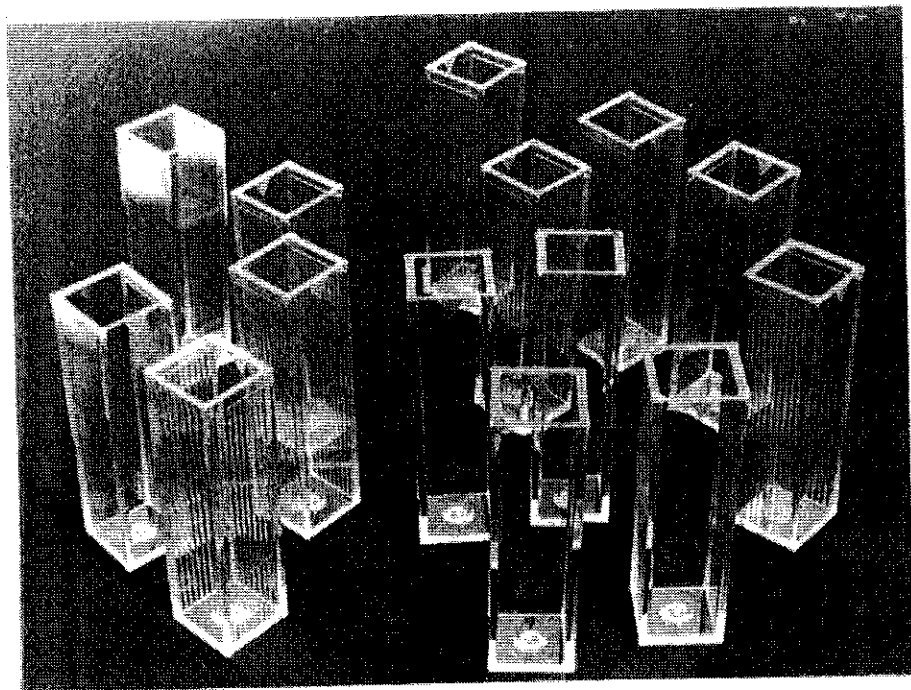


upbm-édilion



ANNALES

Brevet de Technicien Supérieur

BIOCHIMISTE

LELANDAIS *g*inette
page 36 à 440.

ANNALES

Brevet de Technicien Supérieur

BIOCHIMISTE

sessions 1978-1984



PUBLICATIONS DE L'UPBM

Diffusion : UPBM - ÉDILION, Lycée Technique
« La Martinière », 4^e avenue, La Duchère,
69338 Lyon Cedex 9.

Annales réalisées par Guy BATTIER
professeur au Lycée Technique La Martinière
à Lyon
avec la collaboration de Ginette BONNET
professeur au Lycée Technique Marie Curie
à Marseille
et de Gérard COUTOULY
professeur au Lycée Technique Jean Rostand
à Strasbourg

**Union des Professeurs
de Physiologie
Biochimie et Microbiologie**

Lycée Technique • La Martinière •
La Duchère
69338 LYON CEDEX 9
C.C.P. LYON 5785-38 U

B.T.S. Biochimiste

Sommaire

4	----	Règlement d'examen		
5	----	Définition de la nature des épreuves		
7	----	Epreuves de la session 1978		
33	---	"	"	1979
54	---	"	"	1980
83	---	"	"	1981
113	--	"	"	1982
143	--	"	"	1983
170	--	"	"	1984

RÈGLEMENT D'EXAMEN
(Annexe I de l'arrêté du 4 septembre 1974)

Nature des épreuves	Durées max.	Coeff.
Premier groupe		
1 A Français et législation	4 h	2
1 B Biochimie	4 h	4
1 C Physique et chimie	4 h	4
1 D Biologie	4 h	4
Total		14
Epreuve facultative (a) de langue vivante :		
Ecrite	1 h	
ou		1
Orale (b)	20 mn	
Deuxième groupe (c)		
2 A Travaux pratiques d'analyses biochimiques (+ physique + montage)	6 h	6
2 B Travaux pratiques d'analyses chimiques (+ physique + montage)	6 h	5
2 C Travaux pratiques de microbiologie ..	5 h	5
Total		16
<p>(a) Seuls les points supérieurs à la moyenne sont pris en compte à l'issue des épreuves du premier groupe.</p> <p>(b) En ce cas l'épreuve sera précédée d'un temps égal de préparation.</p> <p>(c) Les documents personnels sont autorisés pour les travaux pratiques du deuxième groupe d'épreuves.</p> <p>Remarques :</p> <p>1° Les candidats admissibles à une session antérieure et qui conservent le bénéfice de cette admissibilité pour la session 1976 devront subir les épreuves du deuxième groupe et obtenir une moyenne égale ou supérieure à 10 pour être déclarés admis.</p> <p>2° Les résultats obtenus par les candidats à l'issue des épreuves du 1^{er} groupe seront, en cas d'échec à la suite des épreuves du deuxième groupe, mentionnés dans le dossier scolaire.</p> <p>3° Note éliminatoire : seule la note 0 maintenue par le jury sera considérée comme note éliminatoire aussi bien au premier groupe d'épreuves qu'au second.</p>		

DÉFINITION DE LA NATURE DES ÉPREUVES

(Annexe II de l'arrêté du 4 septembre 1974)

1 A FRANÇAIS

1° L'épreuve a pour but de vérifier l'aptitude du candidat, d'une part à saisir dans un texte les idées essentielles et leur organisation logique, d'autre part à s'exprimer avec simplicité et correction.

2° Le texte proposé comportera une trentaine de lignes dactylographiées. Il offrira par lui-même un sens assez complet, sera clair, bien composé et se prêtera à une analyse d'idées.

Le texte, emprunté à un auteur contemporain, portera sur un sujet d'ordre général, scientifique ou technique, avec éventuellement des aspects sociaux, humains et des rapports avec la morale et la législation professionnelles. Il pourra également porter sur les problèmes de la vie moderne, problèmes de culture personnelle et de relations sociales, qui peuvent intéresser un futur technicien supérieur. On tiendra compte dans le choix du texte des caractères particuliers du domaine professionnel auquel le candidat se destine.

Le candidat devra :

a) Résumer le texte en une dizaine de lignes montrant qu'il a saisi le sens général et la composition, ainsi que l'argumentation et la thèse de l'auteur ;

b) Exprimer dans un commentaire succinct et composé ses vues personnelles sur une idée importante du texte.

1 B BIOCHIMIE

L'épreuve comportera une ou plusieurs questions avec des exercices en relation avec l'enseignement théorique des deux années de préparation. Il pourra être demandé les principes de méthodes utilisées au laboratoire ; les candidats pourront être appelés à faire la preuve que leurs connaissances théoriques ont bien été confirmées par une pratique effective des techniques fondamentales de laboratoire.

1 C PHYSIQUE ET CHIMIE

Pour chacune des disciplines, l'épreuve pourra comporter une question de cours (deux sujets au choix) et des exercices ou un problème. Elle pourra faire appel à des connaissances acquises en travaux pratiques.

1 D BIOLOGIE

L'épreuve portera sur les programmes de microbiologie et de physiologie des deux années d'étude (deux sujets au choix des candidats pour chacune des questions de cours de ces deux disciplines).

Les questions pourront faire appel à des notions d'immunologie et d'hématologie.

Les candidats pourront être amenés à faire la preuve que leurs connaissances théoriques ont bien été confirmées par une pratique effective des techniques fondamentales de laboratoire.

2 A TRAVAUX PRATIQUES D'ANALYSES BIOCHIMIQUES

(+ physique + montage)

L'épreuve comportera un rapport préliminaire portant sur les techniques et les méthodes d'analyse et aboutira à plusieurs résultats consignés sur un compte rendu, les analyses ou préparations étant effectuées selon des modes opératoires donnés. Il sera tenu compte de l'aptitude à manipuler.

Cette épreuve pourra comporter également une manipulation de physique ainsi qu'un montage.

2 B TRAVAUX PRATIQUES D'ANALYSES CHIMIQUES

(+ physique + montage)

L'épreuve comportera un rapport préliminaire portant sur les méthodes d'analyse et aboutira à plusieurs résultats consignés sur un compte rendu, les analyses étant effectuées selon des modes opératoires donnés. Il sera tenu compte de l'aptitude à manipuler.

Cette épreuve pourra comporter également une manipulation de physique ainsi qu'un montage.

2 C TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

L'épreuve portera sur le programme de microbiologie des deux années d'études; elle comportera deux parties : microbiologie systématique et microbiologie appliquée.

Les candidats seront jugés sur leurs compétences techniques; la manière d'utiliser leurs documents sera appréciée. Ils seront appelés à justifier les résultats obtenus.

EPREUVES DE LA SESSION 1978

BIOCHIMIE

- LE CYTOCHROME C : (30 points)

1.1. - Fractionnement d'un mélange protéique sur Amberlite IR 120 :

La résine Amberlite IR 120 est un échangeur d'ions dont les groupements actifs sont des fonctions acide sulfonique ($-SO_3H$).

1.1.1. - Détermination de la capacité de rétention de la résine.

Afin de déterminer la capacité de rétention de la résine, on place dans une colonne 5 g de résine sèche, que l'on lave avec une solution d'HCl N, puis que l'on rince abondamment à l'eau distillée jusqu'à neutralité.

Ensuite, on passe sur la colonne, une solution de chlorure de sodium 2 M en excès, le filtrat correspondant à cette dernière opération est recueilli.

Ce filtrat est ensuite dosé par 11,5 ml de NaOH 1,04 N.

- Ecrire l'équation de la réaction d'échange.
- Déterminer la capacité de rétention de la résine en milli-équivalents par gramme de résine sèche.

1.1.2. - Fractionnement d'un mélange protéique :

On équilibre la résine à pH 5,6, pour cela, on la lave avec un tampon pH 5,6 jusqu'à ce que l'effluent ait la même composition que le tampon.

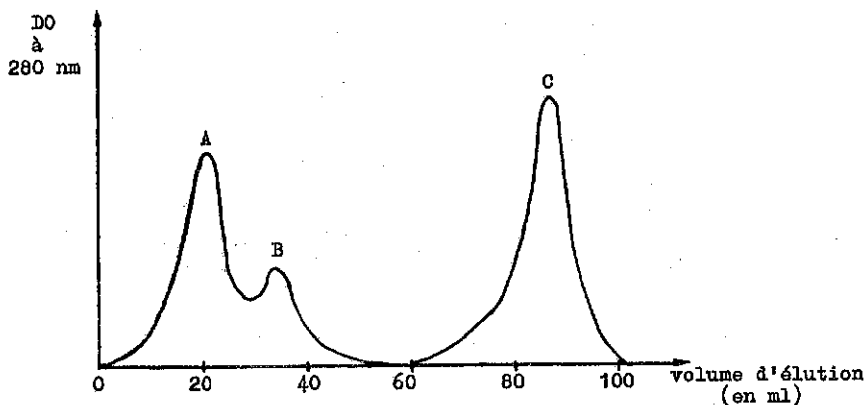
Puis, on prépare l'échantillon, mélange des 4 protéines suivantes :

cytochrome c	pHi = 10,6
glycérol 3-phosphate déshydrogénase	pHi = 8,6
isocitrate déshydrogénase	pHi = 7,1
glycéro-kinase	pHi = 4,6

en le dialysant contre le tampon pH 5,6.

L'échantillon est ensuite déposé dans la colonne.

- a) - On fait passer du tampon pH 5,6. Expliquer le comportement des 4 protéines du mélange.
- b) - Elution par un gradient de pH.
On élue ensuite la colonne par un tampon dont le pH augmente progressivement de façon linéaire.



L'analyse de l'effluent par spectrophotométrie donne le graphe ci-dessus. Interpréter ce graphe, identifier les 3 protéines. Justifier la réponse. On considèrera que les interactions entre l'échangeur et les protéines sont purement électrostatiques et que la force ionique du milieu est négligeable.

1.2. - Détermination de la masse molaire minimum du cytochrome c de cheval :

Sachant que la teneur en fer du cytochrome c est égale à 0,426 %, déterminer sa masse molaire minimum.

Donnée : Fe = 56

1.3. - Composition en acides aminés soufrés :

L'analyse élémentaire révèle que le cytochrome c renferme 0,97 % de soufre. En déduire le nombre minimum d'acides aminés soufrés contenus dans la chaîne peptidique de ce cytochrome.

Donnée : S = 32

1.4. - La chaîne respiratoire :

- 1.4.1. - Ecrire la suite des réactions qui constituent l'ensemble de la chaîne respiratoire mitochondriale, assurant la réoxydation du NADH par l'oxygène.
- 1.4.2. - On fait abstraction des transporteurs d'électrons situés entre le cytochrome b et le cytochrome c, et on considère la réaction d'oxydo-réduction faisant intervenir ces 2 cytochromes.
- a) - Dans quel sens la réaction tend-elle à se faire spontanément dans les conditions standard ? Pourquoi ?
- b) - Calculer la variation d'enthalpie libre standard de la réaction correspondant à cette étape de la chaîne ? Cette étape correspond-elle à la phosphorylation d'un ADP ? Justifier la réponse.

Données :

$F = 96\,500$ coulombs couple redox	1 calorie = $4,18$ Joules E'_0 pH 7 à 30°C en V
$\text{Cyt c Fe}^{3+}/\text{Cyt c Fe}^{2+}$	+ 0,25
$\text{Cyt b Fe}^{3+}/\text{Cyt b Fe}^{2+}$	+ 0,08

ETUDE DE DIFFERENTES VOIES DU METABOLISME ENERGETIQUE (50 points)

2.1. - La glycolyse en anaérobiose :

2.1.1. - Préciser, à l'aide d'un schéma sans formule, les étapes de la glycolyse.

Donner un exemple pris dans la chaîne de la glycolyse pour les trois types de réactions suivantes :

- a) - réaction réversible,
- b) - réaction irréversible mais pour laquelle on peut passer du produit au substrat par un système enzymatique différent,
- c) - réaction irréversible sans possibilité de retour du produit vers le substrat en une seule étape.

Justifier les réponses.

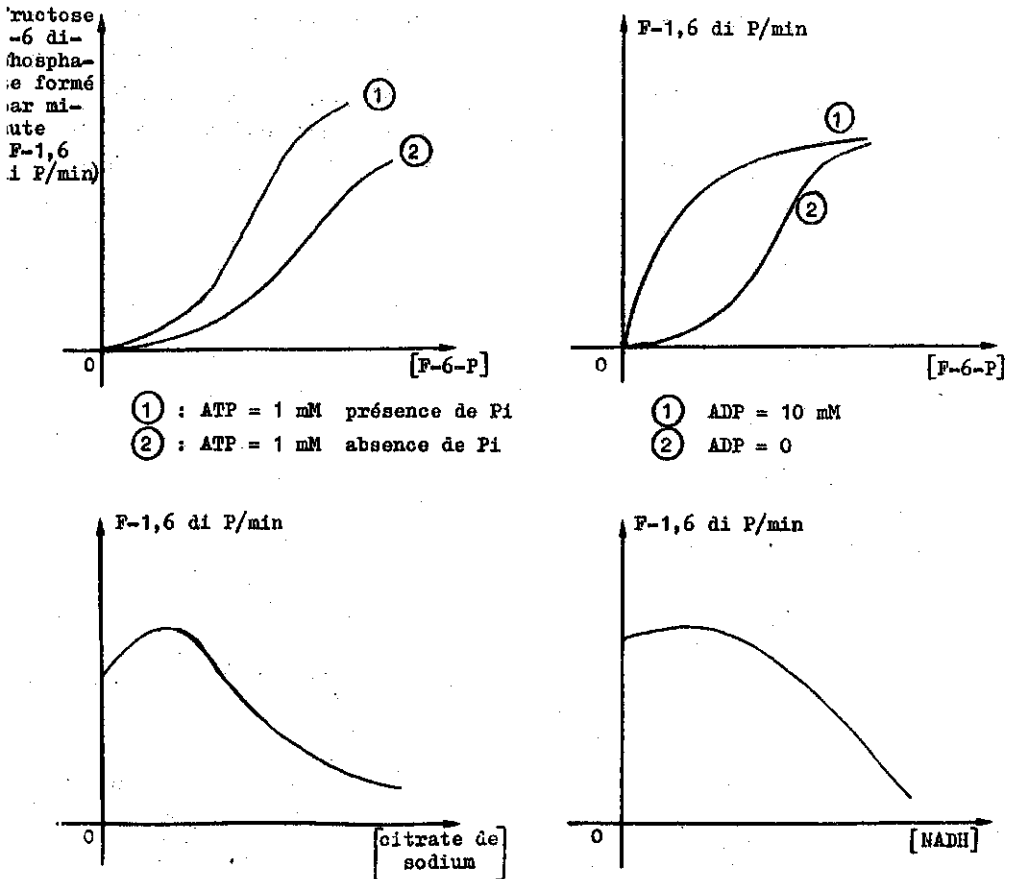
2.1.2. - Une préparation tissulaire capable de cataboliser le glucose en anaérobiose par la voie de la glycolyse est placée dans un milieu contenant du glucose et tous les cofacteurs nécessaires.

