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

SESSION 2020
Métropole

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR AGRICOLE
E7-1 ANALYSES ET CONTRÔLES

Option : ANABIOTEC

Durée : 180 minutes

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Calculatrice**

Le sujet comporte 14 pages

SUJET

ÉTUDE DES ASPECTS QUALITATIFS ET QUANTITATIFS D'UNE BIÈRE

L'entreprise Garragardo fabrique des bières artisanales depuis de nombreuses années.
La bière est un produit élaboré à partir des matières premières suivantes : eau, malt, levure, houblon. Le malt est constitué de céréales (souvent de l'orge) qui ont subi un début de germination. Les enzymes synthétisées au sein du grain permettent alors d'hydrolyser une grande partie des sucres complexes présents en sucres simples qui seront fermentés par les levures.
Le processus de la fabrication de la bière est constitué de quatre étapes principales :

- Le maltage pour la production des enzymes. La farine de malt est alors solubilisée dans une grande quantité d'eau. On obtient le moût.
- Le brassage du moût pour l'activation des enzymes contenues dans le malt.
- L'ébullition pour détruire les enzymes dont l'action est finie.
- La fermentation pour l'action des levures sur les sucres.

Pour répondre à une demande de nouveaux clients, l'entreprise décide de tester la fabrication d'une bière refermentée en bouteilles. La refermentation permet d'obtenir une saturation en CO_2 et d'élever légèrement le degré alcoolique.
En tant que technicien(ne) au laboratoire de cette entreprise, vous êtes chargé(e) :

- de mettre à jour le plan HACCP,
- de réaliser des contrôles microbiologiques du levain,
- de vérifier que le taux de sucres résiduels[1] de la bière ne dépasse pas la valeur moyenne de12 $g.L^{-1}$.

[1] Les sucres résiduels peuvent être à l'origine de certaines maladies glycémiques comme le diabète par exemple. **NB : le terme sucre est utilisé ici pour désigner tous les glucides.**

PARTIE 1 : ÉTUDE HACCP (3 points)

La maîtrise du processus de fabrication comprend la mise en place d'une étude HACCP. Le diagramme de fabrication utilisé par l'entreprise est présenté dans le **document 1**. Ce produit est une bière pasteurisée, subissant une deuxième fermentation en bouteille appelée aussi refermentation.

Suite à l'élaboration du nouveau processus, l'étude HACCP a été révisée au niveau des étapes depuis la pasteurisation jusqu'à la refermentation en bouteilles. Le tableau ci-dessous en présente un extrait.

1.1 Identifier les CCP pour les différents types de dangers et justifier vos choix à l'aide de l'arbre de décision du **document 2**.

1.2 Recopier et compléter le tableau suivant en indiquant les contrôles à mettre en place et les actions correctives envisageables pour les CCP.

Étapes	Danger	Mesures préventives	Contrôle en place	Actions correctives
Pasteurisation	Microbiologique	Procédures en place Maintenance et métrologie régulière du pasteurisateur		
Lavage des bouteilles	Microbiologique Physique	Procédures en place		
Soutirage et remplissage	Microbiologique	Procédures en place Nettoyage du matériel à chaque changement d'équipe		
Refermentation	Microbiologique Biochimique	Procédures en place		

PARTIE 2 : CONTRÔLE DE LA PURETÉ, DE L'IDENTITÉ ET DE LA CAPACITÉ FERMENTAIRE DU LEVAIN UTILISÉ (7 points)

Pour rappel, la fermentation alcoolique du moût est une étape clé dans la fabrication de la bière. Cette étape consiste à ensemencer le moût à l'aide de levures (on parle alors de levain primitif). Le levain utilisé contient uniquement *Saccharomyces cerevisiae*.

La caractéristique de ce nouveau produit est qu'il est issu d'une refermentation. Celle-ci est réalisée en bouteille après ajout d'une quantité de sucre et ensemencement par une fraction du fond de la cuve contenant toujours du levain primitif. La qualité de ce levain est donc un critère essentiel.

Afin d'éviter tout accident de fermentation et donc de production, on se doit de vérifier la pureté, l'identité et la capacité fermentaire de ce levain.

