

## *Bleu de bromophénol*

Le **bleu de bromophénol** (aussi appelé BBP) ou tétrabromophénolsulfonephthaléine est un indicateur coloré de pH.

Il est jaune pâle pour un un  $\text{pH} < 3$ , et bleu pour un  $\text{pH} > 4,6$ . Il peut parfois être utilisé comme teinture bleue en milieu neutre.

Sa zone de virage:  $3 < \text{pH} < 4,6$  est donc verte.

Couleurs du bleu de bromophénol	<i>forme acide</i> <u>jaune</u>	<i>zone de virage</i> pH 3 à pH 4,6	<i>forme basique</i>
---------------------------------	------------------------------------	--	----------------------

### Utilisation en biologie moléculaire

Le bleu de bromophénol est également utilisé comme marqueur coloré afin de vérifier le bon déroulement d'une électrophorèse sur gel de polyacrylamide ou d'une électrophorèse en gel d'agarose.

Le bleu de bromophénol est légèrement chargé négativement à un pH modéré : il migre alors dans la même direction que de l'ADN ou des protéines sur le gel.

La distance de migration varie en fonction de la densité du gel et de la composition du tampon, mais dans les conditions typiques d'utilisation (gel d'agarose à 1% dans un tampon TAE ou TBE), le bleu de bromophénol migre à la même distance qu'un fragment d'ADN d'environ 500 paires de bases.

Le bleu de bromophénol peut exister sous deux formes dont les solutions sont de couleurs différentes: la solution de HA (aq) est jaune et celle contenant A<sup>-</sup>(aq) est violette.

Lorsqu'on ajoute quelques gouttes de solution de bleu de bromophénol à de l'eau distillée, elle se colore en violet. En ajoutant à cette solution 3mL de solution S d'acide chlorhydrique de concentration  $c=1,0 \text{ mol/L}$  la solution devient jaune.

### Sous quelle forme trouve-t-on le bleu de bromophénol dans l'eau distillée ?

→ sous la forme de A<sup>-</sup>

C'est une réaction acido-basique. Quand on ajoute de l'acide chlorhydrique, on ajoute des ions H<sup>+</sup>. On a alors  $\text{A}^- + \text{H}^+ = \text{AH}$  : c'est pour ça que la solution devient jaune !

Pour revenir à une solution bleue, Il faut trouver une réaction permettant de faire passer les molécules HA (et oui, la solution est jaune) en A<sup>-</sup>

C'est encore une réaction acido-basique. Il suffit d'utiliser une base pour pouvoir venir prendre le H de la molécule AH.

### EXPERIENCES

#### 1. Suivi par chromatographie de la fermentation malolactique.

On utilise :

– le matériel classique pour chromatographie sur papier (cuve à chromatographie, papier à chromatographie, micropipette, sèche-cheveux ou étuve...);

– comme " solvant " (éluant), un mélange de propanol, d'eucalyptol et d'acide méthanoïque ;

- comme révélateur un mélange d'éthanol, de bleu de bromophénol et de soude, placé dans un pulvérisateur ;
- différents échantillons d'acides et de vins.

## 2. La chromatographie sur papier : mise en évidence de l'acide malique

Cette méthode permet de suivre l'évolution des principaux acides organiques non volatils présents dans le cidre. Elle permet également de déceler un début de fermentation malolactique. Cette chromatographie se fait sur tous les échantillons et plus particulièrement sur ceux dont une baisse d'acidité totale a été notée. Ceci permet de constater ou non la transformation de l'acide malique (constituant du cidre) en acide lactique par les bactéries lactiques.

Matériel nécessaire : Papier Wathman n 1.

Solvant révélateur : propanol 300 cc, eucalyptol 300 cc, acide formique 120 cc, bleu de bromophénol.

Acide lactique et acide malique (témoins).