- Quels seront les intermédiaires synthétisés en présence d'un inhibiteur de l'aldolase ?
- Quels seront les intermédiaires synthétisés en présence d'un inhibiteur de l'énolase ?

2.1.3. - Etude d'une enzyme de la glycolyse : la phosphofructokinase.

On étudie l'influence de quelques effecteurs sur l'activité de la phosphofructokinase (PFK) : phosphate minéral (Pi), ADP, citrate de sodium, NADH.

On obtient les courbes schématisées figure 1

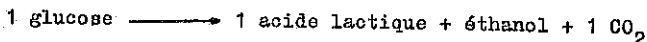


Quelles conclusions peut-on tirer de l'analyse de ces courbes ?

2.2. - La fermentation hétérolactique chez Lactobacillus brevis :

Cette séquence est résumée sur la figure 2. La transformation du 3-phosphoglyceraldéhyde en acide lactique emprunte la voie de la glycolyse.

2.2.1. - Etablir le bilan en ATP et en coenzymes réduits lorsque l'équation de la fermentation est :



2.2.2. - Préciser la signification biologique de la réaction (4)

2.2.3. - Une étude précise des produits formés donne les résultats regroupés dans le tableau ci-dessous. Toutes les valeurs sont exprimées en millimoles de produits formés à partir de 10 millimoles de glucose fermenté.

Acide lactique	10,2
Ethanol	9,7
Dioxyde de carbone	9,5
Acide acétique	0,0

- Etablir la balance carbonée de cette fermentation (rapport exprimé en % entre le nombre de moles d'atomes de carbone récupérés en produits et le nombre d'atomes de carbone de glucose consommé). Commenter la valeur trouvée.

3. - La fermentation alcoolique :

On étudie la production industrielle d'éthanol, par fermentation alcoolique, réalisée sur milieu glucidique, par une levure.

2.3.1. - Bilan moléculaire.

a) - Etablir le bilan moléculaire de la transformation d'une molécule de glucose en éthanol par fermentation alcoolique.

b) - Au cours d'un essai, on fait fermenter 4,5 g de glucose, on obtient 1 200 ml de CO_2 mesuré à 20°C et sous 1 atmosphère de pression et 2,25 g d'éthanol.

Ces résultats sont-ils concordants avec le bilan moléculaire établi ?

Donnée : $R = 0,082 \text{ atm.l.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$

2.3.2. - Etude de la consommation en mélasse.

On réalise une fermentation alcoolique à partir d'une souche de levure et d'un substrat glucidique constitué par une mélasse dont la teneur en carbone est de 44 % du poids sec.

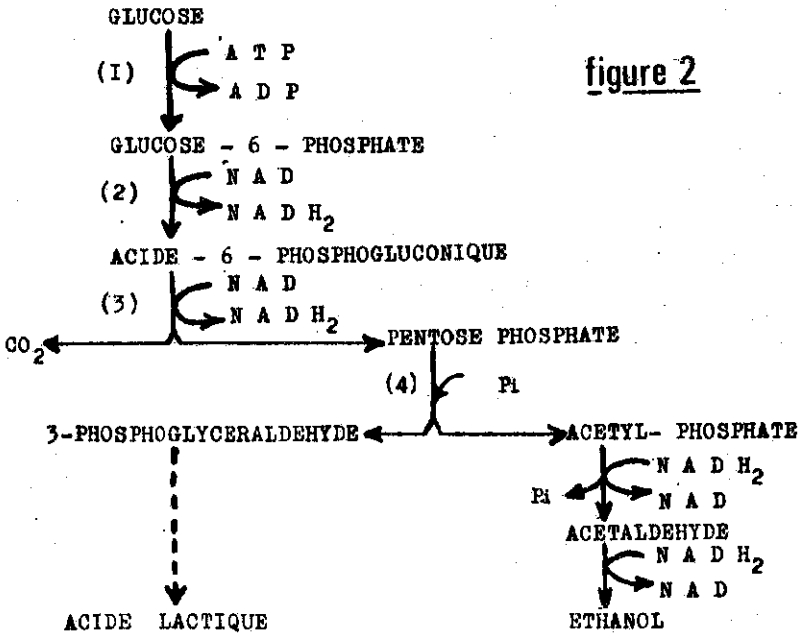
La production est de 86 g.l⁻¹ d'éthanol et de 18 g.l⁻¹ de biomasse de levure dont la teneur en carbone est de 48 %.

Au cours d'essais réalisés dans des conditions comparables, on détermine que le rendement de la transformation du substrat en matériel cellulaire, exprimé en carbone, est de 60 %.

- En admettant que la fermentation alcoolique est réalisée selon le bilan moléculaire théorique déterminé précédemment, calculer la diminution de concentration de la mélasse dans le milieu.

Données : C = 12 H = 1 O = 16

figure 2



PHYSIQUE ET CHIMIE

PHYSIQUE (coefficient 2)

1 - QUESTION DE COURS (8 points).

Le candidat doit obligatoirement traiter une des deux questions suivantes, au choix :

1.1. - Tension superficielle :

- Définition du coefficient de tension superficielle d'un liquide.
- Sa mesure :
 - . description d'un appareil,
 - . principe de la mesure et expression littérale permettant de calculer le coefficient,
 - . précautions à prendre et corrections éventuelles.
- Application : ascension d'un liquide dans un tube capillaire.

O U

1.2. - Oscillographe cathodique :

- Donner une description sommaire d'un tube cathodique en précisant le rôle de chacun des éléments.
- Action des plaques de déviation sur le faisceau d'électrons.
- Allure de la tension appliquée aux plaques pour constituer une base de temps. Expliquer.
- Principe d'une méthode de mesure de déphasage entre deux tensions sinusoïdales de même fréquence.

2 - PROBLEME (12 points).

On donne : célérité de la lumière : $c = 3 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$.
 constante de Planck : $h = 6,62 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$.
 charge de l'électron : $e = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$.

Un collimateur donne d'une source ponctuelle, naturelle, monochromatique, de longueur d'onde $\lambda_0 = 550 \text{ nm}$, une image à l'infini. Le faisceau de rayons parallèles issus du collimateur transporte une puissance lumineuse $P = 10^{-3} \text{ W}$. L'ensemble du faisceau éclaire la cathode d'une cellule photo-électrique à laquelle on impose une tension U suffisante pour obtenir l'intensité à saturation i_s .

2.1. - Dans cette partie, on utilise une cathode au césium pour laquelle :

- . potentiel d'arrêt : $V_a = - 0,4 \text{ V}$,
- . rendement quantique : $r = 0,05$ pour λ_0 ,
- . seuil photoélectrique : $f_0 = 5 \cdot 10^{14} \text{ s}^{-1}$.

2.1.1. - Donner l'allure de la caractéristique $i = f(U)$ de la cellule et le schéma du montage électrique permettant de l'obtenir.

2.1.2. - Définir les trois données ci-dessus, pour le césium, et donner leur interprétation.

2.1.3. - Retrouver l'expression de l'intensité à saturation i_s en fonction de la puissance lumineuse P reçue par la cellule. La calculer numériquement.

Dans la suite du problème, on considèrera que l'intensité i_s a été amplifiée et que le facteur de sensibilité de l'ensemble : cellule + amplificateur est $k = \frac{i}{P} = 5 \text{ ampères par milliwatt pour } \lambda_0$.

2.2. - Avant de frapper la cellule, le faisceau traverse complètement deux nicols dont les plans de section principale font entre eux un angle θ .

2.2.1. - Lorsque $\theta = 0$, on mesure $i = 2,5 \text{ A}$. Quelle est la valeur de i si $\theta = 30^\circ$?

2.2.2. - Entre les deux nicols croisés, on intercale une substance dont le pouvoir rotatoire est $\alpha = 30^\circ$. Calculer i , en négligeant l'absorption de la substance.

2.2.3. - Que deviendrait i si on doublait, dans la question 2.2.2. l'épaisseur de substance active ?

2.3. - On retire les nicols et la substance active. Le faisceau traverse, à la sortie du collimateur et avant d'arriver sur la cathode une substance colorée dont la densité optique est $D_0 = 0,5$, pour la longueur d'onde λ_0 .

2.3.1. - Quelle est la valeur de i , après amplification ?

2.3.2. - Que deviendrait-elle si on doublait l'épaisseur de substance absorbante ?

CHIMIE (coefficient 2)

1 - CHIMIE GÉNÉRALE -

1.1. - Dans une solution de chlorure stanneux (SnCl_2) on verse une solution de chlorure ferrique (FeCl_3), montrer que c'est une réaction d'oxydo-réduction.

En considérant qu'il s'agit d'un équilibre, calculer la constante d'équilibre correspondante, interpréter la valeur trouvée.

On donne les potentiels normaux des couples rédox :

$$E_0 \text{ Sn}^{4+}/\text{Sn}^{2+} = + 0,15 \text{ V}$$

$$E_0 \text{ Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+} = + 0,77 \text{ V}$$

1.2. - On dose 100 cm^3 d'une solution de chlorure stanneux par une solution de chlorure ferrique à $0,1 \text{ mol/dm}^3$.

1.2.1. - Décrire le dispositif expérimental utilisé pour ce dosage potentiométrique.

1.2.2. - Le point d'équivalence est obtenu lorsqu'on a versé 150 cm^3 de la solution de chlorure ferrique. Définir la normalité d'une solution d'oxydant.

Calculer la normalité N_1 et la concentration molaire volumique (molarité C_1) de la solution de chlorure stanneux.

1.2.3. - On plonge une électrode de platine dans 100 cm^3 de la solution de chlorure stanneux ; exprimer le potentiel d'électrode E en fonction de $x = \frac{v}{v_e}$ avec v : volume de FeCl_3

versé

$v_e = 150$: volume de FeCl_3
versé au point
d'équivalence

a) - Etablir la relation $E = f(x)$:

- avant le point d'équivalence,
- après le point d'équivalence.

Calculer E pour les valeurs de x suivantes : 0,2 - 0,5 - 0,8 - 1,2 - 1,5 - 2.

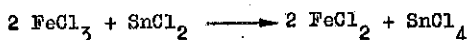
b) - Montrer que le potentiel au point d'équivalence est :

$$E_e = \frac{E^\circ_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} + 2 E^\circ_{\text{Sn}^{4+}/\text{Sn}^{2+}}}{3}$$

Tracer la courbe $E = f(x)$

Donnée : $\frac{RT}{F} \times 2,3 = 0,06$.

1.3. - On considère la réaction d'oxydo-réduction :



dont l'expression de la vitesse est :

$$v = k [\text{Sn}^{2+}] [\text{Fe}^{3+}]^2$$

Pour vérifier l'ordre partiel par rapport aux ions ferriques, on utilise un excès de chlorure stanneux ; les concentrations molaires volumiques (molarités) initiales sont :

$$[\text{Fe}^{3+}]_0 = 0,05 \text{ mol/dm}^3 \quad [\text{Sn}^{2+}] = 0,5 \text{ mol/dm}^3$$

On donne la molarité des ions ferreux au cours du temps.

t_{min}	0	0,5	1	2	3
$[\text{Fe}^{2+}] \text{ mol/dm}^3$	0	$1,35 \cdot 10^{-2}$	$2,15 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$3,45 \cdot 10^{-2}$

On considère la concentration molaire volumique des ions stanneux comme invariable et on définit la vitesse par rapport aux ions ferriques : $v = - \frac{d[\text{Fe}^{3+}]}{dt}$

1.3.1. - Montrer que l'ordre partiel par rapport aux ions Fe^{3+} est égal à 2.

1.3.2. - Définir et calculer le temps de demi-réaction.

N.B. : Les questions 1.1. - 1.2. et 1.3. peuvent être traitées indépendamment.

2 - CHIMIE ORGANIQUE -

L'analyse élémentaire quantitative d'une substance organique non azotée A a conduit à la composition centésimale suivante :

C % = 62

H % = 10,3

O % = 27,7

Lorsqu'on dissout 2 g de substance A dans 100 g d'acide acétique la température de congélation commençante est 15,7°C ; la température de congélation de l'acide acétique pur est 17°C.

- 2.1. - Déterminer la formule brute du composé A.
- 2.2. - Pour déterminer la formule développée on effectue les expériences suivantes :
- 2.2.1. - On traite A par la 2-4 dinitrophénylhydrazine, on obtient un produit cristallisé ; écrire l'équation de réaction et indiquer les formules possibles de A.
- 2.2.2. - Le composé A réagit avec la liqueur de Fehling. Préciser la nature de la liqueur de Fehling, écrire l'équation de réaction et donner la formule développée de A.
- 2.2.3. - Le composé A réagit avec l'hydrogénosulfite (ou bisulfite) de sodium, écrire l'équation de réaction.
- 2.3. - On traite le composé A par une solution de soude à 10 %, on obtient un composé B qui subit une déshydratation en milieu acide. Ecrire les équations de la suite de réactions en proposant leurs mécanismes.
- Données : constante cryométrique de l'acide acétique : 3860, les masses étant exprimées en grammes.

BIOLOGIE

I - MICROBIOLOGIE (Coef. : 2)

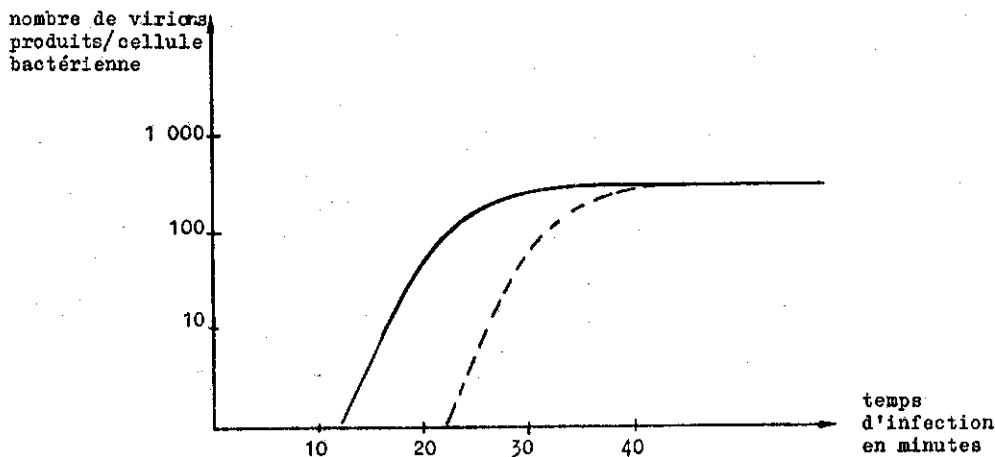
Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix.