➢ Contrôle de la pureté

Il est nécessaire d'isoler le levain sur 2 géloses différentes : une gélose nutritive et une gélose Sabouraud dont les compositions sont données en **document 3a**.

2.1. Justifier l'utilisation de ces deux géloses différentes.

Si après observation macroscopique, le levain utilisé n'est pas pur, on procède à un isolement sur une gélose Sabouraud + Chloramphénicol.

2.2. Expliquer l'intérêt de cette étape.

2.3 Interpréter les résultats fournis dans le **document 3b**.

➢ Contrôle d'identité

La première étape du contrôle d'identité d'une levure est la réalisation d'un état frais et d'un auxanogramme.

Pour cela, 2 techniques, présentées dans le **document 4**, sont utilisées dans votre laboratoire :

- Une micro-méthode dans une galerie API 20C AUX.
- Une macro-méthode avec gélose et disques imprégnés des sucres à tester.

2.4 Donner les avantages et inconvénients des 2 techniques sous la forme d'un tableau.

➢ Contrôle de capacité fermentaire

Vous testez ensuite la capacité fermentaire de la levure. Pour cela, vous réalisez un zymogramme, qui met en évidence la capacité d'une levure à fermenter un sucre en condition anaérobie sur milieu CTA (composition dans le **document 3c**). L'utilisation du sucre se traduit par la formation de gaz à l'intérieur de la gélose, et le virage au jaune de l'indicateur coloré de pH, dû à l'acidification du milieu.

Dans le cas de la levure utilisée par l'entreprise Garragardo pour son nouveau produit, on ensemence donc 2 boîtes de Petri CTA, chacune contenant un sucre différent. On réalise la manipulation avec les sucres les plus présents dans la bière à savoir le glucose et le maltose.

2.5 Établir, à partir des résultats présentés dans le **document 3c**, la capacité fermentaire du levain testé et proposer si nécessaire une mesure corrective.

Au cours des premiers essais du nouveau produit, un arrêt de fermentation s'est produit. Cet accident peut être dû à une contamination bactérienne du levain. Pour tenter d'identifier la source de contamination, on a réalisé une PCR classique.

Les bactéries pouvant contaminer la bière appartiennent principalement à la famille des Lactobacilles *(L.brevis, L.casei*) et des Pédiocoques *(P.damnosus*, *P.claussenii*).

La portion amplifiée de l'ADN des *Lactobacillus* possède 540 paires de bases et celle des *Pediococcus* en possède 320.

2.6. Identifier les contaminants présents dans le levain à partir des résultats présentés dans le **document 5**.

PARTIE 3 : DOSAGE DES SUCRES RÉSIDUELS (10 points)

Pour permettre la deuxième fermentation en bouteille, on ajoute du glucose à la concentration de 8 $g.L^{-1}$.

L'entreprise vous demande de réaliser une analyse en HPLC-RI des sucres résiduels avant la commercialisation pour évaluer l'efficacité de la refermentation et vérifier que le taux de sucres résiduels final ne dépasse pas la valeur moyenne de 12 $g.L^{-1}$.

Avant d'effectuer l'analyse des sucres résiduels, vous devez vérifier le bon fonctionnement de l'appareil HPLC en vous assurant qu'il existe une corrélation linéaire significative entre la concentration d'un sucre et l'aire des pics. Le sucre choisi est le maltotriose.

Vous réalisez une gamme étalon de 0 à 20 $g.L^{-1}$ et les résultats obtenus sont :

Concentration $g.L^{-1}$	0	4	8	12	16	20
Aire des pics	0	22550	20900	27500	39050	47300

On note :

- X la variable aléatoire prenant pour valeurs la concentration du maltotriose en $g.L^{-1}$.
- Y la variable aléatoire prenant pour valeurs l'aire des pics (sans unité).
- ρ le coefficient de corrélation linéaire entre les variables aléatoires X et Y

3.1 Déterminer une valeur approchée du coefficient de corrélation linéaire à 10^{-5} près de ces deux échantillons de mesures.

3.2 Mettre en œuvre un test du coefficient de corrélation linéaire au seuil de risque de 1 % afin de mettre en évidence une corrélation linéaire entre la concentration X du maltotriose et l'aire des pics Y.

