Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

ÉPREUVE E5. UNITÉ U51
Techniques de biochimie

CONTRÔLES QUALITÉ AU SEIN D'UNE CHAÎNE DE PRODUCTION EN BRASSERIE (80 points)

La bière est une boisson obtenue par fermentation d'un moût fabriqué avec du malt d'orge et du houblon.
On se propose d'effectuer un contrôle qualité à différents points de la chaîne de production :

- Analyse de la qualité de l'amidon de maïs ajouté dans la cuve à trempe lors de l'empatage. En effet, une dégradation prématurée de l'amidon peut être provoquée par certains microorganismes. Elle se traduit, en final, par la bioconversion du glucose en fructose. Le dosage sera réalisé par méthode enzymatique en point final.
- Analyse par chromatographie sur couche mince de l'évolution de la fermentation par *Saccharomyces cerevisiae.*
- Vérification du titre alcoolique volumique de la bière par méthode volumétrique. Il est fixé à 6,0 degrés Gay Lussac.

1 - Détermination du pourcentage de bioconversion de l'amidon de maïs par méthode en point final (test UV à 340 nm). (33 points)

1.1 - Principe.

A pH = 7,60 et en présence d'hexokinase (HK), le D-glucose et le D-fructose sont phosphorylés par l'ATP en glucose-6-phosphate et en fructose-6-phosphate :

D-glucose + ATP ⟶ D-glucose-6-phosphate + ADP **(1)**

D-fructose + ATP ⟶ D-fructose-6-phosphate + ADP **(2)**

En présence de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH), le D-glucose-6-phosphate formé et oxydé de façon spécifique par du $NADP^+$ en 6-phosphogluconate :

D-glucose-6-phosphate + $NADP^+$ + H_2O ⟶ 6-phosphogluconate + $NADPH,H^+$ **(3)**

Le NADPH, H^+ formé est mesuré par augmentation de l'absorbance à 340 nm.

Le dosage du D-fructose-6-phosphate est réalisé après transformation en D-glucose-6-phosphate par le phosphoglucose-isomérase (PGI) :

D-fructose-6-phosphate ⟶ D-glucose-6-phosphate **(4)**

Le D-glucose-6-phosphate formé et oxydé selon la réaction (3) en 6-phosphogluconate, la quantité de NADPH, H^+ formé est proportionnelle à la quantité de fructose.

1.2 - Réactifs et solution à doser :

- Solution 1 notée «S1» : tampon pH = 7,60 ; $NADP^+$; ATP ; sulfate de magnésium (4 mL).
- Suspension 2 notée « S2 » : HK ; G6P-DH. A conserver dans la glace avant utilisation (80 μL).
- Suspension 3 notée « S3 » : PGI. A conserver dans la glace avant utilisation (80μL).
- Echantillon à doser : solution d'amidon de maïs notée « M » (3 mL).

1.3 - Protocole opératoire.

Dilution préalable :

Diluer l'échantillon « M » au 1/20ème dans l'eau distillée.

Effectuer la dilution en présence d'un examinateur.

Conditions opératoires du dosage :

Température : 20-25°C (température ambiante).
Longueur d'onde : 340 nm.
Trajet optique : 1 cm.
Lire contre l'air.

Dosage :

Réaliser deux essais sur la solution « M » diluée.

Introduire directement dans les cuves à spectrophotomètre :

Cuve	témoin	Essai
Solution 1 (mL)	1	1
Solution « M » (mL)	0	0,10
Eau distillée (mL)	2	1,90
Mélanger. Après 3 minutes, lire l'absorbance A_1. Déclencher la réaction par addition de :		
Suspension 2 (mL)	0,02	0,02
Mélanger. Après 15 minutes, lire l'absorbance A_2. Ajouter :		
Suspension 3 (mL)	0,02	0,02
Mélanger. Après 15 minutes, lire l'absorbance A_3.		

1.4 - Exploitation des résultats.

