

# **BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE**

**Série : Sciences et Technologies de Laboratoire**

**Spécialité : Biotechnologies**

**SESSION 2016**

## **Sous-épreuve écrite de Biotechnologies**

Coefficient de la sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

**Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités  
sur des copies séparées.**

*L'usage de la calculatrice est autorisé.*

**Le document 4 page 6 est à rendre avec la copie**

Ce sujet comporte 7 pages.

## EXPLORATION D'UNE ACTIVITÉ DE PRODUCTION D'UNE BOISSON ALCOOLISÉE, LE SAKÉ

Une brasserie équipée pour la fermentation de l'orge, dans le cadre de la fabrication de bière classique, décide de diversifier sa production en se lançant dans la fabrication de saké. Il s'agit d'une boisson fermentée à base de riz, originaire du Japon. Souvent qualifiée de « vin de riz », elle devrait plutôt être appelée « bière de riz ».

Un technicien de la brasserie est chargé d'étudier l'éventualité de transposer le processus de fabrication de la bière au saké. Pour cela, il réalise :

- une analyse du processus de fabrication dans le but de vérifier la possible transposition ;
- une optimisation de l'étape de pasteurisation ;
- un contrôle de la teneur en alcool du saké produit.

### 1. ANALYSE DU PROCESSUS DE FABRICATION DU SAKÉ

Les **documents 1 et 2** présentent les différentes étapes de la fabrication du saké.

- Le **document 1** décrit les étapes du processus de fabrication du saké.
- Le **document 2** les présente sous forme d'un organigramme.

**Q1.** Reporter sur la copie les chiffres 5, 6 et 8 du **document 2** et les associer, à l'aide du **document 1**, aux actions suivantes :

- fermentation
- pasteurisation
- hydrolyse

**Q2.** Nommer sur la copie les molécules désignées par les lettres a et b du **document 2**.

**Q3.** Expliquer pourquoi le polissage et la cuisson à la vapeur sont indispensables lors de la préparation du riz.

L'orge, comme le riz, est une céréale riche en amidon. La fabrication de bière à partir d'orge comporte deux étapes : un broyage et un traitement thermique avant l'addition des levures.

**Q4.** Identifier le rôle de ces deux étapes dans la fabrication de la bière.

Le **document 3** résume la transformation du raisin en vin.

**Q5.** Expliquer pourquoi la fabrication du saké nécessite l'utilisation d'une moisissure (*Aspergillus oryzae*) en plus de la levure, alors que celle du vin utilise des levures.

**Q6.** Proposer une synthèse expliquant que l'appellation « bière de riz » semble plus adaptée que « vin de riz » pour le saké.

### 2. OPTIMISATION DE L'ETAPE DE PASTEURISATION

La plupart des sakés sont pasteurisés après fermentation afin d'éliminer les levures viables restantes et d'inactiver les enzymes.

**Q7.** Proposer un protocole simple permettant de vérifier l'élimination des levures. Argumenter la réponse.

Afin de déterminer les conditions optimales de pasteurisation, le technicien réalise deux cinétiques de destruction thermique de *Saccharomyces cerevisiae* :

- à 50 °C
- à 60 °C

Le temps de réduction décimale  $D_\theta$  est le temps nécessaire pour tuer 90 % des micro-organismes d'une population microbienne dans un échantillon à une température spécifique  $\theta$ . Il permet donc une réduction de la population microbienne  $C_N$  (microorganismes ; échantillon) d'un facteur 10 ou d'une unité de log ( $C_N$ ).

Le **document 4** présente la cinétique de destruction de *Saccharomyces cerevisiae* à 60 °C.

**Q8.** Déterminer graphiquement la valeur de  $D_{60^\circ\text{C}}$  sur le **document 4** (à rendre avec la copie).

Le temps de réduction décimale à 50 °C est  $D_{50^\circ\text{C}} = 0,68$  min.

**Q9.** Calculer la durée de traitement nécessaire à 50 °C pour réduire la population microbienne de  $10^{12}$  à  $10^0$  levures·mL<sup>-1</sup>.

La durée du traitement nécessaire à 60 °C pour réduire de telle manière la population microbienne est de 0,12 min.

**Q10.** Proposer le couple durée – température le plus intéressant pour l'industriel. Argumenter ce choix.

### 3. CONTRÔLE DE LA TENEUR EN ÉTHANOL DU PRODUIT FINI

La concentration en éthanol dans le saké est contrôlée par un dosage enzymatique en point final présenté dans le **document 5**.

