Farland sont un moyen de mesurer la turbidité d'une suspension bactérienne. Par comparaison avec un étalon défini, on peut **estimer** la concentration d'une suspension bactérienne (voir FT00-PREP01). Le résultat est peu précis mais suffisant pour certaines applications, comme la préparation des galeries d'identification ou l'ensemencement de certains milieux de culture.

2 – Quantitative

Il arrive souvent qu'une estimation de la concentration en bactérie ne soit pas suffisante. Pour des **applications biotechnologiques industrielles** ou du **contrôle-qualité**, il est nécessaire de connaître avec précision la concentration en bactéries dans une solution (voir norme 98/83/CE concernant la qualité des eaux destinées à l'alimentation humaine).

Il faut donc pouvoir mesurer avec précision la turbidité de la solution contenant les bactéries, et transformer cette mesure en une concentration fiable.

L'approche technique la plus simple repose sur la lumière : la turbidité observée dans une solution (perte de la transparence) est forcément liée à une interaction entre les particules en suspension et la lumière !

Utilisons donc la lumière pour mesurer la turbidité (document 01) :

- Dans une solution d'eau pure, le rayon lumineux issu d'une source, traverse le milieu (eau dans une cuve de spectrophotomètre) et heurte le détecteur photosensible, sans qu'il n'y ait de perte.

→ **L'intensité du rayon lumineux reçu est identique à l'intensité du rayon lumineux émis = l'absorbance est donc nulle. Rien, dans le milieu, n'a absorbé le rayon lumineux.**

- Dans une solution troublée par des particules en suspension, le rayon lumineux émis par la source sera en partie arrêté par les particules. Un rayon lumineux affaibli heurte le détecteur photosensible.

→ **L'intensité du rayon lumineux reçu est plus faible que l'intensité du rayon lumineux émis = l'absorbance n'est pas nulle.**

Des particules, dans le milieu, ont absorbé une partie du rayon lumineux.

Plus il y a de particules dans le milieu, plus il y a absorption de la lumière, plus l'absorbance augmente.

Définition : l'absorbance d'un milieu correspond à la réduction de l'intensité d'un rayon lumineux, pendant son trajet à travers le milieu.

Si I_0 correspond à l'intensité du rayon émis et I correspond à l'intensité du rayon reçu, alors :

$$Abs = -\log_{10} \frac{I}{I_0}$$

La conversion en concentration

L'absorbance correspond à la réduction d'un rayon lumineux, elle est donc assez éloignée de la notion de concentration, même si l'absorbance va dépendre de la concentration de départ.

En revanche, il est possible d'établir une corrélation entre l'absorbance et la concentration en bactérie d'une suspension, si on introduit une méthode tierce de comptage :

1. Je prépare une suspension bactérienne ;
2. Je réalise une mesure de l'absorbance de cette suspension, j'obtiens une valeur ;
3. Je réalise un ensemencement en surface avec la même suspension, et je compte les UFC ;
4. Je répète l'opération plusieurs fois, avec différentes dilutions de la même suspension ;
5. Je compile les résultats sous la forme d'un graphique (document 02).

Cette approche a permis de déterminer qu'une valeur de 0.1 d'absorbance, à 600 nm de longueur d'onde, correspondait à 10^9 bactéries par mL.

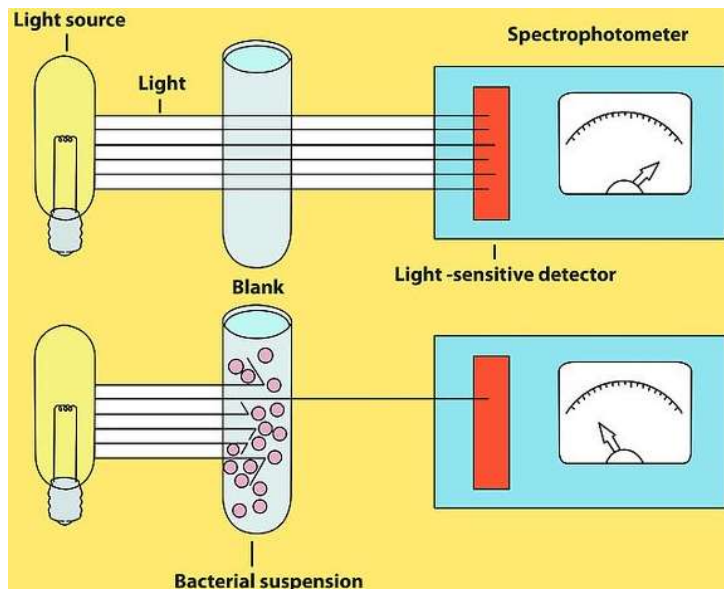
Note 1 : la notion de longueur d'onde sera vue plus tard. Pour l'instant, vous acceptez ce chiffre sans trop discuter...