Pour cela, on considère que :

- une valeur approchée à 10^{-3} près du coefficient de corrélation linéaire observé r de l'échantillon de mesures est 0,955.
- les variables aléatoires X et Y sont normalement distribuées.

On rappelle que la corrélation linéaire entre 2 variables est significative si le coefficient de corrélation linéaire **inconnu** ρ est différent de 0.

On note R la variable aléatoire prenant pour valeurs le coefficient de corrélation linéaire sur 2 échantillons (aléatoires simples) de taille n =6.

On admet que, lorsque les variables X et Y sont normalement distribuées, et en supposant que H_0 est vraie, la variable de décision $T = \frac{R\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-R^2}}$ est distribuée selon la loi de Student à n – 2 degrés de liberté (ddl).

On pourra éventuellement se référer au **document 6**.

3.3 Vous réalisez une analyse, par HPLC-RI, des sucres résiduels dans le produit fini, en utilisant la méthode décrite dans le **document 7**.

Ces résultats sont présentés dans le **document 8**.

3.3.1 Justifier l'utilisation d'un détecteur réfractométrique dans le cadre de cette analyse.

3.3.2 Justifier l'utilisation de l'étalonnage externe.

3.4 Vous avez prélevé un échantillon dans un lot de bière de la nouvelle production pour vérifier les taux de sucres résiduels par HPLC-RI. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Concentration en $g.L^{-1}$	Aire des pics solutions étalons	Aire des pics des sucres dans le produit fini
Fructose	25 000	450
Glucose	25 500	0
Saccharose	28 000	0
Maltose	35 000	3 500
Maltotriose	24 750	20 800

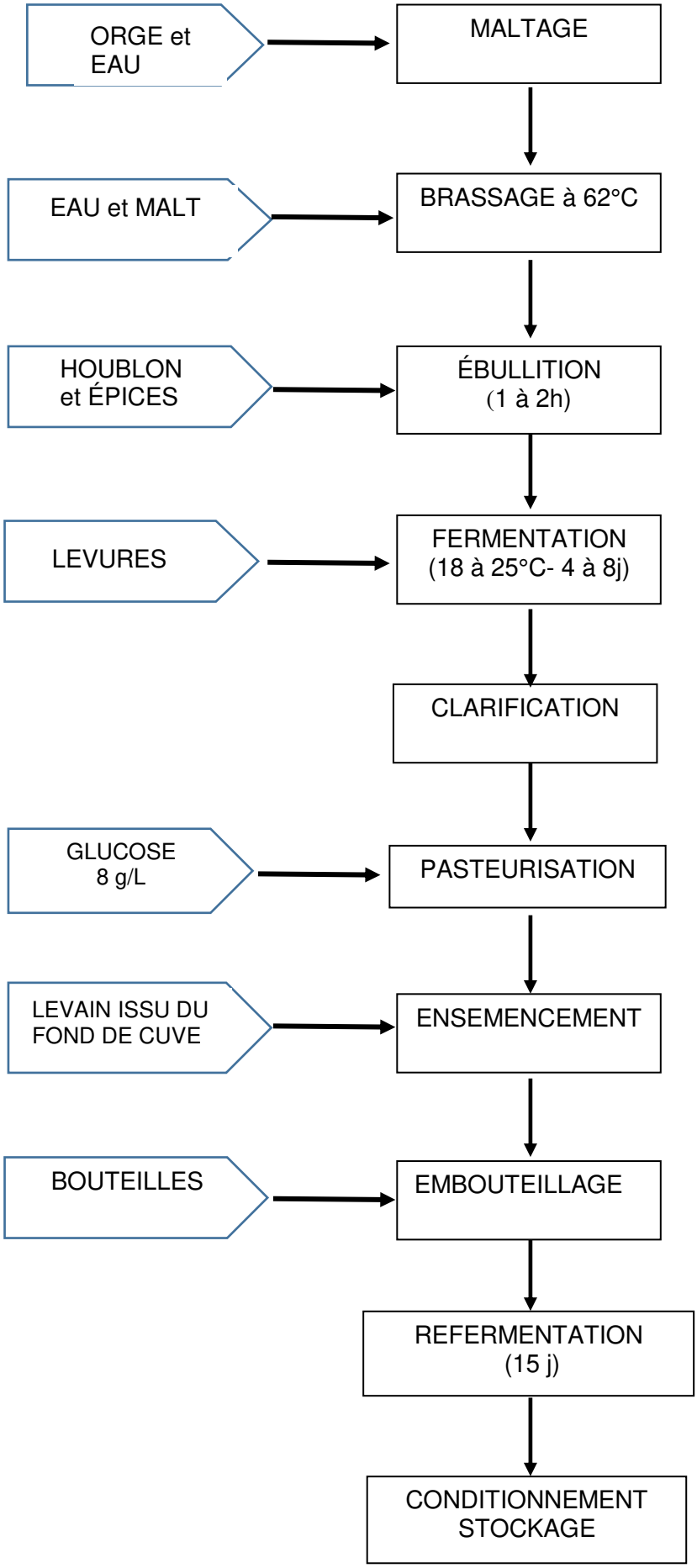
3.4.1 Calculer, à partir des données du **document 7** et du tableau ci-dessus, le taux de fructose, glucose, saccharose, maltose et maltotriose après refermentation.