**Q11.** Deux réactions interviennent dans le principe de ce dosage ; identifier la réaction principale et la(les) réaction(s) indicatrice(s) en argumentant la réponse.

**Q12.** Expliquer pourquoi la réaction a ne se produit qu'après ajout du réactif 2.

**Q13.** Expliquer pourquoi la variation d'absorbance est proportionnelle à la concentration en éthanol dans l'échantillon.

**Q14.** Analyser le rôle du témoin.

Les valeurs mesurées lors du contrôle de l'échantillon de saké figurent dans le **document 6**.

**Q15.** Ecrire l'équation aux valeurs numériques puis calculer la teneur en éthanol du saké en % (V/V).

**Q16.** Montrer que le saké obtenu ne peut être commercialisé tel quel et proposer une dilution adaptée.

### SYNTHESE

**Q17.** Rédiger une synthèse des résultats obtenus par le technicien.

En déduire si la brasserie pourra diversifier son activité en produisant du saké, sans modification majeure de ses équipements.

## **DOCUMENT 1 : Explication des étapes de fabrication du saké**

### **1. Traitement du riz**

Le polissage consiste à casser l'enveloppe des grains de riz, afin de dégager le cœur du grain riche en amidon.

Le nettoyage permet d'éliminer les enveloppes riches en lipides, protéines et sels minéraux. Ces composés peuvent, en grande quantité, inhiber la fermentation et altérer le produit fini.

Le trempage puis la cuisson à la vapeur préparent le riz à la fermentation en attendrissant le cœur des grains, facilitant la libération de l'**amidon**.

### **2. Préparation du moromi**

Obtention du **koji** :

Le koji est obtenu en recouvrant le riz cuit de spores d'*Aspergillus oryzae*. Cette moisissure est capable d'**hydrolyser l'amidon en glucose**.

Le mélange est incubé à une température et un taux d'humidité rigoureusement contrôlés pendant deux jours environ.

Obtention du **moromi** :

Le moromi ou moût principal est préparé en ajoutant des levures, *Saccharomyces cerevisiae*, au koji. Cette étape de fermentation permet de **transformer le glucose en éthanol**.

Le mélange est incubé pendant 18 à 32 jours pendant lesquels différents paramètres sont mesurés et ajustés.

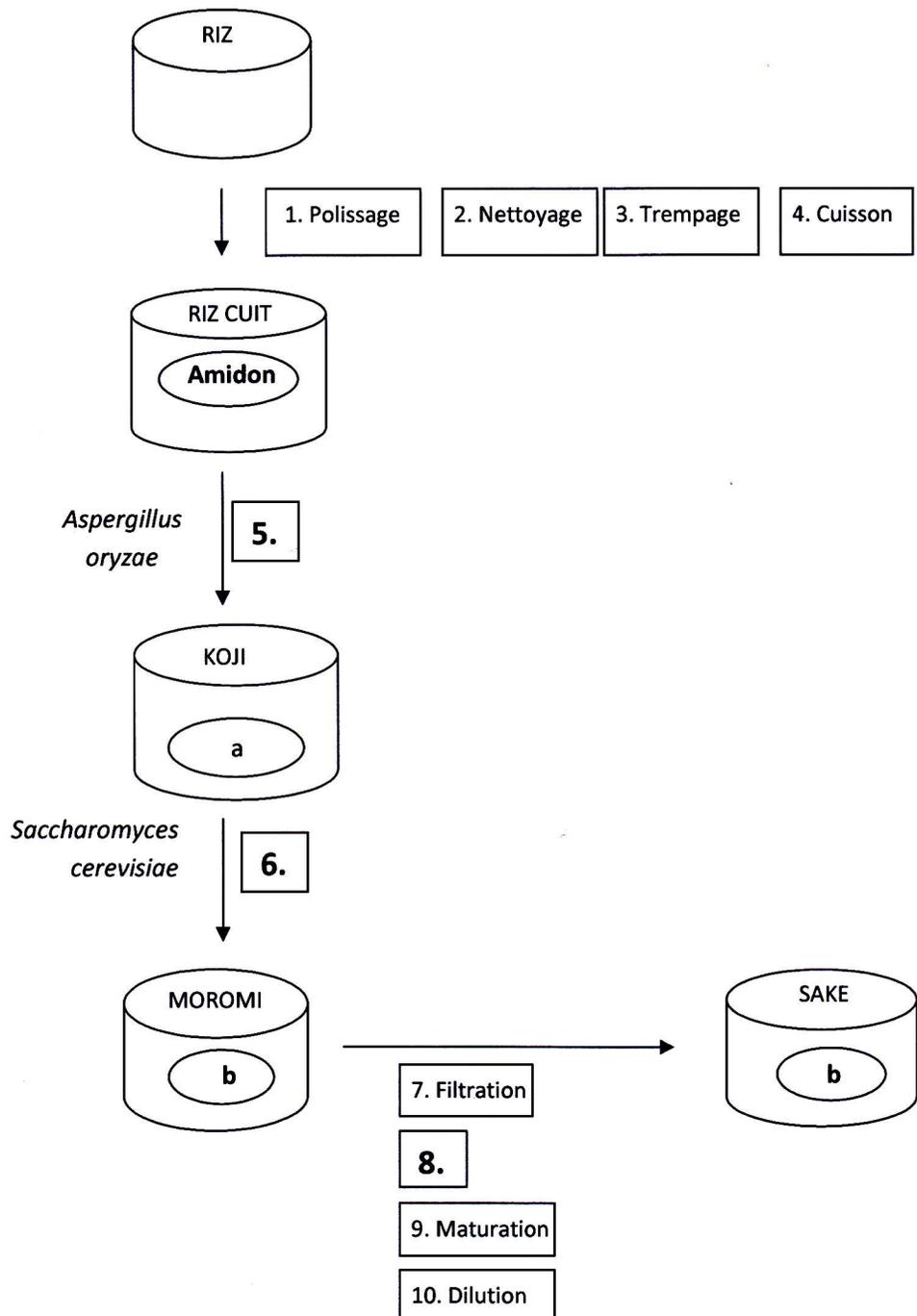
### **3. Préparation à la commercialisation du saké**