Compléter la feuille de résultats.
Calculer les différences $(A_2 - A_1)$ du témoin et de l'essai.
En déduire ΔA (glucose) $= (A_2 - A_1)_{essai} - (A_2 - A_1)_{témoin}$.
Calculer les différences $(A_3 - A_2)$ du témoin et de l'essai.
En déduire ΔA (fructose) $= (A_3 - A_2)_{essai} - (A_3 - A_2)_{témoin}$.
Etablir les expressions littérales donnant les concentrations massiques ($g.L^{-1}$) en glucose et fructose dans la solution « M ». Réaliser les applications numériques.
En déduire la qualité de l'amidon :
- a-t-il subi une dégradation prématurée ?
- si oui, calculer le pourcentage de bioconversion de glucose en fructose.

Quel est le rôle du sulfate de magnésium ?
Pourquoi les enzymes sont elles conservées dans la glace avant utilisation ?

Données : $\varepsilon_{NADPH,H^+} = 630\ m^2.mol^{-1}$ et $M_{(glucose)} = M_{(fructose)} = 180\ g.mol^{-1}$

Le coefficient de variation de la méthode est évalué à 5 %.

2 - Étude des glucides fermentés par chromatographie sur couche mince. (24 points)

La chromatographie nécessite, dans un premier temps, de réaliser un choix judicieux d'une phase mobile. Cette dernière sera utilisée, dans un second temps, pour l 'analyse des glucides fermentés.

2.1 - Choix de la phase mobile :

2.1.1 - Réactifs et matériel :

- Phase mobile 1 : méthyléthylacétone 3V/acide acétique 1V/méthanol 1V. Notée «PM1».
- Phase mobile 2 : méthyléthylacétone 1V/acide acétique 2V/méthanol 1V. Notée «PM2».
- Phase mobile 3 : méthyléthylacétone 1V/acide acétique 1V/méthanol 3V. Notée «PM3».
- Mélange de témoins noté « T » : glucose, maltose, maltotriose.
- 3 bandelettes de gel de silice réactivé 1 x 10 cm (boîte de Petri).
- Pince Brucelle.
- Capillaires.
- Réactif de révélation au naphtorésorcinol.

Les différentes phases mobiles sont fournies en tubes à fond plat sur un portoir numéroté.

2.1.2 - Protocole opératoire.

Sur la bandelette de silice, déposer 2 gouttes du mélange T à 2 cm du bord. Sécher entre les 2 dépôts.
Déposer la bandelette dans le tube contenant la phase mobile. Laisser migrer.
Sécher puis révéler avec le réactif au naphtorésorcinol.
Placer les bandelettes à l'étuve à 100°C pendant environ 10 minutes.
Effectuer la manipulation pour chacune des trois phases mobiles testées.
Laisser les bandelettes référencées dans la boîte de Petri.

2.1.3 - Exploitation des résultats.

Analyser les résultats obtenus pour chaque phase mobile.

Choisir la phase mobile la plus intéressante pour réaliser l'analyse chromatographique sur couche mince des glucides fermentés. Justifier.

2.2 - Analyse des glucides fermentés par CCM.

2.2.1 - Réactifs et matériel :

- Plaque de silice (5 x 10 cm).
- Cuve à chromatographie.
- Solvant de migration (à demander à un examinateur selon votre choix).
- Solutions témoins (en Eppendorff) : glucose (« Glc »), maltose (« Mal »), maltotriose (« Malto »).
- Echantillon à analyser : moût après brassage noté « B » et moût après fermentation noté « F ».
- Réactif de révélation au naphtorésorcinol.
- Capillaires.
- 1 boîte de Petri.

2.2.2 - Protocole opératoire.