3.4.2 Commenter et interpréter, à l'aide du **document 8,** le taux de maltotriose avant et après refermentation.

3.4.3 Montrer que la bière répond à la demande des nouveaux clients vis-à vis du taux de sucre résiduel.

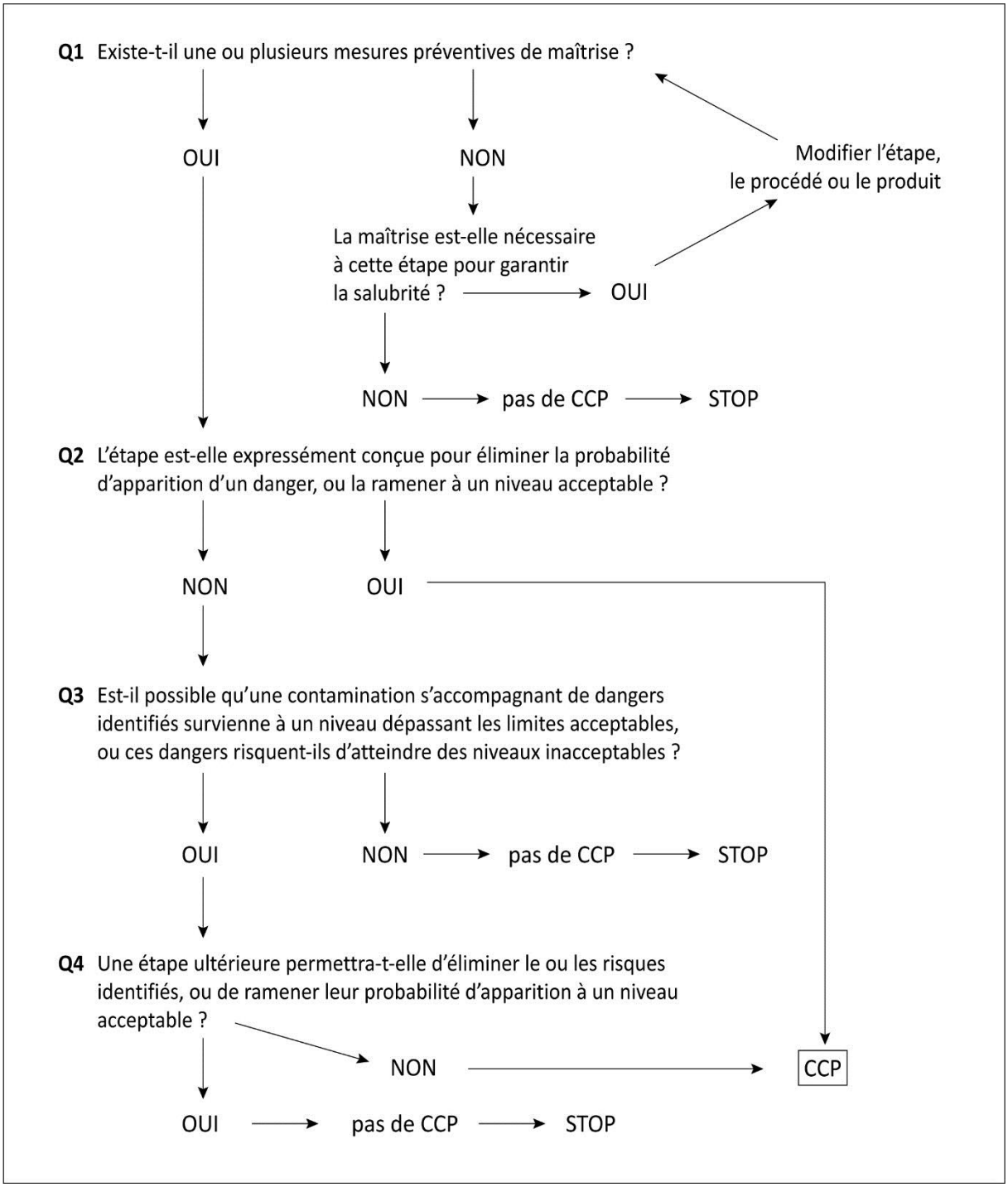
DOCUMENT 1

Diagramme de fabrication de la bière



DOCUMENT 2

Arbre de décision HACCP



DOCUMENT 3a

Composition des milieux utilisés pour le contrôle de la pureté des levains

Gélose	Composition
Gélose nutritive	Tryptone Extrait de viande Agar
Sabouraud	Peptone de viande Glucose Agar

DOCUMENT 3b

Résultats du contrôle de la pureté du levain selon aspect sur gélose nutritive et gélose Sabouraud

Gélose	Critère 1	Critère 2
Gélose nutritive	1 type de colonie	Forme ronde couleur blanchâtre Aspect bombé Consistance crémeuse Taille 2-3 mm
Sabouraud	1 type de colonie	Forme ronde couleur blanchâtre Aspect bombé Consistance crémeuse Taille 6-7 mm

On note critère 1 = nombre de types de colonies
critère 2 = aspect macroscopique des colonies

DOCUMENT 3c

Composition des milieux et résultats obtenus pour les contrôles de capacité fermentaire du levain

Gélose	Composition	Critère 1	Critère 2
CTA 1	Eau Peptone trypsique Cystine Chlorure de sodium Rouge de phénol Agar Glucose	Bulles de gaz dans la gélose	Virage au jaune de l'indicateur
CTA 2	Eau Peptone trypsique Cystine Chlorure de sodium Rouge de phénol Agar Maltose	Pas de bulles de gaz dans la gélose	Pas de virage au jaune de l'indicateur

On note critère 1 = formation de gaz dans la gélose
critère 2 = couleur de l'indicateur coloré

DOCUMENT 4

Galerie API® 20 C AUX, pour Identification des levures en 24/48 heures
Extrait de la notice de Biomérieux®

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST :

API 20 C AUX est un système d'identification précise des levures les plus couramment rencontrées.

PRINCIPE :

La galerie API 20 C AUX est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d'effectuer 19 tests d'assimilation. Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait par comparaison aux témoins de croissance et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

=> Identification des levures en 24-48 heures

• Tests d'assimilation constituant les tests de référence pour l'identification des levures.

• Utilisation facile : un contrôle positif et un contrôle négatif pour une lecture plus facile, absence de réactifs additionnels.

• Base de données très étendue couvrant la très grande majorité des levures.

Conditionnement : coffret de 25 galeries + milieux.

AUXANOGRAMME DU CARBONE (MACRO-MÉTHODE)

Ce test permet de vérifier l'utilisation des sucres par le levain étudié.

Homogénéiser une suspension dense de la levure à étudier dans de l'eau stérile dans le milieu de base sans sucre, fondu et refroidi à 45°C. Couler stérilement en boîte de Petri. Laisser solidifier.