PREMIER SUJET : LES VIRUS.

1 - Quels caractères permettent de les définir ? Donnez le principe de leur classification. (5 points)

2 - L'infection virale : (10 points) :

Une étude de l'évolution du nombre total de bactériophages produits par cellule bactérienne infectée a permis d'établir les courbes suivantes :



trait plein : nombre total de virions après lyse provoquée des bactéries

trait pointillé : nombre de virions extracellulaires produits spontanément

- 2.1. - Analysez ces courbes. Quelles étapes du cycle viral permettent-elles de distinguer ?
- 2.2. - Décrivez les événements intracellulaires qui se produisent au cours du cycle lytique.

2.3. - A la suite d'une infection phagique y a-t-il toujours libération des phages ? Justifiez votre réponse.

- 3 - Problèmes posés par les bactériophages dans les industries alimentaires. (5 points)

O U

DEUXIEME SUJET :

- 1 - Principales étapes du développement d'une culture bactérienne en milieu liquide non renouvelé (6 points).
- 2 - Précisez les différentes étapes de la division d'une cellule bactérienne. (6 points)
- 3 - En vous fondant sur des observations expérimentales définissez le phénomène de mutation et dégagez-en les caractères essentiels. Quelle interprétation pouvez-vous en donner ?

II - PHYSIOLOGIE (Coef. : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix :

PREMIER SUJET : LE SANG :

- 1 - Structure du tissu sanguin (4 points).
- 2 - Rôle des hématies dans les échanges gazeux (10 points).
- 3 - Les groupes sanguins A, B, O : définition et principe de leur détermination. (6 points).

TROISIEME SUJET : PHYSIOLOGIE RENALE ET ENDOCRINE.

- 1 - Physiologie rénale et glycémie. (10 points)
 - 1.1. - L'exploration expérimentale du comportement global du rein vis à vis du glucose permet d'établir l'évolution de la concentration en glucose de l'urine primitive et de l'urine définitive en fonction de la glycémie : figure 1.
Que représente, pour chaque valeur de la glycémie la différence entre les deux concentrations urinaires ? Tracez l'évolution de cette différence en fonction de la glycémie.
Interprétez ces différentes courbes en expliquant le comportement du néphron vis à vis du glucose.

- 1.2. - Chez un rat, on détruit par l'alloxane les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. La figure 2 donne l'évolution dans le temps de la glycémie et de la glucosurie de ce rat.
Justifiez ces résultats en précisant le rôle du pancréas et celui des reins.

2 - Physiologie rénale et équilibre hydro-minéral. (10 points).

- 2.1. - L'ablation chez un rat de la corticosurrénale est suivie :

- d'une hypernatrurie,
- d'une polyurie,
- d'une hypokaliurie,
- d'une baisse du pH sanguin.

Expliquez ces troubles.

Précisez la relation entre la corticosurrénale et le rein.

- 2.2. - On mesure les pressions osmotiques du fluide tubulaire et du plasma d'un animal dans des conditions expérimentales normales et en hyperhydratation : figure 3.

Parallèlement on mesure dans les mêmes conditions la pression osmotique du plasma et le débit urinaire de cet animal : figure 4.

Le dosage de l'A.D.H. circulant (hormone antidiurétique) pendant l'expérience d'hyperhydratation montre une forte baisse après 30 min.

- 2.2.1. - Analysez la figure 3 et interprétez les échanges d'eau dans le tube proximal, dans le tube distal, puis dans le canal collecteur.

- 2.2.2. - Analysez la figure 4 et déduisez le rôle de l'A.D.H. dans les phénomènes tubulaires de réabsorption d'eau.

- 2.2.3. - Quelle est l'origine de cette hormone ?

débit urinaire
de glucose
en g/min

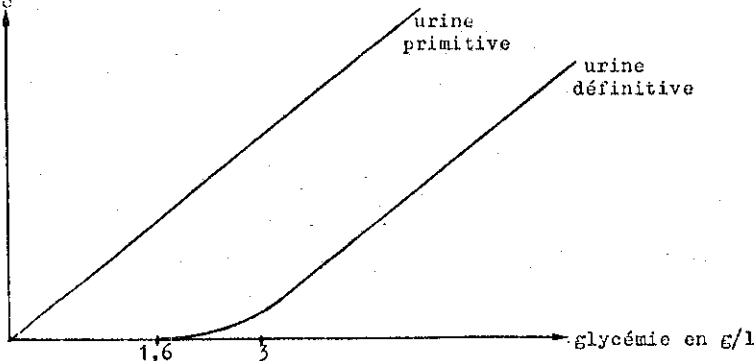
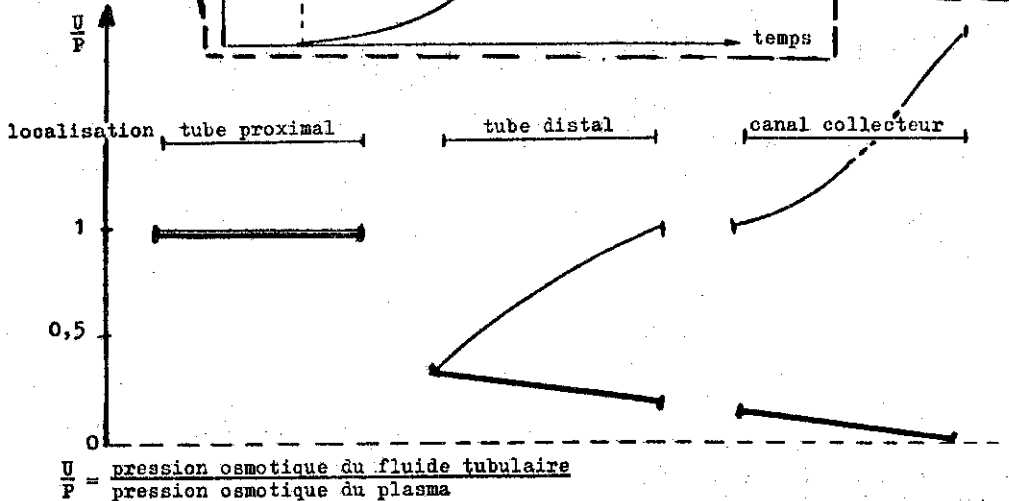
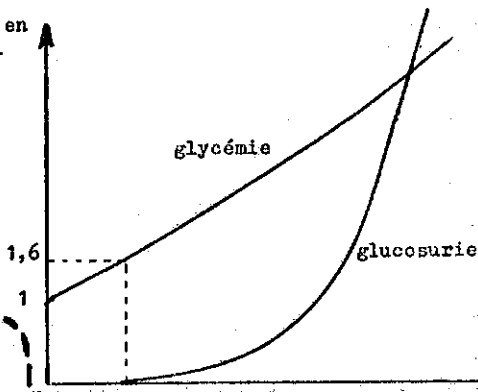


Figure 1

concentration en glucose en g/l

Figure 2



$\frac{U}{P}$ = $\frac{\text{pression osmotique du fluide tubulaire}}{\text{pression osmotique du plasma}}$

- hyperhydratation
- - - conditions normales

Figure 3

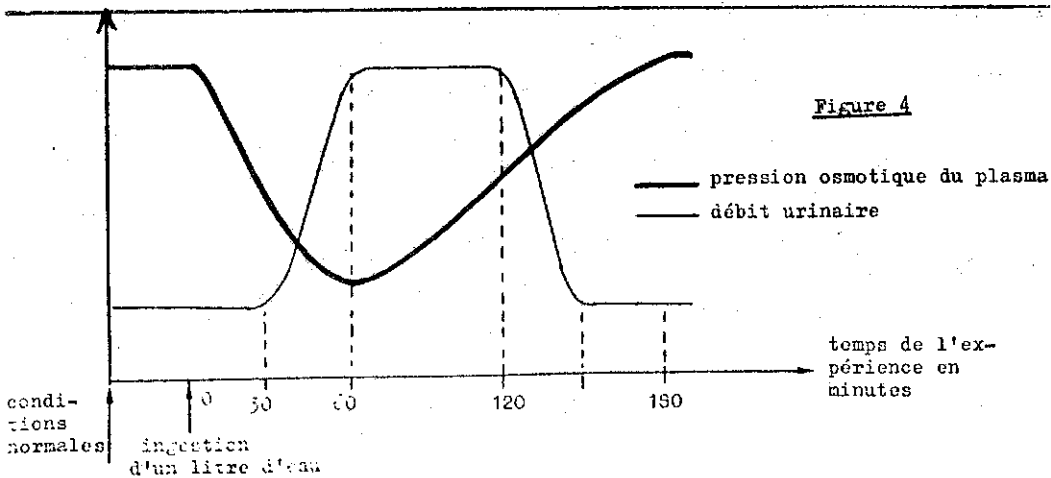


Figure 4

- pression osmotique du plasma
- - - débit urinaire

conditions normales

ingestion d'un litre d'eau

temps de l'expérience en minutes

ANALYSES BIOCHIMIQUES

(+physique + montage)

A - Rédaction préliminaire (durée : 45 min - Coefficient : 1)

Documents non autorisés

I - Dosage enzymatique du glucose : méthode à la glucose-oxydase

- Principe du dosage.
- Réalisation pratique.
- Intérêt et limites de cette méthode.
- Proposer un complément au protocole opératoire permettant de contrôler la validité du résultat obtenu.

II - Dosage de l'éthanol par chromimétrie.

- Principe du dosage avec équations de réaction.
- Principaux temps du mode opératoire.
- Expression du résultat.

B - Manipulation (durée : 5 h 15 - Coefficient : 5)Documents personnels autorisés

- 1 - On se propose d'identifier les différents glucides contenus dans un milieu A par chromatographie sur couche mince.
- 2 - Une levure, *Candida krusei*, en anaérobiose, se développe dans le milieu A en n'utilisant que le glucose avec production d'éthanol et de dioxyde de carbone.

Pour déterminer le rendement de cette fermentation :

- 2-1- on dose le glucose de (A) par la glucose-oxydase.
- 2-2- on dose l'éthanol formé par chromimétrie dans le milieu (B) résultant de la fermentation.

I - Analyse du milieu A**A - Identification des glucides par chromatographie sur couche mince.****1 - Principe :**

Le mélange sucré est soumis à une chromatographie ascendante sur couche mince, parallèlement à une série de témoins. Après développement, le chromatogramme est révélé à l'aide d'un réactif au thymol.

2 - Réactifs et matériel

Une plaque de gel de silice (20 x 20 cm) est réactivée par un séjour de 30 minutes à l'étuve à 100°C.

- Solvant de développement :

{	N butanol	4 V
	Acétone	5 V
	Eau distillée	1 V

- Révélateur au thymol :

{	Thymol	200 mg
	Alcool à 80 %	30 ml
	H ₂ SO ₄ pur	7,5 ml

3 - Mode opératoire :

- Préparation du chromatogramme :

Sur les 2 bords latéraux de la couche, ôter une bande mince de gel de silice (5 mm) afin d'éviter les phénomènes de diffusion.

À 2 cm du bas de la couche mince, tracer la ligne de départ ; les dépôts seront faits sur cette ligne à 2 cm environ les uns des autres.

Réaliser le dépôt des solutions étalons de glucides et du milieu A à l'aide de tubes capillaires ou de micropipettes (Dépôt de 2 à 3 mm de diamètre fait en 2 fois).

Les solutions étalons sont les suivantes :

glucose
saccharose
lactose
fructose
galactose
xylose.

- Saturation de la cuve : verser suffisamment de solvant dans le fond de la cuve. Placer sur les parois latérales des bandes de papier filtre imprégné de solvant. Fermer hermétiquement. Attendre une demi-heure.

- Mise en place des chromatogrammes.

- Développement :

Développer le chromatogramme jusqu'à ce que le front du solvant soit à environ 15 cm de la ligne de dépôt.

. Sécher les plaques 10 à 15 minutes à 100°C.

- Révélation :

Pulvériser le réactif à base de thymol jusqu'à complète humidification. Porter à l'étuve 15 minutes à 100°C.

- Déduire la composition du milieu A en glucides.

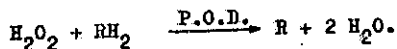
B - Dosage du glucose par la glucose-oxydase

1 - Principe :

En milieu aqueux la glucose-oxydase (G.O.D.) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique.



Le peroxyde d'hydrogène formé oxyde en présence de peroxydase (P.O.D.) un chromogène. Ce chromogène, incolore à l'état réduit (RH₂), est coloré en bleu à l'état oxydé (R).



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose.

2 - Mode opératoire :

- Les réactifs sont distribués en deux flacons :
- G.O.D. Flacon n° 1 : Standard glucose à 91 mg/l.
- G.O.D. Flacon n° 2 : Tampon/enzyme/chromogène (POISON)
 Tampon phosphate 100 mM, pH 7,0
 P.O.D. 20 µg/ml
 G.O.D. 180 µg/ml
 Chromogène 1,0 mg/ml
- Avant l'emploi, porter la température de la solution 2 à environ 20-25°C.
- Diluer la solution A au 1/200e.
- Introduire dans des tubes à essai :

	Témoin	Standard	Essai
Eau distillée	0,2 ml	-	-
Solution 1	-	0,2 ml	-
Milieu A au 1/200e	-	-	0,2 ml
Solution 2	5,0 ml	5,0 ml	5,0 ml

Mélanger et laisser reposer à 20-25°C (température du laboratoire) à l'abri de la lumière solaire directe. Après 25 à 50 minutes, lire la densité optique de l'essai et la densité optique du standard contre le témoin à 560-620 nm dans une cuve de 1 cm de trajet optique.

II - Analyse du milieu B : Dosage de l'éthanol.

A - Principe

L'alcool d'une quantité connue de milieu est extrait par distillation simple.

L'alcool du distillat est oxydé en acide acétique par un excès de dichromate de potassium en milieu nitrique.

L'excès de dichromate de potassium réagit sur de l'iodeure de potassium en excès ; l'iode libéré est dosé par du thiosulfate de sodium.

B - Mode opératoire

1 - Distillation

Introduire dans le ballon

- 50 ml de B
- 70 ml d'eau distillée

Ajouter quelques grains de pierre ponce.

Recueillir le distillat dans une fiole jaugée de 100 ml contenant environ 10 à 20 ml d'eau distillée.

Distiller 40 à 50 ml et ajuster à 100 ml avec de l'eau distillée.

2 - Dosage de l'éthanol

Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri, introduire :

- 5 ml de distillat.
- 20 ml de solution nitrique de dichromate de potassium environ N/10. (ATTENTION DANGEREUX : utiliser une micro-pipette).

Boucher et laisser en contact une demi-heure à la température du laboratoire.

Ajouter :

- 100 ml d'eau distillée
- 10 ml d'iodeure de potassium à 100 g.l⁻¹. Agiter.

Attendre 5 minutes.

Titrer l'iode libéré par la solution de thiosulfate de sodium de titre T_N.

3 - Témoin

Réaliser le dosage témoin correspondant.

4 - Étalonnage de la solution de thiosulfate environ 0,1 N

- Préparer 100 ml d'une solution d'iodate de potassium.
- Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri, introduire :
 - 10 ml de solution d'iodate de potassium.
 - 10 ml d'iodure de potassium à 100 g.l⁻¹.
 - 10 ml d'acide sulfurique au 1/10.

Doser l'iode libéré.

III - Résultats - calculs

- 1 - Donner la composition du milieu A en glucides. Calculer le Rf de chaque glucide employé.
- 2 - Calculer la concentration du milieu A en glucose exprimée en g.l⁻¹.
- 3 - Calculer la normalité de la solution de thiosulfate.
- 4 - Déterminer la concentration en alcool du milieu B exprimée en g.l⁻¹.
- 5 - Calculer le rendement de la fermentation.

Données : C = 12 ; H = 1 ; O = 16 ; K = 39,1 ; I = 126,9.