Après élimination des résidus de riz, le saké « jeune » obtenu est filtré à travers une couche de charbon, puis pasteurisé afin d'éliminer les levures et d'inactiver les enzymes.

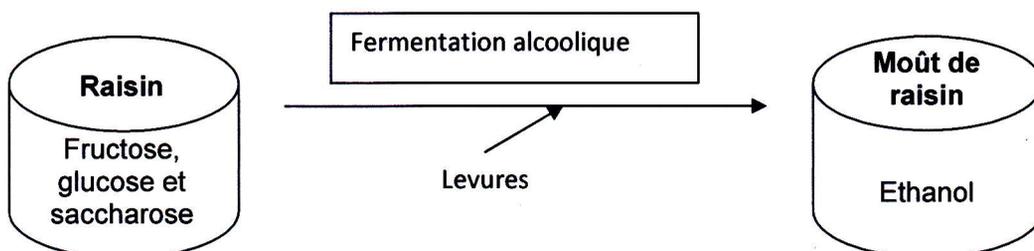
En général, la maturation du saké dure entre trois et six mois.

Une légère dilution à l'eau de source peut être nécessaire pour abaisser le niveau d'alcool qui doit être compris entre 14 et 17 % juste avant la commercialisation.

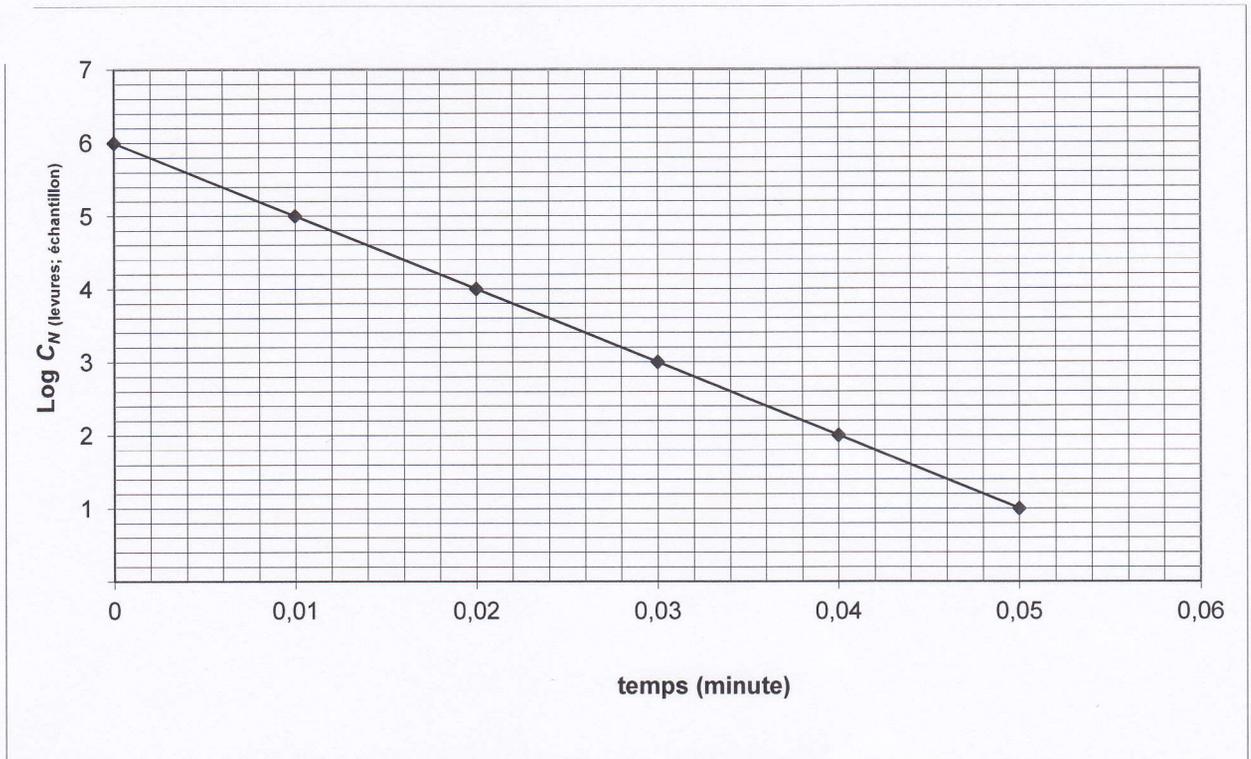
**DOCUMENT 2 : Organigramme des étapes de fabrication du saké**



**DOCUMENT 3 : Première étape de transformation du raisin en vin**



**DOCUMENT 4 : Etude cinétique de destruction thermique à 60 °C, de *Saccharomyces cerevisiae***



## **DOCUMENT 5 : Extrait de la fiche technique du dosage de l'éthanol**

**Principe :**

**Réaction a :** en présence de l'alcool-déshydrogénase (ADH), l'éthanol de l'échantillon est oxydé en acétaldéhyde par le nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD).



**Réaction b :** L'acétaldéhyde est oxydé quantitativement en acide acétique en présence de l'aldéhyde-déshydrogénase (AL-DH).



Au cours des réactions (1) et (2), 2 moles de  $\text{NAD}^+$  sont réduites pour 1 mole d'éthanol. La quantité de  $\text{NADH}, \text{H}^+$  formée est déterminée par mesure de son absorbance à 340 nm.

