

Saccharomyces cerevisiae et fermentation alcoolique. Document annexe pour les mesures de glucose et d'éthanol

Mesures de concentrations en glucose

Doser le glucose formé selon le mode opératoire du tableau ci-dessous qui propose une adaptation d'un kit de dosage du glucose GOD/PAP pour biologie médicale. (Voir aussi les documents de cours et de TP de première année concernant ce kit.)

Travailler avec des dilutions éventuelles convenables de l'échantillon à doser.

	Témoin réactifs	Etalon 1g/L	Echantillon	Témoin compensation échantillon (éventuellement)
Eau	E = 10 μ L			
solution étalon		E = 10 μ L		
Échantillon à mesurer			E = 10 μ L	10 μ L
solution de travail	1 mL	1 mL	1 mL	-
eau	-	-	-	1 mL
<u>Homogénéiser</u> puis lire les absorbance contre de l'eau , à 505 nm, quand la réaction est terminée. Il faut 10 minutes à 37°C et 20 minutes à 20°C. Linéarité jusqu'à 5g/L dans l'échantillon dans les conditions proposées.				
	A_{TR}	A_{1et}	A_{1ech}	A_{TCE}

Calculer $A_{et} = A_{1et} - A_{TR}$ puis $A_{ech} = A_{1ech} - A_{TCE} - A_{TR}$

et finalement $[glucose]_{échantillon} = \frac{A_{ech}}{A_{et}} * 1$ (exprimée en g/L)

Mesures de concentrations en éthanol

Par méthode enzymatique en phase homogène à complétude de réaction : Éthanol + NAD⁺ ----> éthanal + NADH + H⁺ Réaction catalysée par l'éthanol déshydrogénase (etDH), rendue totale par un milieu réactionnel alcalin et la présence de semicarbazide qui réagit avec l'éthanal formé.

La mesure du NADH formé par absorption moléculaire à 340 nm à complétude de réaction permet de connaître l'éthanol initialement présent.

Travailler avec des dilutions éventuelles convenables de l'échantillon à doser.

	Témoin réactifs	Echantillon	Témoin compensation échantillon (éventuellement)
Eau	E = 10 μ L		
solution étalon			
Échantillon à mesurer		E = 10 μ L	10 μ L
solution de travail (tampon, NAD ⁺ en excès, semicarbazide, etDH)	2mL	2 mL	-
eau	-	-	2 mL
<u>Homogénéiser</u> puis lire les absorbance contre de l'eau , à 340 nm, quand la réaction est terminée. Il faut 15 minutes à 37°C et 40 minutes à 20°C. Linéarité jusqu'à 2,2 g/L dans l'échantillon dans les conditions proposées.			
	A_{TR}	A_{1ech}	A_{TCE}

Calculer $A_{ech} = A_{1ech} - A_{TCE} - A_{TR}$

$$[éthanol]_{échantillon} = \frac{A_{ech}}{\epsilon * l} * \frac{Vmr}{E}$$

et finalement $[éthanol]_{échantillon} = \frac{A_{ech}}{6300 * 1} * \frac{2010}{10} * 46,07$ (exprimée en g/L)

$$[éthanol]_{échantillon} = A_{ech} * 1,470$$
 (exprimée en g/L)