ANALYSES CHIMIQUES

(+physique + montage)

A - Réaction préliminaire (durée : 1 h Coefficient : 1)

Documents non autorisés

Analyse d'une solution (S) renfermant des ions Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ , Cl^- , phosphates et nitrates.

I - Dosage des ions Ca^{2+} et Mg^{2+} par complexométrie.

- Principe d'un dosage par complexométrie.
- Application au mélange : Ca^{2+} et Mg^{2+} .
- Expression du résultat : concentration molaire volumique de chacun des cations.

II - Dosage d'une solution d'acide chlorhydrique par une solution d'hydroxyde de sodium titrée. Méthode pH métrique.

- Principe du dosage.
- Schéma du montage. Préciser la nature, le rôle et la constitution des électrodes utilisées.
- Allure de la courbe et détermination du point d'équivalence.

B - Manipulation (Durée : 5 h - Coefficient 4)

Documents personnels autorisés

Analyse d'une solution (S) renfermant des ions Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ , Cl^- , phosphates et nitrates.

I - Principe :

- 1 - On dose les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} de la solution (S) par complexométrie.
- 2 - Par passage sur une résine cationique de la solution (S) on prépare un éluat (S') dans lequel les cations sont remplacés par des ions H^+ .
 - 2-1- On dose les ions H^+ de l'éluat (S') à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium par pH-métrie en présence d'un excès de nitrate d'argent.
 - 2-2- On dose les ions Cl^- contenus dans (S') par électroargentimétrie.

II - Mode opératoire :

- 1 - Dosage des ions Ca^{2+} et Mg^{2+} de la solution (S) par complexométrie.
 - 1-1- Etalonnage de la solution d'E.D.T.A.
 - A partir de CaCO_3 pur et anhydre, préparer par pesée une solution étalon de concentration molaire volumique voisine de $0,01 \text{ mol.l}^{-1}$.
 - Titrer la solution d'E.D.T.A. en présence de réactif de Patton et Needer après avoir ajusté à $\text{pH} = 12$ à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium à 100 g.l^{-1} .

1-2- Dosage des ions Ca^{2+} + Mg^{2+} de la solution (S).

Opérer sur une prise d'essai $E_1 = 5$ ml de solution (S) diluée au 1/20.

Ajouter : 50 ml d'eau distillée,
5 ml de tampon pH = 10,
une pointe de spatule de "dilution solide" de Noir
Eriochrome T.

1-3- Dosage des ions Ca^{2+} de la solution (S).

Opérer sur une prise d'essai $E_2 = 10$ ml de solution (S) diluée au 1/20.

Ajouter : 50 ml d'eau distillée bouillie froide.
10 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 100 g.l^{-1} .
Une pointe de spatule d'indicateur de Patton et Reeder.

2 - Dosage des ions Cl^- et H^+ de l'éluat (S').

La solution (S') donnée est l'éluat correspondant au passage sur résine cationique de 10 ml de solution (S) dont le volume a été ajusté à 100 ml.

2-1- Dosage des ions Cl^- par électroargentimétrie.

Dans le vase à titration introduire $E_3 = 20$ ml de solution (S').

Doser à l'aide de la solution de AgNO_3 titrée (titre sur l'étiquette).

Electrodes : de référence - Electrode au sulfate mercureux.
de mesure - Electrode d'argent.

2-2- Dosage des ions H^+ par une solution titrée d'hydroxyde de sodium environ 0,2 N.

2-2-1- Etalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium environ 1 N à l'aide d'une solution titrée de NH_4Cl par conductimétrie.

Dans le vase à réaction, introduire 50 ml de solution titrée de chlorure d'ammonium (titre sur l'étiquette). Plonger la cellule conductimétrique et la relier au conductimètre.

Verser la solution d'hydroxyde de sodium par ml à l'aide d'une semi-microburette.

2-2-2- Dosage des ions H^+ de (S').

Opérer sur une prise d'essai $E_4 = 10$ ml de solution (S').

Ajouter environ 20 ml de solution de nitrate d'argent sensiblement 0,2 N.

Titrer par pH-métrie à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium environ 0,2 N obtenue par dilution de la solution étalonnée.

III - Résultats

3-1- Présenter l'ensemble des résultats obtenus sous forme d'un tableau.

3-2- Tracer les courbes :

- des dosages potentiométriques (électroargentimétrie et pH-métrie).

- du dosage conductimétrique.

Déterminer les points d'équivalence.

3-3- Calculer la concentration molaire volumique de la solution d'E.D.T.A. et la normalité de la solution d'hydroxyde de sodium étalonnée.

3-4- Calculer la concentration en $g.l^{-1}$ de la solution (S) :

- en ions Ca^{2+} et Mg^{2+}

- en ions Cl^-

- en HCl et H_3PO_4 .

Sachant que la solution (S) a été préparée à partir des composés suivants : $CaCl_2$, $2 H_2O$; $Mg(NO_3)_2$; $6 H_2O$;

HCl ; H_3PO_4 .

Données :

$H = 1$, $C = 12$, $O = 16$, $Mg = 24,3$, $P = 31$, $Cl = 35,5$, $Ca = 40,1$.

MICROBIOLOGIE

A - Premier jour : Durée : 3 heures

1re Partie : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Contrôle bactériologique d'un échantillon de crème glacée.

1 - Dénombrement des Escherichia coli et des coliformes.

technique : { 1 ml et 0,1 ml du produit
gélose au désoxycholate
incubation 24 h à 37°C et à 44°C.

2 - Recherche et dénombrement de Staphylocoques présumés pathogènes.

2e Partie : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE

1 - Recherche de Salmonella effectuée sur un échantillon précédent de crème glacée :

Interpréter la galerie minimale d'identification, ensemencée à partir d'une colonie suspecte, isolée sur milieu Salmonella - Shigella.

2 - Identification d'une souche isolée au cours du contrôle du lait destiné à la fabrication.

La souche est présentée isolée sur gélose nutritive.

B - Deuxième jour - Durée : 2 heures

1re Partie : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

A - Contrôle bactériologique d'un échantillon de crème glacée.

1 - Dénombrement des E. coli et des coliformes.

2 - Recherche et dénombrement de staphylocoques présumés pathogènes.

Lectures. Expression et interprétation des résultats.

B - Contrôle microscopique direct de ferments après coloration de Gram de l'échantillon distribué :

- Interprétation des observations.

2e Partie : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE

2 - Identification de la souche isolée du lait.

Lecture et interprétation des résultats après exécution éventuelle de tests complémentaires.

EPREUVES DE LA SESSION 1979

BIOCHIMIE

1 - ÉTUDE D'UN COENZYME : le NADP⁺ (30 points)

- 1.1. - Préciser le schéma structural, le mode d'action et les propriétés spectrales de ce coenzyme.
- 1.2. - Rôle du NADP⁺ dans la biosynthèse cytoplasmique des acides gras dans la cellule animale :
 - Préciser, à l'aide d'un schéma sans formules, les étapes d'une biosynthèse permettant de passer de l'acétylcoenzyme A à l'acide butyrique.
 - Décrire les étapes impliquant le NADP⁺.
- 1.3. - Utilisation du NADP⁺ pour le dosage d'un mélange de glucose-1-phosphate et de glucose-6-phosphate.
 - 1.3.1. - Écrire l'équation des réactions catalysées par la glucose-6-phosphate déshydrogénase et par la phosphoglucomutase.
 - 1.3.2. - Application numérique : dans la cuve d'un spectrophotomètre (de trajet optique 1 cm) on ajoute à 1 cm³ d'une solution contenant un mélange de glucose-6-phosphate et de glucose-1-phosphate, 1,5 cm³ d'un réactif renfermant un excès de NADP⁺, de MgCl₂, de glucose-6-phosphate déshydrogénase. L'absorbance lue à 340 nm augmente de 0,47. Puis on ajoute au contenu de la cuve 1,5 cm³ d'une solution de phosphoglucomutase. L'absorbance augmente jusqu'à 0,60. Dédurre de ces expériences les concentrations molaires volumiques de la solution initiale en glucose-1-phosphate et en glucose-6-phosphate. Justifier les calculs effectués.

Données : le coefficient d'extinction molaire du NADPH à
340 nm = $6,3 \cdot 10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$

2 - ANALYSE D'UN MÉLANGE D'ACIDES GRAS - (25 points)

- 2.1. - Un glycérophospholipide est extrait d'un broyat tissulaire. Donner le schéma structural d'un glycérophospholipide.
- 2.2. - Les acides gras libérés de ce glycérophospholipide sont transformés en esters méthyliques et soumis à une chromatographie en phase gazeuse. On compare le chromatographe obtenu (figure I) à celui obtenu dans les mêmes conditions avec un mélange d'esters méthyliques d'acides gras témoins (figure II).

2.2.1. - Analyser l'enregistrement de la figure II. Montrer en particulier l'influence de certains facteurs structuraux sur le temps d'apparition des dérivés d'esters méthyliques d'acides gras.

2.2.2. - En comparant la figure I et la figure II quelles hypothèses peut-on faire sur la nature possible de X_1 (indice d'iode nul et de X_2 (indice d'iode non nul) ?

Sachant qu'à débit constant la relation qui relie le temps d'apparition t d'un ester méthylique d'acide gras au nombre N d'atomes de carbone dans une même série (acides gras saturés ou acides gras monoinsaturés) est :

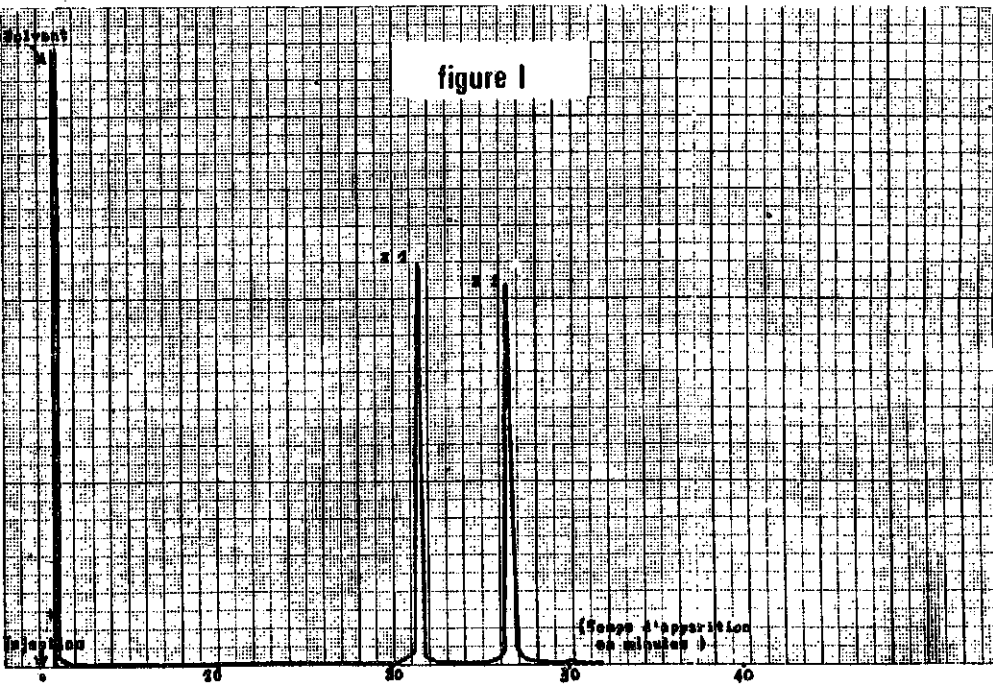
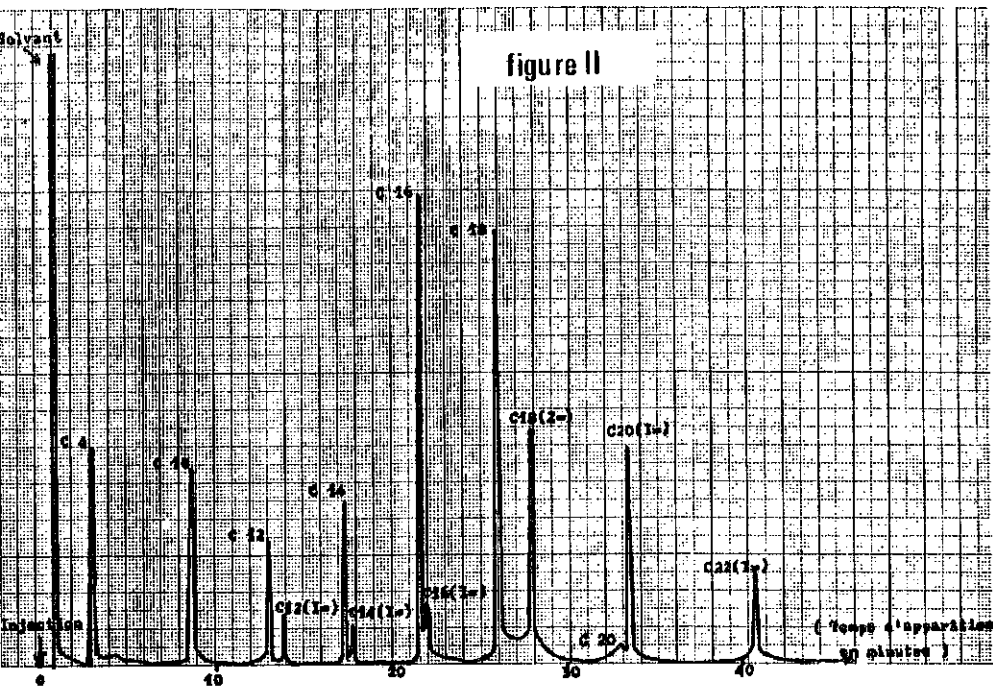
$$\log_{10} t = kN$$

en déduire graphiquement le nombre d'atomes de carbone de X_2 .

2.2.3. - Pour préciser la structure de X_2 on l'oxyde par l'acide nitrique. On obtient un monoacide A_1 et un diacide A_2 tous deux à chaîne linéaire saturée. On détermine expérimentalement que 2,37 g de A_1 sont salifiés par 15 cm³ d'une solution d'hydroxyde de sodium à 1 mol/dm³ et que 0,94 g de A_2 sont salifiés par 10 cm³ de la même solution d'hydroxyde de sodium. En déduire la formule semi développée de X_2 .

Quels sont les renseignements complémentaires qui seraient nécessaires pour écrire la formule du glycérophospholipide ?

- 2.3. - Lorsque les acides gras X_1 et X_2 sont utilisés par une cellule animale ils subissent une peroxydation. Au cours de cette séquence de réactions un groupement $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ est transformé en trois étapes en $-\text{CO}-\text{CH}_2-$. Décrire et comparer ces trois réactions (substrat, enzyme, coenzyme) à celles du même type rencontrées dans le cycle de KREBS.



3 - ETUDE DE LA LACTICODÉSHYDROGÉNASE - (25 points)

La lacticodéshydrogénase LDH présente différentes formes isoenzymatiques de masse molaire 134 000.

3.1. - Définir le terme isoenzyme.

3.2. - L'isoenzyme I de la LDH migre vers l'anode à pH 8,6 alors que l'isoenzyme V migre vers la cathode. En se reportant au tableau ci-après, préciser quelle est la composition en acides aminés A, B ou C, qui permet d'expliquer ce comportement ? Justifier la réponse.

I S O E	I	V	I	V	I	V
Asp	10	2	2	10	10	10
Arg	1	10	10	1	1	1
Lys	2	10	10	2	2	2
Glu	10	1	1	10	10	10

A

B

C

3.3. - Etude de la LDH de type I.

- Une ultracentrifugation de cette LDH en milieu contenant de l'urée à 8 mol/dm^3 montre un seul pic correspondant à une masse molaire de 33 500.

- Par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu urée à 8 mol/dm^3 une seule bande est décelée.

Que peut-on en conclure sur la structure de la LDH de type I ?