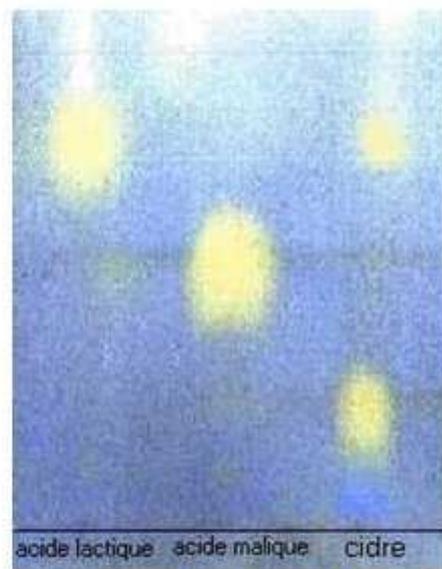
Principe : Le bleu de bromophénol est bleu à  $\text{pH} > 4,5$  et jaune à  $\text{pH} < 4,5$ .

Après évaporation du solvant, le papier devient bleu sauf au niveau des acides où il reste jaune.

Résultat :



Expérience en cours

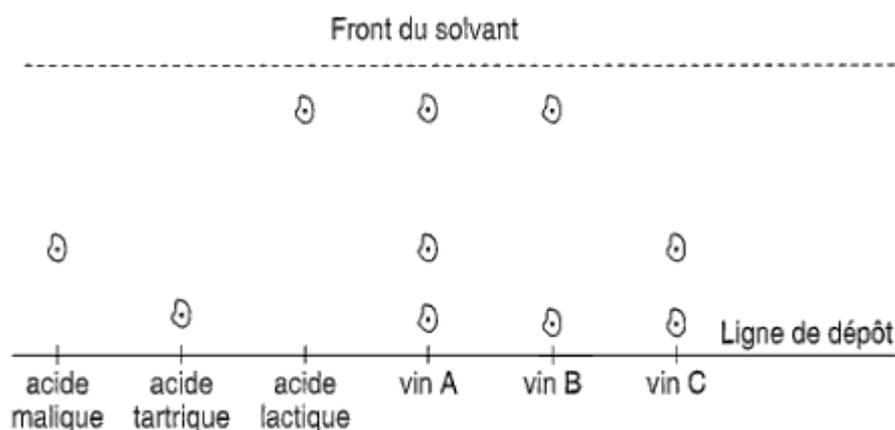


Résultat

## 3. Fermentation malolactique dans le vin

Le vin nouveau qui finit sa fermentation alcoolique présente dans la plupart des cas un excès d'acidité qui le rend acerbé et dur à la dégustation : on parle d'astringence. Deux acides sont responsables de cet état de fait : l'acide tartrique et l'acide malique.

L'acide malique peut être transformé en acide lactique par les ferments lactiques. L'acide malique possède deux fonctions acides alors que l'acide lactique n'en possède qu'une. Cette transformation chimique s'appelle la fermentation malolactique. De nombreux micro-organismes sont aptes à la réaliser dans le vin, parmi lesquels *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*.



La fermentation malolactique voit également augmenter la souplesse du vin ainsi que son moelleux. Des arômes apparaissent tel le diacétyle. Les ferments lactiques peuvent s'attacher à d'autres molécules et produire des molécules désagréables comme l'aci-

de acétique. Ce phénomène apparaît lorsque l'acide malique est entièrement transformé. La fermentation malolactique apparaît dans la technique traditionnelle au printemps lorsque la température des caves augmente.

<http://www.oenologie.fr/tag/analyse-sensorielle>

### **PRÉPARATION :**

bleu de bromophénol :	1 g
Eau bidistillée :	100 cc

Travailler sous hotte !

Dissoudre d'abord le colorant dans l'eau

Placer sur agitateur magnétique durant 4 heures

Filter

Le mélange se conserve très longtemps et est prêt à l'emploi !

### **UTILISATION :**

Au départ, c'est un indicateur de pH d'un milieu  
(voir barre colorimétrique ci-dessus)

### **DANGERS :**

Ce colorant est toxique per os ; il tache très vite la peau.

### **CONSERVATION :**

Cette solution se conserve quasi indéfiniment en flacon bien fermé

Créateur du projet : Didier BAAR ( ★ )    Auteur de la fiche technique : Marcel LECOMTE

Responsable : Marcel LECOMTE (Cercle Mycologique de Namur & Cercle des M.L.B.)

Cercle des Mycologues du Luxembourg belge asbl (M.L.B.), Président : Paul PIROT, rue des Peupliers, 10, B-6840 NEUFCHATEAU

Pour vos commandes : voir la feuille du Catalogue