**Composition des réactifs :**

Réactif 1	Réactif 2
Tampon diphosphate pH 9,0 $\text{NAD}^+$ Aldéhyde déshydrogénase (AL-DH)	Alcool déshydrogénase (ADH)

**Mode opératoire :**

	Témoin	Essai
Introduire dans les cuves : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Réactif 1</li> <li>• Eau distillée</li> <li>• Echantillon (<b>dilué au 1/1000</b>)</li> </ul>	3,00 mL 0,10 mL -	3,00 mL - 0,10 mL
Mélanger puis relever l'absorbance $A_1$ des solutions après environ 3 min		
Introduire dans les cuves le réactif 2	0,05 mL	0,05 mL
Mélanger puis relever l'absorbance $A_2$ des solutions après au moins 10 min		

**Calculs :**

Calculer  $\Delta A$  selon la formule :  $\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{essai}} - (A_2 - A_1)_{\text{témoin}}$

Calculer la teneur en éthanol en % (V/V) selon la formule suivante :

$$\text{Teneur (éthanol ; échantillon)} = 0,01458 \times \Delta A \times \text{facteur de dilution}$$

## **DOCUMENT 6 : Résultats expérimentaux du dosage de l'éthanol dans l'échantillon de saké produit**

	Témoin	Essai
$A_1$ à 340 nm	0,005	0,012
$A_2$ à 340 nm	0,005	1,432