Préciser la nature des liaisons.

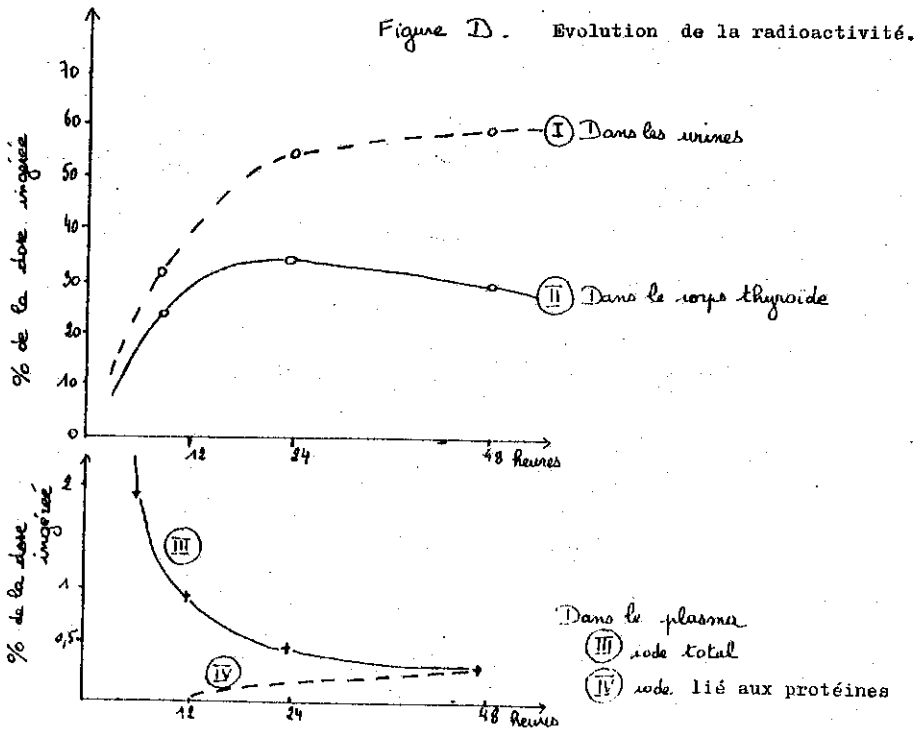
3.4. - Sachant que la réaction catalysée par la LDH est équilibrée on précise que la LDH hépatique a relativement peu d'affinité pour le pyruvate alors que la LDH musculaire a une grande affinité pour ce même substrat. Montrer l'importance de cette différence d'affinité dans le métabolisme de l'acide pyruvique et de l'acide lactique chez l'homme.

3.5. - Une solution de lactose à 15 g/dm^3 a subi une fermentation homolactique ; on dose l'acide lactique formé enzymatiquement par une solution de lacticodéshydrogénase.

- augmentation de la consommation d'oxygène et de la production de dioxyde de carbone
- asthénie
- glycémie $1,3 \text{ g.l}^{-1}$
cholestérolémie $1,2 \text{ g.l}^{-1}$
concentration faible de la thyrostimuline hypophysaire dans le sang.
- augmentation de l'excrétion urinaire azotée
glycosurie
perte de potassium, de calcium et de phosphore.

Expliquer ces observations.

- (4 points) : 4 - Les anomalies du fonctionnement thyroïdien s'expliquent souvent par des anomalies du fonctionnement hypophysaire.
Expliquer cette observation.



ANALYSES BIOCHIMIQUES

(+physique + montage)

I - REDACTION PRELIMINAIRE - (Durée : 30 min - Coefficient : 1) (Documents non autorisés)

- 1 - Détermination de l'indice d'iode d'un acide gras :
 - définition de l'indice d'iode,
 - principe de la détermination de l'indice d'iode,
 - protocoles du dosage.
- 2 - Dosage enzymatique d'un substrat par spectrophotométrie d'absorption dans l'U.V. :
 - principe,
 - choix des conditions opératoires.

II - INDICATION - (Durée : 5 h 30 min - Coefficient : 5)

Documents personnels autorisés.

ETUDE D'UN COMPOSE BIOCHIMIQUE

Ce composé a subi une hydrolyse enzymatique complète. Quatre fractions A, B, C, D ont ainsi été obtenues. On se propose d'étudier successivement ces quatre fractions.

1 - Etude de la fraction A -

Elle est constituée par un mélange équimoléculaire de 2 monoacides gras à nombre identique d'atomes de carbone. L'un des acides gras est saturé l'autre non. Ces acides gras constitutifs ont été extraits et purifiés.

1.1. - Détermination de l'indice d'acide.

- Opérer sur la solution des acides gras obtenue par dissolution de 2 g de la fraction A dans 100 ml de solvant organique (mélange volume à volume d'éthanol et d'isobutanol).
- Dans un erlenmeyer, introduire :
 - E_1 = 20 ml d'une solution ~ 0,1 N de potasse alcoolique,
 - E_2 = 10 ml de la solution d'acides gras
quelques gouttes de phénolphthaléine.
- Dosier par la solution d'acide chlorhydrique (normalité donnée sur le flacon).
- Réaliser un témoin sans acide gras.

1.2. - Détermination de l'indice d'iode.

Dans un tube à peser les corps gras, peser exactement environ 0,4 g de la fraction A ; introduire ce tube dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant à l'éméri de 250 ml.

Dissoudre la masse pesée à l'aide de 20 ml de tétrachlorure de carbone.

Ajouter E = 20 ml de réactif de WIJS (poire d'aspiration).

Boucher l'erlenmeyer, laisser à l'obscurité 30 minutes.

Ajouter :

- 50 ml d'eau distillée

- 20 ml d'une solution d'iodure de potassium à 100 g.l^{-1} .

Bien agiter.

Doser l'excès d'iode par la solution environ décimolaire de thiosulfate de sodium (normalité indiquée sur le flacon).

Réaliser un témoin sans corps gras.

2 - Etude de la fraction B -

Les fractions B et C ont été obtenues à partir d'une solution à 1 mmol/l du composé biochimique étudié.

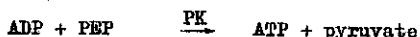
La fraction B est constituée par du glycérol que l'on se propose de doser par une technique de test optique à 340 nm .

2.1. - Principe du dosage.

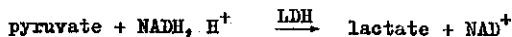
Le glycérol est transformé en glycérol-1-P, réaction catalysée par la glycérol-kinase :



L'ADP formé est phosphorylé en ATP, en présence de phospho-énolpyruvate, réaction catalysée par la pyruvate-kinase :



Le pyruvate formé est réduit en présence de NADH, H^+ , réaction catalysée par la lactate-deshydrogénase



La consommation de NADH, H^+ est mesurée par spectrophotométrie à 340 nm .

C'est l'addition de la solution de GK qui déclenche la réaction.

2.2. - Réactifs.

On dispose de deux réactifs :

- Réactif 1 : mélange réactionnel contenant tampon, enzymes et coenzymes nécessaires à l'exception de GK.
- Réactif 2 : suspension de GK.

2.3. - Mode opératoire.

Opérer directement dans les cuves de spectrophotométrie.
Introduire successivement dans une cuve de spectrophotométrie de 1 cm d'épaisseur :

2,5 ml de réactif 1

0,2 ml de solution étalon de glycérol à 1 mmol/l, solution obtenue par dilution d'une solution mère donnée à 10 mmol/l.

Mélanger et laisser incuber environ 10 min à la température du laboratoire. Mesurer l'absorbance (densité optique) à 340 nm. Ajouter ensuite 0,02 ml de réactif 2. Mélanger et attendre la fin de la réaction soit environ 15 min.

Mesurer à nouveau l'absorbance à 340 nm.

Recommencer la manipulation, mais en utilisant cette fois successivement 0,2 ml de solution étalon de glycérol à 2 mmol/l et 0,2 ml de fraction B.

REMARQUE : Régler le zéro de l'appareil contre l'air.

3 - Etude de la fraction C -

Cette fraction est dosée colorimétriquement par la méthode de BRIGGS. Effectuer une dilution au 1/5 de la fraction C.

3.1. - Dosage.

Dans un tube à essais, introduire :

- Solution diluée de la fraction C.....	5 ml
- Eau distillée.....	5 ml
- Réactif sulfomolybdique.....	2 ml
- Solution de sulfite de sodium à 200 g.l ⁻¹	1 ml
- Solution d'hydroquinone à 10 g.l ⁻¹	1 ml

Laisser 30 min à l'obscurité. Mesurer l'absorbance au spectrophotomètre à 700 nm en réglant le zéro de l'appareil à l'aide d'un témoin réactifs.

3.2. - Etalonnage.

À partir d'une solution de phosphate renfermant 7,160 g Na₂HPO₄ · 12 H₂O par litre, préparer une gamme d'étalonnage à l'aide de 4 mesures correspondant à des concentrations en P s'étalant de 0,5 µmole à 2 µmole par tube.

Cette fraction est constituée par un acide aminé hydroxylé que l'on se propose d'identifier par CCM sur gel de silice en utilisant comme solvant mobile le mélange : n-butanol, acide acétique, eau (3, 1, 1).

Utiliser une petite plaque prête à l'emploi et réactivée par un séjour à l'étuve de 30 min à 100°C.

A l'aide de micropipettes, déposer sur la plaque une tache des solutions témoins renfermant sérine, thréonine et hydroxyproline ainsi qu'une tache de fraction D.

Surcharger une fois. Sécher.

Placer la plaque dans un béccher contenant le solvant, recouvrir d'un verre de montre. Laisser migrer.

Révéler après séchage par pulvérisation de ninhydrine et séjour de 10 min dans l'étuve à 100°C.

5 - Ce que rendu -

- 5.1. - Déterminer l'indice d'acide et l'indice d'iode de la fraction A.
En déduire la structure chimique et la nomenclature des acides gras constitutifs du composé étudié.
- 5.2. - Déterminer la concentration molaire volumique du glycérol dans l'hydrolysate.
- 5.3. - Déterminer la concentration molaire volumique des ions phosphates dans l'hydrolysate.
- 5.4. - Donner la structure chimique et le nom de l'acide aminé constitutif.
- 5.5. - Indiquer la structure chimique et le nom du composé biochimique étudié.

ANALYSES CHIMIQUES

(+physique + montage)

A - REDACTION PRELIMINAIRE (Durée : 1 h - Coefficient : 1)

Documents non autorisés.

1 - Dosage potentiométrique des ions Fe^{2+} par une solution de dichromate de potassium.

Exposer le principe du dosage.

Justifier le choix des électrodes. Préciser leur rôle et leur constitution.

Faire un schéma du montage.

Exprimer la force électromotrice de la pile avant et après l'équivalence et justifier l'allure de la courbe.

Potentiels normaux d'électrode :

$$E_0 \quad \text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+} = + 0,78 \text{ V}$$

$$E_0 \quad \text{Cr}^{3+}/\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} = + 1,33 \text{ V}$$

$$E_0 \quad \text{Hg}/\text{Hg}_2^{2+} = + 0,798 \text{ V}$$

$$K_B \quad \text{Hg}_2\text{Cl}_2 = 10^{-18} \quad (\text{les concentrations molaires volumiques étant exprimées en mol.dm}^{-3})$$

$$[\text{KCl}] = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$$

2 - Dosage des chlorures par la méthode de Charpentier-Volhard.

Exposer le principe du dosage.

Exprimer la concentration molaire volumique en ions chlorure en fonction de la concentration molaire volumique de la solution de nitrate d'argent, des volumes des prises d'essai et des volumes versés.

B - MANIPULATION : (Durée : 5 h - Coefficient : 4)

Documents personnels autorisés.

Soit à doser une solution S contenant : sel de Mohr

(FeSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $6 \text{ H}_2\text{O}$), chlorure ferrique, acide chlorhydrique, acide sulfurique.

- 1 - Dosage potentiométrique des ions Fe^{2+} par une solution de dichromate de potassium.
- 1.1. - Préparation de 100 cm^3 de solution de dichromate de potassium, de normalité exacte de l'ordre de 0,1.
- 1.2. - Dosage potentiométrique des ions de Fe^{2+} : monter le potentiomètre avec les électrodes convenables. Utiliser éventuellement un décaleur d'origine.
Opérer sur une prise d'essai de solution S $E = 10\text{ cm}^3$.
Ajouter : 20 cm^3 de H_2SO_4 au 1/5
 100 cm^3 d'eau distillée.
- 2 - Dosage du fer total par manganimétrie.
- 2.1. - Etalonnage de la solution de permanganate de potassium de normalité voisine de 0,1 par la solution d'acide oxalique de concentration molaire volumique égale à $0,1\text{ mol.dm}^{-3}$.
- 2.2. - Dosage du fer total après réduction des ions Fe^{3+} par le chlorure stanneux.
Opérer sur une prise d'essai de la solution S $E = 10\text{ cm}^3$
Ajouter 10 cm^3 d'acide chlorhydrique au 1/2.
Porter au voisinage de l'ébullition.
Ajouter la solution de chlorure stanneux goutte à goutte jusqu'à disparition de la coloration, plus une goutte en excès.
Refroidir à température ambiante.
Ajouter : - 100 cm^3 d'eau distillée
- 10 cm^3 de solution saturée de chlorure de mercure (II)
(POISON).
Attendre environ 3 min en agitant.
Ajouter 25 cm^3 de solution de Zimmermann-Reinhardt et environ 100 cm^3 d'eau distillée.
Doser par la solution de permanganate de potassium.
- 3 - Dosage des ions chlorures par la méthode de Charpentier-Volhard.
- 3.1. - Diluer la solution S au 1/10 : on obtient la solution S'.
Prendre une prise d'essai de solution S' $E_1 = 10\text{ cm}^3$.
Ajouter : $E_2 = 20\text{ cm}^3$ de solution de nitrate d'argent de concentration molaire volumique égale à $0,1\text{ mol.l}^{-1}$
 10 cm^3 d'acide nitrique au 1/2.
 20 cm^3 d'eau distillée.
Isoler le précipité par environ 5 cm^3 de mononitrobenzène.
Ajouter environ 1 cm^3 d'alun ferrique ammoniacal.
Doser par la solution de thiocyanate de potassium.
- 3.2. - Faire un témoin.

4 - Dosage des ions H^+ par potentiométrie.

- 4.1. - Etalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium de normalité voisine de 0,2 par la solution d'acide oxalique. Choisir l'indicateur convenable.
- 4.2. - Dosage potentiométrique des ions H^+ de la solution S.
Opérer sur une prise d'essai de solution S' $E = 10 \text{ cm}^3$.
Monter le potentiomètre avec les électrodes convenables pour la pH métrie.

C - RESULTATS -

- 1 - 1.1. - Calculer la masse m de dichromate de potassium pur et sec à peser
 $K = 39,1$ $Cr = 52$ $O = 16$
- 1.2. - Tracer la courbe $E = f(v)$
 E : fém de la pile, lue sur le potentiomètre
 v : volume de solution de dichromate de potassium versé, exprimé en cm^3 .
Déterminer le point d'équivalence.
Calculer la concentration molaire volumique en ions Fe^{2+} de S.
- 2 - 2.1. - Calculer la normalité de la solution de permanganate de potassium.
- 2.2. - Calculer la concentration molaire volumique totale de S en ions Fe^{++} et Fe^{+++} .
- 3 - Calculer la concentration molaire volumique de S en ions chlorures.
- 4 - 4.1. - Calculer la normalité de la solution d'hydroxyde de sodium.
- 4.2. - Tracer la courbe $pH = f(v')$.
 v' : volume de solution d'hydroxyde de sodium versé, exprimé en cm^3 .
Déterminer le point d'équivalence.
Calculer la concentration molaire volumique des ions H^+ de S.
- 5 - Calculer les concentrations molaires volumiques de S :
- en ions Fe^{3+}
- en sel de Mohr, chlorure ferrique, acide chlorhydrique, acide sulfurique,
- en ions SO_4^{2-} .
- 6 - Présenter l'ensemble des résultats dans un tableau en y faisant figurer les volumes des prises d'essai, les volumes de chutes de burette, les normalités des réactifs et les concentrations molaires volumiques des constituants de la solution S.