Réactiver la plaque de silice à l'étuve à 100°C pendant 10 minutes.
Introduire le solvant dans la cuve et laisser saturer pendant environ 15 minutes.
Réaliser les différents dépôts (2 gouttes). Placer la plaque dans la cuve. Laisser migrer.
A l'issue de la migration :

- sécher la plaque à l'étuve ;
- la révéler avec le réactif au naphtorésorcinol ;
- la placer à l'étuve à 100°C environ 10 minutes.

2.2.3 - Exploitation des résultats.

Quel est l'intérêt de réactiver la plaque de silice ? Celui de saturer la cuve ?
Exploiter le chromatogramme. Conclure.

Laisser le chromatogramme dans une boîte de Petri au poste de travail.

3 - Détermination du titre alcoolique volumique de la bière par oxydation sulfochromique. (23 points)

Une distillation simple a été réalisée sous pression atmosphérique. Cette étape a entraîné une dilution au 1/5ème de la bière.

3.1 – Principe.

Le dosage de l'éthanol contenu dans le distillat est réalisé par méthode volumétrique indirecte :
En milieu acide, l'éthanol est oxydé en acide éthanoïque par un excès de dichromate de potassium. L'excédent de dichromate de potassium est dosé par une solution de sels de Mohr de concentration connue.

3.2 - Réactifs :

- Solution de dichromate de potassium « TOXIQUE ». La concentration sera donnée en début de l'épreuve (50 mL).
- Solution de sels de Mohr. La concentration sera donnée en début de l'épreuve (60 mL).
- Solution d'acide sulfurique concentré (en distributeur) « CORROSIF ».
- Acide phosphorique pur (en distributeur) « CORROSIF ».
- Diphénylaminosulfonate de baryum.
- Echantillon noté « P » : distillat de la bière (30 mL).

3.3 - Protocole opératoire (2 essais).

Dans une fiole bouchant émeri, introduire :

- 10 mL de solution de dichromate de potassium.
- 5 mL d'acide sulfurique concentré : verser lentement, en agitant doucement et en laissant refroidir.

Une fois, le mélange refroidi, ajouter :

- 5 mL de distillat.

Boucher, agiter doucement et attendre 20 minutes pour que l'oxydation soit totale.

Ajouter :
- environ 100 mL d'eau distillée.
- 15 mL d'acide phosphorique pur.
- 20 gouttes de diphénylaminosulfonate de baryum.

En homogénéisant, verser la solution de sels de Mohr jusqu'à virage au vert émeraude.

Présenter les chutes de burette à un examinateur.

3.4 - Exploitation des résultats.

Compléter la feuille de résultats.
Elaborer la formule littérale exprimant la concentration massique volumique en éthanol de la bière ($g.L^{-1}$).
En déduire le titre alcoolique volumique de la bière (en degré Gay Lussac).
Conclure.

Données.

Le coefficient de variation de la méthode est de 1 %.
1 degré Gay Lussac correspond à 1 mL d'éthanol pour 100 mL de bière.
$M_{éthanol}$ = 46 $g.mol^{-1}$ Masse volumique de l'éthanol (μ) = 0,7936 $g.mL^{-1}$.

Oxydation de l'éthanol par le dichromate de potassium

$$3\ CH_3\text{-}CH_2OH + 2\ Cr_2O_7^{-} + 16\ H^{+} = 3\ CH_3\text{-}COOH + 4\ Cr^{3+} + 11\ H_2O$$

Dosage du dichromate de potassium par les sels de Mohr

$$6\ Fe^{2+} + Cr_2O_7^{2-} + 14\ H^{+} = 6\ Fe^{3+} + 2\ Cr^{3+} + 7\ H_2O$$

Feuille de résultats poste n°.....

1. **Détermination du pourcentage de bioconversion de l'amidon de maïs par méthode cinétique en point final.**

	témoin	Essai 1	Essai 2
Absorbance A_1			
Absorbance A_2			
Absorbance A_3			

3. **Détermination du titre alcoolique volumique de la bière par oxydation sulfochromique.**

	Essai 1	Essai 2
Volume de sels de Mohr (mL)		

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.