Disposer stérilement les disques imprégnés de sucre à la surface du milieu, en cercle, régulièrement à 1,5 cm du bord. Six sucres sont en général testés :

glucose - galactose - lactose - maltose - raffinose - saccharose

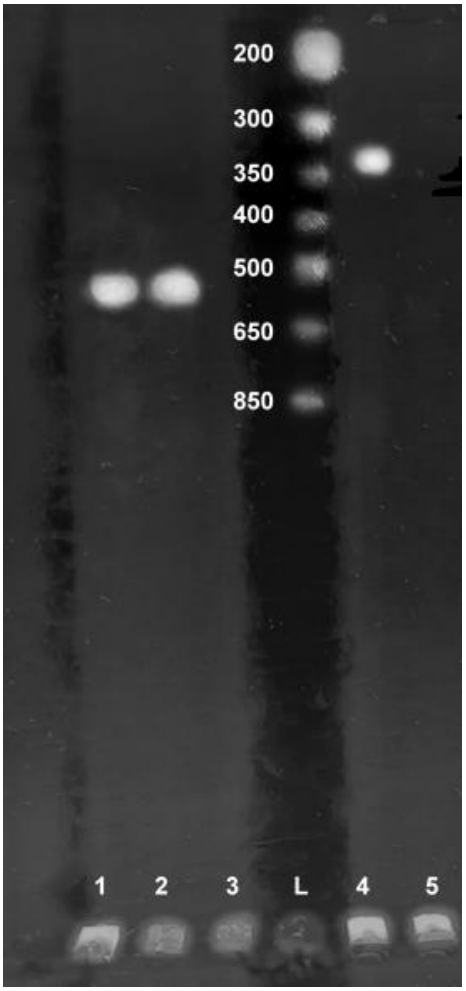
Ensemencer avec le levain étudié.

Mettre 24 à 48 heures à l'étuve à 30°C ou à 37 °C.

L'utilisation d'un sucre manifestée par la croissance de la levure se traduit par la formation d'un halo laiteux autour du disque correspondant.

DOCUMENT 5

Résultat d'un gel d'agarose d'un levain contaminé



Puits 1 : Contrôle positif de *Lactobacillus brevis*

Puits 2 : Échantillon de bière

Puits 3 : Eau

Puits L : Marqueur de poids moléculaire utilisé (en paires de base)

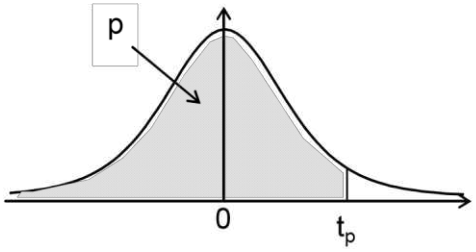
Puits 4 : Contrôle positif de *Pediococcus damnosus*

Puits 5 : Contrôle négatif

DOCUMENT 6

Fonction de répartition d'une variable de Student à k degrés de liberté.

Valeurs t_p telles que Prob($T \leq t_p$) = p



k \ p	0,90	0,95	0,975	0,99	0,995	0,999	0,9995
1	3,08	6,31	12,71	31,82	63,66	318,29	636,58
2	1,89	2,92	4,30	6,96	9,92	22,33	31,60
3	1,64	2,35	3,18	4,54	5,84	10,21	12,92
4	1,53	2,13	2,78	3,75	4,60	7,17	8,61
5	1,48	2,02	2,57	3,36	4,03	5,89	6,87
6	1,44	1,94	2,45	3,14	3,71	5,21	5,96
7	1,41	1,89	2,36	3,00	3,50	4,79	5,41
8	1,40	1,86	2,31	2,90	3,36	4,50	5,04
9	1,38	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30	4,78
10	1,37	1,81	2,23	2,76	3,17	4,14	4,59
11	1,36	1,80	2,20	2,72	3,11	4,02	4,44
12	1,36	1,78	2,18	2,68	3,05	3,93	4,32
13	1,35	1,77	2,16	2,65	3,01	3,85	4,22
14	1,35	1,76	2,14	2,62	2,98	3,79	4,14
15	1,34	1,75	2,13	2,60	2,95	3,73	4,07
16	1,34	1,75	2,12	2,58	2,92	3,69	4,01
17	1,33	1,74	2,11	2,57	2,90	3,65	3,97
18	1,33	1,73	2,10	2,55	2,88	3,61	3,92
19	1,33	1,73	2,09	2,54	2,86	3,58	3,88
20	1,33	1,72	2,09	2,53	2,85	3,55	3,85
21	1,32	1,72	2,08	2,52	2,83	3,53	3,82
22	1,32	1,72	2,07	2,51	2,82	3,50	3,79
23	1,32	1,71	2,07	2,50	2,81	3,48	3,77
24	1,32	1,71	2,06	2,49	2,80	3,47	3,75
25	1,32	1,71	2,06	2,49	2,79	3,45	3,73
26	1,31	1,71	2,06	2,48	2,78	3,43	3,71
27	1,31	1,70	2,05	2,47	2,77	3,42	3,69
28	1,31	1,70	2,05	2,47	2,76	3,41	3,67
29	1,31	1,70	2,05	2,46	2,76	3,40	3,66
30	1,31	1,70	2,04	2,46	2,75	3,39	3,65
35	1,31	1,69	2,03	2,44	2,72	3,34	3,59
40	1,30	1,68	2,02	2,42	2,70	3,31	3,55
45	1,30	1,68	2,01	2,41	2,69	3,28	3,52
50	1,30	1,68	2,01	2,40	2,68	3,26	3,50
60	1,30	1,67	2,00	2,39	2,66	3,23	3,46
80	1,29	1,66	1,99	2,37	2,64	3,20	3,42
100	1,29	1,66	1,98	2,36	2,63	3,17	3,39
200	1,29	1,65	1,97	2,35	2,60	3,13	3,34
500	1,28	1,65	1,96	2,33	2,59	3,11	3,31
1000	1,28	1,65	1,96	2,33	2,58	3,10	3,30
10000	1,28	1,64	1,96	2,33	2,58	3,09	3,29