N.B. : les calculs seront explicités.

MICROBIOLOGIE

A - Premier jour : durée 3 h 30

Première partie : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE.

Examens pratiqués dans un atelier de pasteurisation du lait.

I - Etude bactériologique d'un échantillon de lait pasteurisé :

1. Epreuve de la réductase.

Résultat et conclusion.

2. Colimétrie : Méthode au bouillon lactosé bilié et au vert brillant
(24 h à + 37°C).

II - Contrôle de stérilité des récipients :

Numération de la flore totale d'un échantillon d'eau de rinçage des bidons (24 h à + 37°C).

Deuxième partie : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE.

Dépistage des mammites.

I - Identification d'une souche isolée d'un lait suspect de mammite.

La souche est présentée sur gélose trypticase-soja.

II - Recherche des bacilles tuberculeux sur frottis fixés.

Les frottis sont réalisés à partir d'un culot de centrifugation de lait.

Résultat et conclusion.

B - Deuxième jour : durée 1 h 30

Première partie : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE.

I - Etude bactériologique d'un échantillon de lait pasteurisé.

Colimétrie: Lecture et interprétation des résultats.

II - Contrôle de stérilité des récipients :

Numération de la flore totale d'un échantillon d'eau de rinçage des bidons : Lecture et interprétation des résultats.

Deuxième partie : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE.

Identification d'une souche isolée d'un lait suspect de mammite :

Fin des travaux d'identification. Résultats et interprétation.

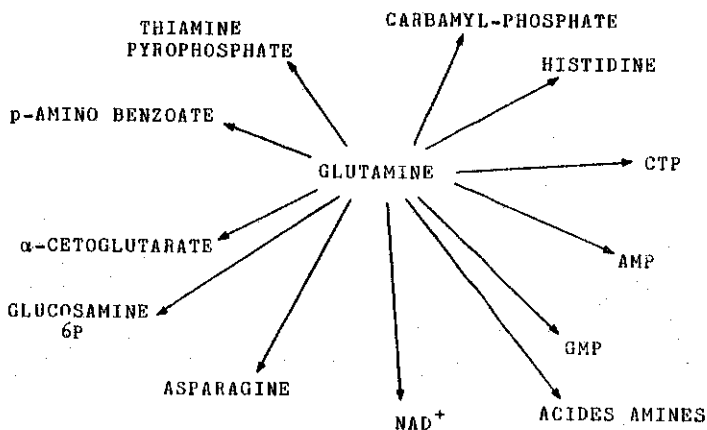
EPREUVES DE LA SESSION 1980

BIOCHIMIE

METABOLISME AZOTE

A - LA GLUTAMINE - (25 points)

- 1 - La L-glutamine est un intermédiaire important du métabolisme azoté. Son azote amidé, en particulier, est un précurseur de certains métabolites et coenzymes, comme le montre le schéma ci-dessous :



- 1.1. - Donner la structure chimique des composés suivants : glutamine, α cétoglutarate, asparagine et carbamyl-phosphate.
- 1.2. - Représenter schématiquement la structure des coenzymes suivants : NAD^+ , AMP, GMP et CTP.

2 - La biosynthèse de la L-glutamine chez l'homme est catalysée par la L-glutamine synthétase.

2.1. - Préciser le lieu de cette biosynthèse.

2.2. - La réaction peut se résumer de la manière suivante :



Le $\Delta G'_0$ de cette réaction est égal à $-16,3 \text{ kJ.mol}^{-1}$

(1 cal = 4,18 J).

Préciser la signification de cette donnée.

2.3. - Cette réaction de biosynthèse peut être considérée comme la somme de deux réactions composantes, l'une exergonique, l'autre endergonique.

Ecrire ces deux réactions composantes et évaluer le $\Delta G'_0$ de la réaction endergonique.

2.4. - Plus généralement, quelles sont les conditions thermodynamiques nécessaires pour qu'une réaction endergonique puisse se produire ?

3 - La principale voie de biosynthèse des acides aminés chez *Aerobacter aerogenes* est glutamino-dépendante et fait intervenir successivement trois enzymes :

- la glutamine synthétase
- la glutamate deshydrogénase, qui fonctionne avec NADP^+ comme coenzyme. (NH_3 est fourni par la transformation glutamine \rightarrow glutamate).
- une transaminase.

3.1. - Ecrire les réactions catalysées par les enzymes citées ci-dessus et établir le bilan réactionnel de cette biosynthèse.

3.2. - Dans quel sens la réaction catalysée par la glutamate deshydrogénase tend-elle à se faire spontanément dans les conditions standard sachant que les potentiels standard d'oxydo-réduction des demi-piles ($\text{NADP}^+/\text{NADPH}$) et (α céto-glutarate + NH_3 /glutamate) sont $-0,32 \text{ V}$ et $-0,14 \text{ V}$ respectivement à 30°C et à $\text{pH } 7$?

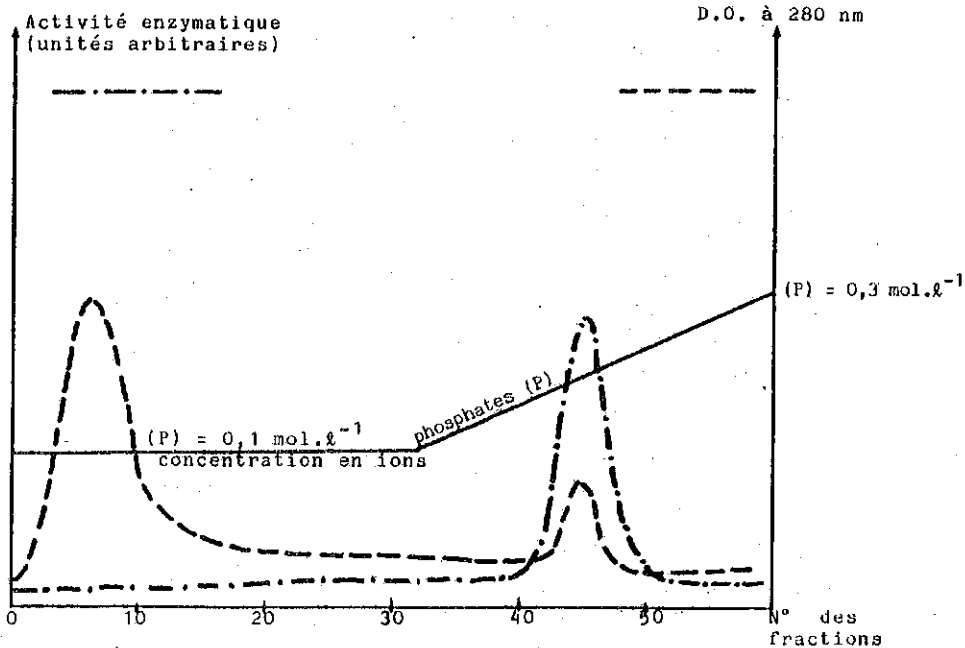
Calculer le $\Delta G'_0$ de la réaction considérée dans le sens où elle tend à se faire spontanément.

Donnée : $F = 96\,500 \text{ J.V}^{-1}.\text{mol}^{-1}$; ou $23\,060 \text{ cal.V}^{-1}.\text{mol}^{-1}$

B - LA GLUTAMINE SYNTHETASE - (40 points)

1 - La glutamine synthétase est préparée à partir d'un homogénat de foie, de volume égal à 142 ml. Une prise d'essai de 100 ml de cet homogénat est traitée par l'acétone puis par le sulfate d'ammonium. On obtient une solution S de volume final égal à 138 ml. On prélève 100 ml de cette solution S qu'on soumet à une dialyse contre de l'eau distillée pendant 24 heures à 0°C. Le volume obtenu après dialyse est de 110 ml et constitue l'extrait partiellement purifié E₁.

Les 38 ml restants de la solution S sont passés sur colonne d'hydroxyapatite tamponnée. L'éluion s'effectue par un gradient linéaire de phosphates. On recueille des fractions successives de 2 ml dont l'analyse conduit au diagramme du document joint au sujet.



Les fractions contenant l'enzyme sont récupérées et constituent l'extrait purifié E₂.

Pour chacune des trois fractions obtenues, homogénat, extrait E₁ et extrait E₂, on détermine après dilution éventuelle (précisée dans le tableau de résultats) leur activité enzymatique et leur teneur en protéines.

Résultats :

a) - Activité enzymatique

Extrait	Prise d'essai de solution enzymatique	Activité U.I.
Homogénat (dilué au 1/50)	1 ml	0,64
Extrait E ₁ (dilué au 1/20)	1 ml	1
Extrait E ₂ (dilué au 1/20)	1 ml	1,5

b) - Dosage des protéines

Extrait	Prise d'essai de solution enzymatique	Masse protéines µg
Homogénat (dilué au 1/20)	1 ml	100
Extrait E ₁ (non dilué)	1 ml	180
Extrait E ₂ (non dilué)	1 ml	150

Interpréter le diagramme d'élution sur colonne et apprécier quantitativement ce travail de préparation et de purification de la glutamine synthétase par la détermination des enrichissements et des rendements.

2 - La glutamine synthétase purifiée de *E. coli* sans forme native est un oligomère de masse molaire égale à 600 000.

2.1. - Exposer le principe d'une méthode permettant de caractériser chacun des acides aminés terminaux d'une chaîne peptidique.

2.2. - L'analyse des sous-unités donne les résultats suivants :

- . masse molaire d'une sous-unité : 50 000
- . acide aminé N terminal : sérine
- . acide aminé C terminal : valine

Que peut-on déduire de ces résultats ?

3 - L'histidine est un inhibiteur de la glutamine synthétase de foie de rat. Pour déterminer la nature de l'inhibition exercée par l'histidine, on mesure l'activité de l'enzyme en l'absence et en présence d'histidine à une concentration de 5 mmol.l^{-1} . Les vitesses initiales de la réaction enzymatique sont données en μ moles de glutamate transformées par minute.

[S] mmol.l^{-1} de GLUTAMATE	V en présence HIS	V en l'absence HIS
10	50	100
5	30,3	80
3,33	21,5	62,5
2,5	16,67	50

3.1. - Déterminer les paramètres de ces cinétiques (K_M et V_{MAX}).

3.2. - Quelle est la nature de l'inhibition due à l'histidine ?

4 - L'inhibition de l'activité de la glutamine synthétase chez *E. coli* peut notamment s'effectuer de deux manières différentes :

- répression enzymatique en présence de fortes concentrations en sels d'ammonium,
- rétroinhibition exercée par certains métallobites comme l'histidine, le carbamyl-phosphate ou la glucosamine-6-phosphate.

Développer et comparer ces deux mécanismes de régulation d'activité enzymatique.

- LE CYCLE DE L'UREE - (15 points)

La L-glutamine est hydrolysée par les glutaminases rénale et hépatique. Le NH_3 libéré au niveau hépatique peut alors évoluer en urée.

Krebs et Henseleit ont démontré par une méthode manométrique que des coupes minces de foie agitées en atmosphère oxygénée en présence de sels ammoniacaux produisaient peu d'urée, mais qu'en ajoutant un certain nombre d'acides aminés, il y avait une augmentation notable de la formation d'urée.

Quels sont ces acides aminés ?

Décrire les principales étapes du cycle de l'urée en précisant la localisation de ce cycle, l'origine des groupements fonctionnels de l'urée, les différents constituants du cycle et les relations avec le cycle de Krebs.

N.B. : les formules complètes ne sont pas obligatoires en dehors de celle de l'urée.

PHYSIQUE ET CHIMIE

EPREUVE DE PHYSIQUE

Coef. : 2

I - QUESTION DE COURS : (8 points/20)

Le candidat doit obligatoirement traiter l'une des deux questions de cours suivantes :

. POLARIMETRIE :

Représentation de la lumière naturelle et de la lumière polarisée rectiligne.

Action d'une substance active sur la lumière polarisée rectiligne ; loi de Biot.

Principe du polarimètre à équipénombre (de Laurent) ; description d'une mesure.

Polarisation par biréfringence ; le nicol.

OU. CONDUCTIVITE DES ELECTROLYTES :

Définir les grandeurs suivantes et préciser les relations entre elles : résistance ; conductance ; conductivité ; conductivité équivalente ; conductivité molaire ionique ; constante de cellule. Préciser les unités utilisées.

Mesure des conductivités.

Exemple de dosage conductimétrique (à ce propos on définira la mobilité d'un ion).

II - PROBLEME OBLIGATOIRE : (12 points/20).

Le problème porte sur quelques aspects de la radioactivité.

- 1 - Quels sont les types de radioactivité auxquels on peut s'attendre avec les isotopes $^{12}_7\text{N}$ et $^{16}_7\text{N}$ de l'azote ? Ecrire les équations nucléaires correspondantes.
- 2 - L'obtention de carbone $^{11}_6\text{C}$ se fait par bombardement d'azote $^{14}_7\text{N}$ par des protons accélérés dans un cyclotron. Ecrire l'équation nucléaire et préciser quel autre petit noyau est libéré au cours de la réaction.

- I - 1 - Le produit de solubilité de l'hydroxyde de magnésium $M_g(OH)_2$ est égal à $1,35 \cdot 10^{-11}$ les concentrations molaires étant exprimées en mol.l^{-1} ; calculer la solubilité ;
- dans l'eau pure,
 - dans une solution de nitrate de magnésium de concentration molaire $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$.
- 2 - a - On mélange 100 cm^3 d'une solution de chlorure de magnésium de concentration molaire 1 mol.l^{-1} et 100 cm^3 d'une solution d'ammoniac de concentration molaire 1 mol.l^{-1} ; montrer qu'il y a précipitation de l'hydroxyde de magnésium.
- b - Quelle masse de chlorure d'ammonium solide faut-il ajouter pour que le précipité formé se redissolve ?

Données : couple acide base $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$: $\text{p}K_A = 9,25$.

Masses atomiques : $\text{H} = 1$, $\text{N} = 14$, $\text{O} = 16$, $M_g = 24,3$

$\text{Cl} = 35,5$

- I - L'hydrogénation de l'hexyne -3 (C_6H_{10}) en présence de palladium donne un composé A. L'action du brome sur A à température ordinaire conduit au composé B.

1 - Préciser le mécanisme de cette dernière réaction.

2 - Donner la perspective cavalière, la projection de Newman et la configuration du composé B ; que peut-on dire de ce composé ?

- 1 - Par action de chlore sur le mononitrobenzène, on obtient un composé prépondérant C ($\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2\text{Cl}$) qui est réduit par le fer en milieu acide pour donner un composé D. Ecrire les équations de réactions, préciser les conditions expérimentales et justifier les composés obtenus.

2 - Proposer une préparation du métadichlorobenzène à partir du composé D.

BIOLOGIE

I - MICROBIOLOGIE - (Coef. : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix.

PREMIER SUJET -

Pour éviter la pollution du milieu et pour revaloriser les déchets d'une féculerie, on pense utiliser des fermentations faisant appel à des *Clostridium* et permettant d'obtenir des solvants organiques intéressant l'industrie.

Les déchets contiennent des sels minéraux dont des phosphates, des composés azotés divers (acides aminés, nucléotides), des vitamines et de grandes quantités de cellulose et d'amidon.