Note 2 : la turbidimétrie prend en compte toutes les cellules, mortes et vivantes. Alors que l'ensemencement en surface ne fait apparaître que les cellules vivantes. Il y a donc une petite approximation, qui est tolérée ;

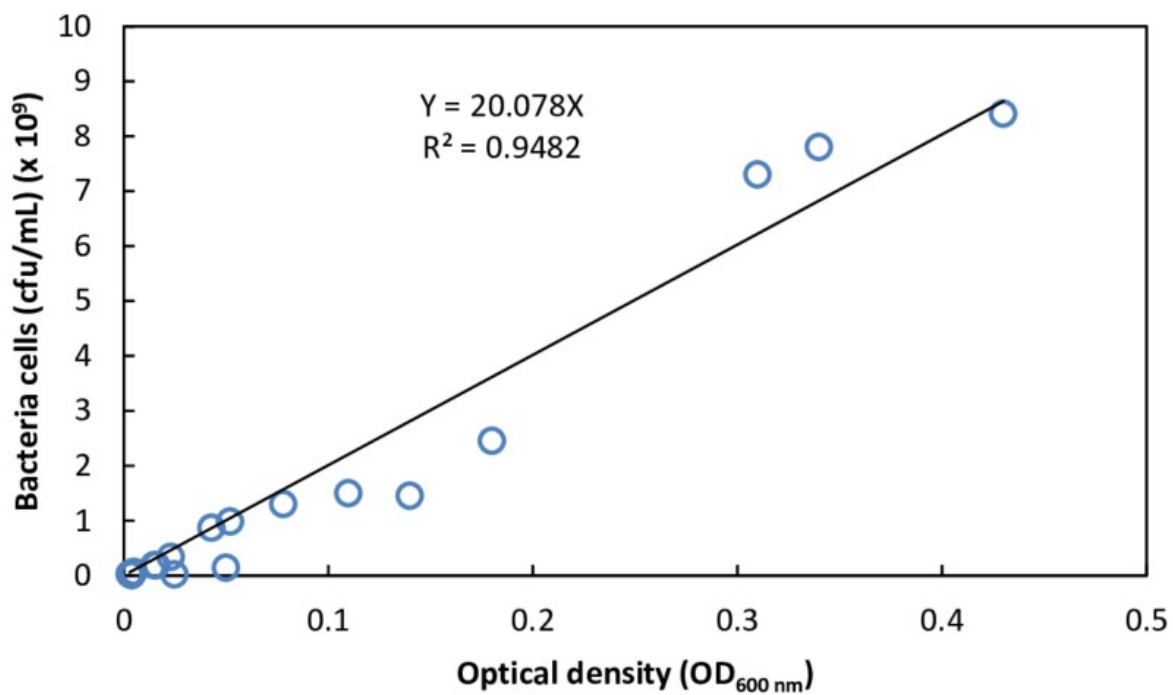
Note 3 : la relation entre l'absorbance et le nombre d'UFC par mL n'est pas linéaire. La proportionnalité s'arrête vers 0.5 d'absorbance ;

Note 4 : on ne parle pas d'absorbance des bactéries, mais de densité optique (DO) à laquelle on associe la longueur d'onde utilisée. Dans le cas de la mesure de la turbidité d'une solution bactérienne, on utilise donc l'expression DO_{600nm} .





Document 01. Principe de la mesure de la turbidité, à l'aide d'un spectrophotomètre.



Document 02. Corrélation entre l'absorbance et la quantité d'UFC par mL.