DOCUMENT 7

Dosage des sucres par HPLC dans la bière

Méthode OIV-MA-AS311-03 adaptée pour la bière

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette recommandation spécifie une méthode de dosage du fructose, du glucose, du maltose, du maltotriose et du saccharose dans la bière par chromatographie liquide à haute performance.

2. PRINCIPE

Les sucres et le glycérol sont directement dosés par HPLC et détectés par réfractométrie.

3. APPAREILLAGE

3.1. Appareillage courant de chromatographie liquide à haute performance.

3.2. Colonne alkylamine de 5 µm et 250 × 4 mm - Conditionnement des colonnes : les colonnes sont généralement remplies et testées à l'hexane. Il faut les laver avec 50 ml d'éthanol puis 50 ml de méthanol avant de passer au mélange acétonitrile/eau 80/20.

3.3. Détecteur réfractométrique - Rincer la cellule de référence une à deux fois par jour (entre deux analyses) avec de l'éluant acétonitrile/eau.

4. ÉCHANTILLONNAGE

Les échantillons sont préalablement dégazés à l'azote (3.9) ou dans un bain à ultrasons.

5. MODE OPÉRATOIRE

Préparation de l'échantillon.

Filtration : Prélever 25 ml d'échantillon à l'aide d'une seringue de 20 ml munie d'une aiguille et filtrer sur membrane de 0,45 µm.

6. ANALYSE

6.1. Conditions analytiques

Phase mobile : éluant isocratique acétonitrile/eau (80/20, v/v) ; Débit : 1 mL/mn ; Volume injecté 20 µl. Détecteur à paramétrer selon l'appareil.

6.2. Étalonnage externe

Mélange étalon synthétique composé de :

Fructose: $10 \pm 0{,}01$ g.L^{-1};

Glucose: $10 \pm 0{,}01$ g.L^{-1};