On a fourni au microbiologiste un plan de travail :

- a) - Collecte d'échantillons de terres et de boues riches en matières organiques.
 - b) - Isolement dans les échantillons de toutes les souches de *Clostridium* s'y trouvant.
 - c) - Isolement des souches de *Clostridium* utilisant les substrats carbonés présents dans les déchets et produisant des solvants organiques.
 - d) - Etude systématique des conditions de croissance et de culture permettant une synthèse de solvants organiques maximale.
 - e) - Mise en route de cultures en fermenteurs pour permettre aux chimistes d'étudier la fermentation et les méthodes d'isolement des solvants.
 - f) - A partir de toutes les données obtenues, sélection de la souche la plus intéressante.
- (5 pts) 1 - Comment peut-on définir une fermentation ?
- (9 pts) 2 - a) - Proposer deux techniques pour isoler des *Clostridium* à partir des échantillons de boues et de terres riches en matières organiques : donner le principe sur lequel repose chacune de ces techniques et préciser le mode opératoire.
- b) - Proposer une méthode permettant de distinguer et d'isoler les souches amylolytiques et les souches cellulolytiques.

(6 pts) 3 - a) - Présenter de façon schématique l'équipement d'un fermenteur permettant d'étudier le comportement de ces germes en indiquant le rôle des différents dispositifs. Justifier les choix faits.

b) - Sur quels critères sélectionneriez-vous la ou les souches ?

O U

DEUXIEME SUJET : LA CROISSANCE BACTERIENNE -

(6 pts) 1 - Méthodes d'étude.

(9 pts) 2 - Différentes phases et paramètres de la croissance en milieu liquide non renouvelé.

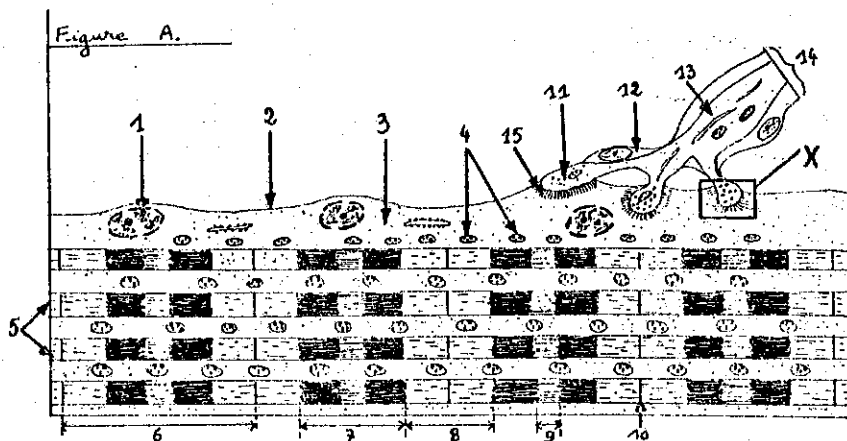
(5 pts) 3 - Croissance synchrone et croissance continue.

II - PHYSIOLOGIE - (Coef. : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix.

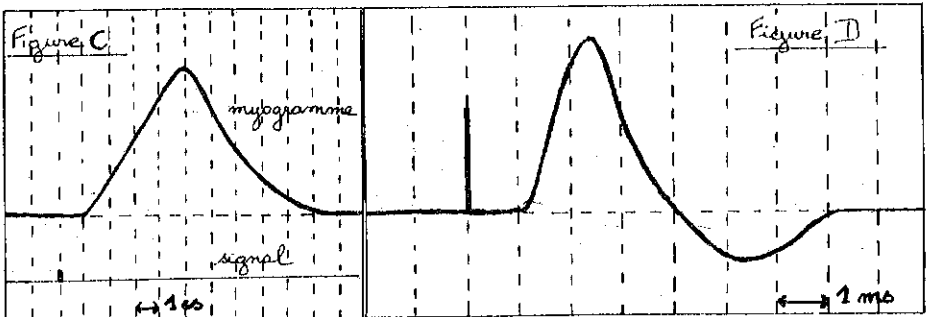
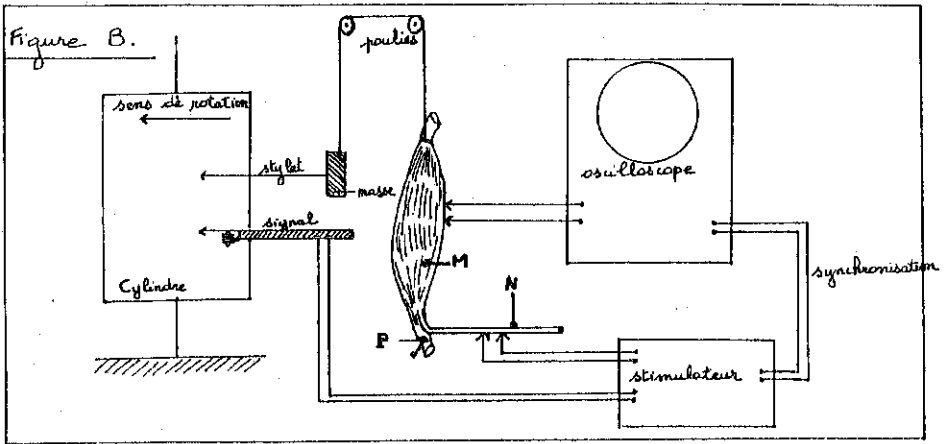
PREMIER SUJET : LA FIBRE MUSCULAIRE STRIEE ET LA CONTRACTION MUSCULAIRE.

(12 pts) 1 - La figure A représente la coupe longitudinale d'un fragment de fibre musculaire striée et d'une jonction neuro-musculaire.



- a) - Légènder cette figure à l'aide des lettres et des chiffres.
- b) - Détailler l'ultrastructure d'un segment "6".
- c) - Décrire les modifications subies par l'un de ces segments au cours de la contraction.

(12 pts) 2 - Myographie et électromyographie. On réalise le dispositif expérimental schématisé par la figure B. Dans ce dispositif le nerf moteur N du muscle strié M repose sur deux électrodes excitatrices reliées à un stimulateur. Le muscle M, fixé en P, est relié par l'intermédiaire d'un fil et de poulies, à une masse dont les déplacements sont inscrits sur un cylindre enregistreur par un stylet. Deux électrodes placées au contact du muscle sont reliées à un oscilloscope cathodique. Les chocs électriques sont enregistrés sur le cylindre grâce à un signal électromagnétique et sur l'électromyogramme grâce à un dispositif de synchronisation.



Les figures C et D représentent respectivement les enregistrements de la réponse du muscle à un stimulus électrique bref (environ 0,1 ms) obtenus sur le cylindre enregistreur d'une part et sur l'oscilloscope d'autre part.

- a) - Analyser ces enregistrements et préciser leur rapport.
- b) - Comment varient ces enregistrements en fonction de l'intensité du stimulus ?
- c) - Quels seraient les aspects de ces enregistrements si le stimulateur délivrait :
 - deux stimuli identiques à ceux délivrés en a et espacés de 8 cs ?
 - deux stimuli identiques à ceux délivrés en a et espacés de 2 cs ?
 - une série de stimuli identiques aux précédents et espacés de 8 cs ?
 - une série de stimuli identiques aux précédents et espacés de 2 cs ?

pts) 3 - ATP et contraction.

- a) - Quel est le rôle de l'ATP dans la contraction ?
- b) - Quelle est l'origine de cet ATP ?

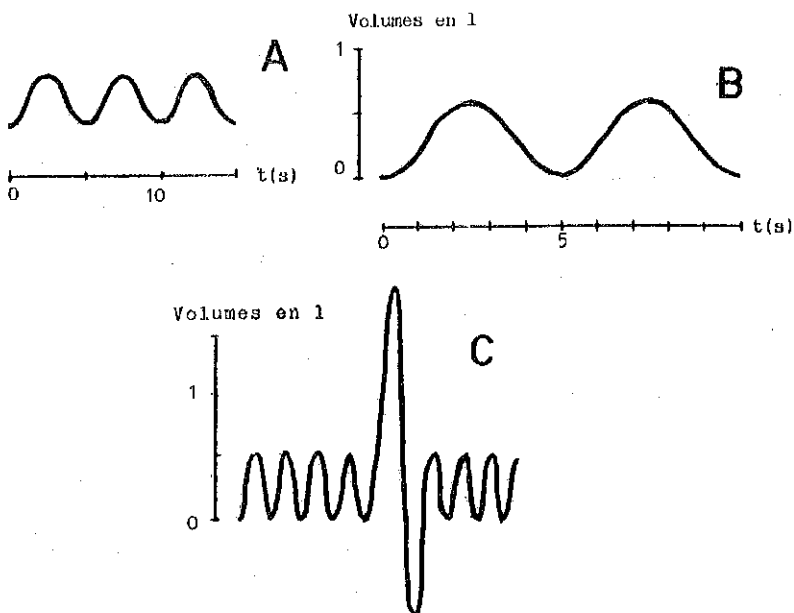
pts) 4 - Transmission synoptique.

- a) - Détailler l'ultrastructure de la région X de la figure A.
- b) - Décrire le fonctionnement de la jonction neuro-musculaire.

DIXIEME SUJET : LE METABOLISME DE BASE, LA RESPIRATION ET SA REGULATION.

pts) 1 - La ventilation pulmonaire.

- a) - Le graphique A est un pneumogramme. Le graphique B est un spirogramme enregistré au cours de la ventilation de repos. (Les appareillages sont tels que les stylets enregistreurs et le thorax se soulèvent en même temps). Analyser et commenter ces documents afin de déterminer :
 - la fréquence respiratoire du sujet,
 - la durée de l'inspiration,
 - la durée de l'expiration,
 - le volume d'air courant.



- b) - Le graphique C est un spirogramme comportant une inspiration forcée et une expiration forcée. Déterminer :
- le volume de réserve inspiratoire,
 - le volume de réserve expiratoire,
 - la capacité vitale.

Qu'est-ce que le volume résiduel ?

(10 pts) 2 - Le métabolisme de base.

On mesure les dépenses énergétiques d'un sujet par la technique dite en circuit fermé, à l'aide d'un appareil de type "Bénédict". La fiche du laboratoire indique les renseignements suivants :

- . Age : 17 ans
- . Poids : 60 kg Taille : 1,61 m
- . Surface corporelle d'après la formule de DUBOIS :
1,63 m²
- . Etat du sujet : repos
- . Durée de la mesure : 6 minutes
- . Température du circuit : 24°C
- . Pression atmosphérique : 101,6 kPa

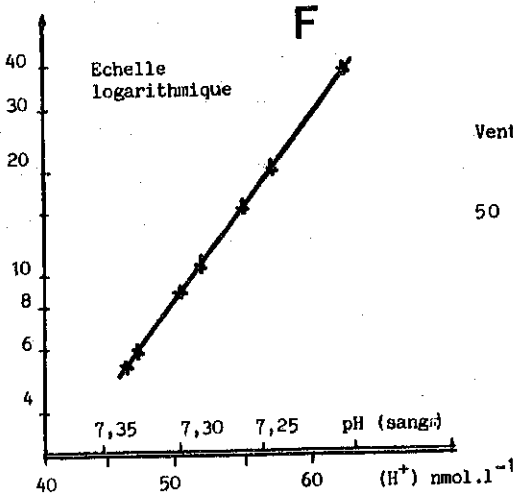
- . Coefficient de correction de température et de pression : 0,9
- . Abaissement de la cloche : 68 mm
- . Equivalent énergétique de l'oxygène : $20,2 \text{ kJ.l}^{-1}$
- . QK : 0,79

- a) - Pour un abaissement de la cloche de 1 mm, la consommation d'oxygène, ramenée aux conditions normales de température et de pression, est pour ce sujet de $20,73 \text{ cm}^3$.
Expliquer comment a pu être établie cette valeur.
Calculer la consommation d'oxygène du sujet par unité de temps.
- b) - Définir le quotient respiratoire. Commenter sa valeur.
Calculer la production de dioxyde de carbone du sujet par unité de temps.
- c) - Calculer son métabolisme de base par mètre carré de surface corporelle et par heure.
Quelles sont ses variations ?

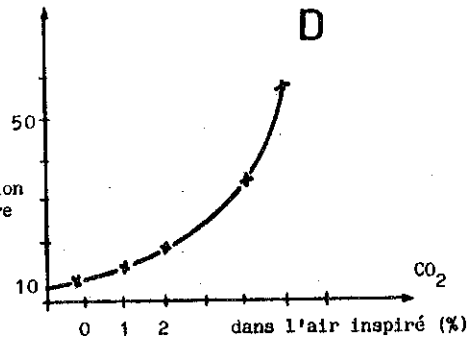
(22 pts) 3 - Mécanisme et régulation nerveuse de la respiration.

- a) - Indiquer quels sont les centres nerveux, les voies nerveuses et les récepteurs mis en jeu lors d'une respiration calme. Quel est le processus de déclenchement de l'expiration calme ? Sans préciser le détail des mécanismes, indiquer quelles sont les différences essentielles entre l'expiration calme et l'expiration forcée.
- b) - Mise en évidence des facteurs stimulants.
- Les graphiques D, E et F montrent les variations de la ventilation pulmonaire (en litre $\cdot \text{min}^{-1}$) en fonction des variations de différents facteurs :
 - . le pourcentage de dioxyde de carbone dans l'air inspiré,
 - . la pression partielle d'oxygène dans l'air inspiré,
 - . le pH du sang.
- Commenter ces graphiques.
- Que devient la pression partielle du dioxyde de carbone dans le sang du sujet au cours d'une hyperventilation volontaire ?

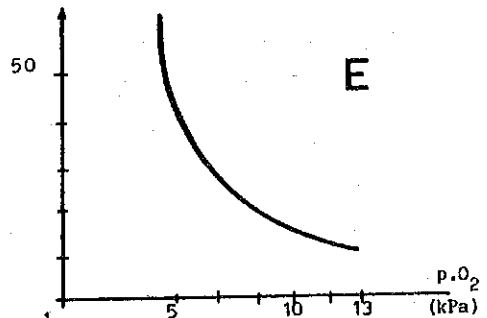
Ventilation
pulmonaire ($l \cdot \text{min}^{-1}$)



Ventilation
pulmonaire
($l \cdot \text{min}^{-1}$)



Ventilation



- Pendant l'inhalation de dioxyde de carbone, on constate une réponse rapide des centres nerveux, puis une réponse périphérique.

Lors d'une carence en oxygène (hypoxie), on constate seulement une réponse périphérique.

Commenter ces résultats en indiquant quelles sont les cellules et les structures sensibles aux différents facteurs étudiés ci-dessus.

c) - Etude du mécanisme de régulation chez le chat.

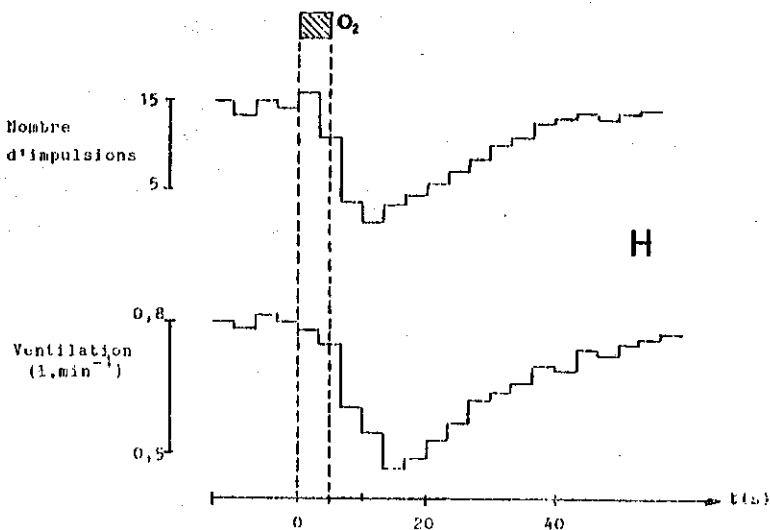
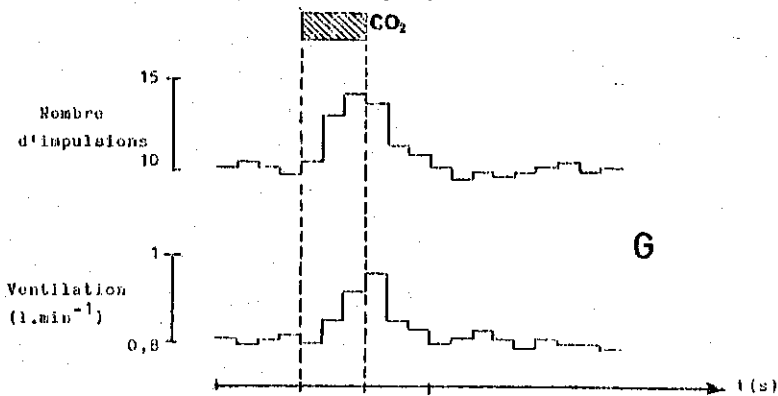
- Un chat anesthésié respire un mélange à 13 % d'oxygène. Au cours d'une première expérience, on lui fait inhaler du dioxyde de carbone (CO_2) pendant 10 secondes. On mesure simultanément (graphique G) :

- . le nombre d'impulsions (potentiels d'action) dans les fibres sino-carotidiennes,
- . la ventilation pulmonaire (en litres.min⁻¹).