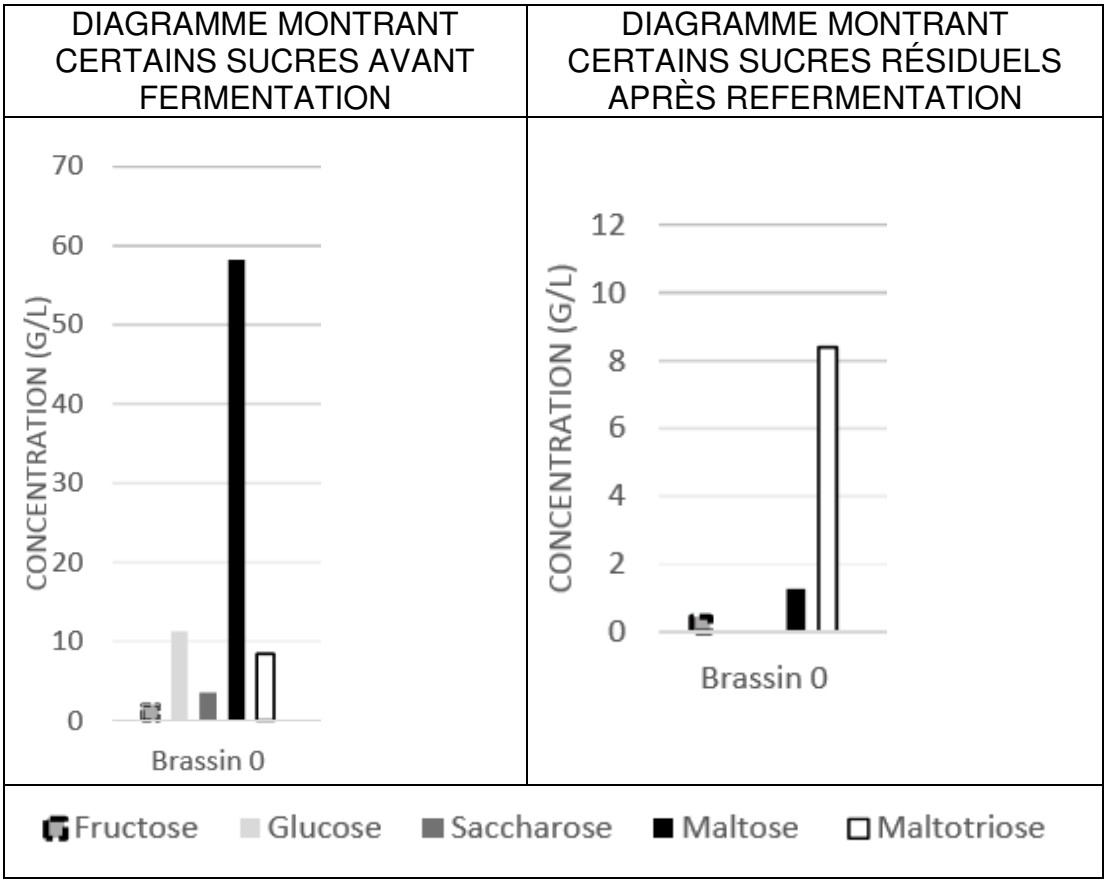
Saccharose: $10 \pm 0{,}01$ g.L^{-1};

Maltose: $10 \pm 0{,}01$ g.L^{-1} ;

Maltotriose: $10 \pm 0{,}01$ g.L^{-1}

DOCUMENT 8

Résultats des sucres avant fermentation et après refermentation



Utilisation par les levures

(Extrait de la revue Scientifique des Ingénieurs Industriels n°31, 2017.)

La fermentation alcoolique implique le transport de substrat à l'intérieur de la cellule et les voies métaboliques qui y sont impliquées. Les sources de carbone les plus couramment utilisées sont les hydrates de carbone, dont certains mono-, di- et trisaccharides. Il existe deux types de sucres disponibles pour la levure ; les sucres directement fermentescibles qui se trouvent déjà présents dans le milieu ou qui sont apportés, et les sucres issus de l'hydrolyse de l'amidon. *Saccharomyces cerevisiae* peut fermenter les sucres suivants : les monosaccharides (glucose, fructose et galactose), les disaccharides (saccharose, maltose) et le trisaccharide (maltotriose). *Saccharomyces cerevisiae* utilise préférentiellement les monosaccharides (sucre simple en C5 ou C6) comme le glucose, fructose. Ceux-ci sont donc fermentés très rapidement, tandis que le maltotriose est fermenté lentement et parfois de façon incomplète avec des traces pouvant rester dans la bière. Le maltotriose est utilisé en dernier après toute assimilation du maltose. L'assimilation complète du glucose est suivie par l'absorption de maltose, le principal sucre du moût. Les dextrines et β-glucanes, dérivés de la dégradation partielle de malt, ne sont quant à eux pas fermentescibles. Les disaccharides devront subir une modification afin d'être assimilables.

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.