- Au cours d'une deuxième expérience, on fait respirer au même animal de l'oxygène pur pendant 5 secondes. On mesure les mêmes paramètres que précédemment (graphique H).

Commenter et interpréter ces deux expériences en citant les voies et les centres nerveux mis en jeu, et en comparant, dans chaque cas, les deux tracés.

Comparer les graphiques G et H.



- a) - le dosage de l'azote total de l'extrait brut S_1 par la méthode de Kjeldahl,
- b) - la détermination de l'activité enzymatique des extraits S_1 , S_2 , S_3 et S_4 ,
- c) - le dosage des protéines des extraits S_1 , S_2 , S_3 et S_4 .

2 - Dosage de l'azote total de l'extrait brut S_1

2.1. - Minéralisation.

Dans un matras de Kjeldahl introduire :

- $E_1 = 5$ ml d'extrait S_1 ,
- 1 ml d'acide sulfurique concentré
- 0,5 g de sulfate de potassium
- une pointe de spatule de catalyseur de minéralisation
- une bille de verre.

Minéraliser. Laisser refroidir.

2.2. - Entraînement et dosage de l'ammoniac.

Reprendre le liquide de minéralisation par environ 20 ml d'eau distillée et transvaser quantitativement dans le ballon à distiller d'un appareil du type Schloesing préalablement purgé. Ajouter des billes de verre. Ajouter de l'eau distillée dans le ballon afin de le remplir à moitié. Alcaliniser correctement par addition de lessive de soude. Distiller. Recueillir le distillat dans environ 15 ml d'une solution d'acide borique à 5 g.l^{-1} . Doser par une solution d'acide sulfurique de concentration molaire volumique en H_2SO_4 environ $0,01 \text{ mol.l}^{-1}$, en présence d'indicateur RB (rouge de méthyle - bleu de méthylène).

Données :

- l'indicateur est vert en milieu alcalin et violet en milieu acide,
- teinte sensible de cet indicateur : gris,
- le pH de la solution d'acide borique est ajusté préalablement à la teinte sensible de l'indicateur RB à l'aide d'une solution de H_2SO_4 à $0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ diluée au 1/10 ou d'une solution de NaOH à $0,02 \text{ mol.l}^{-1}$ diluée au 1/10
- la solution concentrée de H_2SO_4 a une concentration molaire volumique en H_2SO_4 égale environ à 18 mol.l^{-1}
- la lessive de soude a une concentration molaire volumique égale environ à 10 mol.l^{-1} .

2.3. - Résultat : calculer la teneur en azote total de S_1

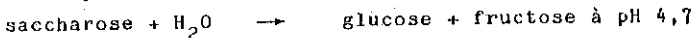
N.B. : la concentration molaire volumique exacte de la solution de H_2SO_4 sera précisée au moment de l'épreuve.

3 - Détermination de l'activité β fructosidasique des extraits S_1, S_2

S_3 et S_4 .

3.1. - Principe.

Cette enzyme catalyse la réaction :



Les oses libérés par hydrolyse sont dosés grâce à leur pouvoir réducteur : à chaud, ils réduisent l'acide 2 hydroxy 3-5 dinitrobenzoïque en un composé coloré en rouge.

3.2. - Gamme d'étalonnage.

Utiliser une solution étalon renfermant du glucose et du fructose, la concentration molaire volumique de chacun de ces sucres étant égale à $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$.

Tubes n°	0	1	2	3	4	5
Solution étalon (ml)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Eau distillée qsp 2 ml	2	1,8	1,6	1,4	1,2	1
Tampon acétate pH 4,7 (ml)	1	1	1	1	1	1
Réactif au 2 hydroxy 3-5 dinitrobenzoate (ml)	2	2	2	2	2	2

Porter les tubes au bain marie bouillant pendant 5 min exactement puis les plonger dans l'eau froide et ajouter 15 ml d'eau distillée dans chaque tube. Mélanger. Laisser reposer 10 min à la température du laboratoire. Mesurer les absorbances à 530 nm contre le blanc de gamme.

3.3. - Tracer la courbe d'étalonnage représentant la variation de l'absorbance en fonction du nombre de micromoles d'hexoses par tube.

3.4. - Dosage de l'activité enzymatique des extraits.

3.4.1. - On dispose des dilutions S_1^1 , S_2^1 , S_3^1 et S_4^1

$$\left\{ \begin{array}{l} S_1^1 = S_1 \text{ dilué } 20 \text{ fois} \\ S_2^1 = S_2 \text{ dilué } 100 \text{ fois} \\ S_3^1 = S_3 \text{ dilué } 100 \text{ fois} \\ S_4^1 = S_4 \text{ dilué } 20 \text{ fois} \end{array} \right.$$

C'est l'activité enzymatique de ces dilutions qu'on se propose de déterminer.

Conditions de détermination de l'activité enzymatique :

- Préchauffer à 30°C la solution de saccharose à $0,6 \text{ mol.l}^{-1}$
- Dans 4 tubes introduire :
 - . 1 ml de chaque extrait dilué,
 - . 1 ml de tampon acétate à pH 4,7
- Préchauffer ces tubes à 30°C et dans chacun d'eux ajouter 1 ml de la solution de saccharose préchauffée.

Incuber exactement pendant 5 min à 30°C (l'un après l'autre à des intervalles de 30 secondes par exemple) Stopper l'hydrolyse enzymatique par addition, dans chaque tube de 2 ml de réactif au 2 hydroxy 3-5 dinitrobenzoate après les 5 min de réaction enzymatique. Mélanger rapidement. Quand tous les tubes sont prêts, les porter dans un bain marie bouillant pendant 5 min exactement. Plonger les tubes dans l'eau froide ; y ajouter 15 ml d'eau distillée.

3.4.2. - Préparation de 4 témoins enzyme.

Dans 4 tubes introduire :

- 1 ml de chaque extrait dilué,
- 1 ml de tampon acétate de pH 4,7
- 2 ml de réactif au 2 hydroxy 3-5 dinitrobenzoate pour dénaturer l'enzyme (mélanger),
- 1 ml de solution de saccharose non préchauffée.

Porter au bain d'eau bouillante pendant 5 min. Plonger les tubes dans l'eau froide et y ajouter 15 ml d'eau distillée.

3.4.3. - Quand les 8 tubes sont prêts, mesurer l'absorbance du contenu de chaque tube S_1^1 , S_2^1 , S_3^1 et S_4^1 contre son témoin enzyme à 530 nm et en utilisant le même appareil que pour la lecture de la gamme d'étalonnage.

3.5. - Résultats :

- Déterminer sur la gamme d'étalonnage le nombre de μ moles d'hexoses libérés par tube en 5 min. Indiquer ces valeurs avec précision dans le compte rendu : pour S_1^1 , S_2^1 , S_3^1 , S_4^1
- sachant que l'unité β fructosidasiq. est la quantité de β fructosidase nécessaire pour hydrolyser 1 μ mole de saccharose en 1 min à 30°C et à pH 4,7, calculer l'activité β fructosidasiq. des extraits initiaux S_1 , S_2 , S_3 et S_4 en unités enzymatiques par ml d'extrait non dilué.
- reporter ces valeurs dans le tableau de résultats joint.

4 - Dosage des protéines des extraits par la méthode colorimétrique au bleu de Coomassie (technique de Bradford)

4.1. - Principe.

Le colorant bleu de Coomassie G250 forme un complexe avec les protéines avec déplacement du maximum d'absorption de 465 nm (colorant seul) à 595 nm (complexe). La lecture se fait à 595 nm. La teinte est stable au moins 30 min. Dans les conditions opératoires décrites la loi de Beer Lambert n'est vérifiée que jusqu'à 30 μ g de protéines par tube.

Il s'agit d'une technique très sensible exigeant des pipetages d'une grande précision.

(Ne pas utiliser de spectrophotomètre à vidange automatique car les cuves restent bleues).

4.2. - Mode opératoire.

On dispose de 3 solutions étalons de séralbumine bovine pure préparées à l'aide d'une solution tampon de phosphate de potassium de pH égal à 7.

Les solutions étalons contiennent respectivement 0,1 g.l⁻¹, 0,2 g.l⁻¹ et 0,3 g.l⁻¹ de séralbumine.

On dose les protéines des extraits dilués S_1^1 - S_2^1 - S_3^1 et S_4^1

Tubes	0	1	2	3	S_1^1	S_2^1	S_3^1	S_4^1
Volume de solutions étalons ou d'extraits dilués (ml)	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Solution tampon de phosphate de potassium de pH 7 (ml)	0,1	0	0	0	0	0	0	0
Solution de colorant bleu de Coomassie G250 (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5
Protéines en g/l	0	0,1	0,2	0,3				

N.B. : Pour prélever 0,1 ml de solution prendre une pipette de précision : par exemple une pipette de 0,2 ml au 1/1 000 . Prélever les solutions étalons dans le sens croissant des concentrations en rinçant la pipette à l'aide de la solution de concentration immédiatement supérieure à celle qui vient d'être prélevée.
Après préparation des tubes, mélanger, laisser en attente à l'obscurité 10 min. Mesurer l'absorbance à 595 nm.

4.3. - Résultats

Tracer la courbe d'étalonnage représentant la variation de l'absorbance en fonction de la masse de protéine par tube. Déterminer les concentrations en protéines des extraits initiaux S_1 , S_2 , S_3 et S_4 , exprimées en $g.l^{-1}$.

Reporter ces valeurs dans le tableau de résultats joint.

Calculer le pourcentage d'azote des protéines de l'extrait brut S_1 .

5 - Conclusion sur la purification.

Compléter les colonnes du tableau de résultats joint.

 TABLEAU DE RESULTATS A RENDRE AVEC LE COMPTE RENDU

Stade de purification	Volume total d'extract obtenu (ml)	Teneur en protéines de l'extrait non dilué g/l	Masse de protéines dans le volume d'extrait non dilué mg	Activité 3 sidosique en-zymatiques par ml d'extract non dilué	Activité fructo-activés dans le volume total d'extrait non dilué	Activité spécifique en unités enzymatiques par mg de protéine	Coefficient de purification par rapport à la 1 ^{re} étape	% de récupération de l'activité
S ₁ extrait brut	50 ml							
S ₂ après action du sulfate d'ammonium	5 ml							
S ₃ après dialyse	7 ml							
S ₄ après chromatographie	3 ml							

ANALYSES CHIMIQUES

(+physique + montage)

- INTERROGATION PRELIMINAIRE - (Durée : 0 h 30 - Coefficient : 1)

Documents non autorisés

Dosage conductimétrique des ions sulfate d'un mélange par une solution de chlorure de baryum de concentration molaire volumique donnée.

1 - Exposer le principe d'un dosage conductimétrique en analyse quantitative.

2 - Description de l'appareillage utilisé. Précautions d'emploi.

3 - A quelle allure de courbe peut-on s'attendre lors d'un dosage de sulfate de sodium par une solution de chlorure de baryum ? Justifier la réponse.

On rappelle la formule approchée donnant la conductivité χ d'un électrolyte :

$$\chi = \sum_i \left(\frac{\lambda_i Z_i C_i}{1000} \right)$$

λ_i : conductivité équivalente

Z_i : charge de l'ion

C_i : concentration molaire volumique de l'ion donné

On donne les valeurs suivantes de conductivités équivalentes limites λ_0 en solution aqueuse à 25°C et en $\text{ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^2$ par mole :

Ba^{2+} : 63,5 ; Na^+ : 50 ; Cl^- : 76,3 ; SO_4^{2-} : 80.

- MANIPULATION - (Durée : 4 h 30 - Coefficient : 4)

Documents personnels autorisés

Dosage d'une solution S contenant de l'hydroxyde de sodium, du carbonate de sodium, du sulfate de sodium et de l'iodate de potassium.

1 - Dosage pH-métrique de S par une solution d'acide chlorhydrique A à environ 0,1 mol/dm³.

1.1. - Etalonnage de la solution d'acide chlorhydrique A par pesée d'hydrogénocarbonate de potassium pur et anhydre.

Deux pesées sont exigées.

Choisir l'indicateur coloré convenable.

1.2. - pH-métrie.

Monter le potentiomètre avec les électrodes convenables.

Prise d'essai de S : 10 cm^3 .

On notera v_1 et v_2 les deux volumes intéressants apparaissant sur la courbe $\text{pH} = f(v)$ avec v_2 , volume total d'acide chlorhydrique A ayant neutralisé à la fois l'hydroxyde de sodium et le carbonate disodique (voir 4.1.2. pour la détermination de v_1 et v_2).

2 - Dosage conductimétrique des ions sulfate de S par une solution de chlorure de baryum à $0,4 \text{ mol/dm}^3$.

Prise d'essai de S : 10 cm^3

Ajouter :

- 150 cm^3 d'eau distillée,
- $(v_2 + 1) \text{ cm}^3$ d'acide chlorhydrique A mesuré à la burette,

Doser par le chlorure de baryum contenu dans une microburette de 5 cm^3 .

Tracer sur papier millimétré la courbe $\frac{1}{R} = f(v)$. Deux dosages sont exigés.

N.B. : - Bien attendre la stabilisation de l'aiguille entre chaque addition de réactif.

- Toutes les 2 ou 3 mesures, réétalonner éventuellement l'appareil.

3 - Dosage iodométrique des ions iodate de S par une solution de thiosulfate de sodium à environ $0,1 \text{ mol/dm}^3$.

3.1. - Etalonnage de la solution de thiosulfate de sodium par une solution de dichromate de potassium à 5 g/dm^3 .

Choisir une prise d'essai convenable.

Ajouter :

- 10 cm^3 de KI à 100 g/dm^3 ,
- 5 cm^3 de H_2SO_4 dilué au 1/5.

Agiter.

Ajouter 50 cm^3 d'eau distillée.

3.2. - Dosage de l'iodate de S.

Prise d'essai de S : 10 cm^3

Ajouter :

- 10 cm^3 de KI à 100 g/dm^3
- 20 cm^3 de H_2SO_4 dilué au 1/5,
- 50 cm^3 d'eau distillée.

4 - Compte rendu.Première partie.

L'ensemble des résultats expérimentaux sera rassemblé dans un unique tableau sur une feuille séparée.

Deuxième partie.

- 4.1.1. - Calculer la masse d'hydrogénocarbonate de potassium à peser. Calculer C_{HCl} (A).
- 4.1.2. - Interpréter la courbe $\text{pH} = f(v)$.
Tracer la courbe $\frac{\Delta \text{pH}}{\Delta v}$ en fonction de v pour la détermination de v_1 et v_2 .
Calculer la concentration molaire volumique de S en hydroxyde de sodium et en carbonate disodique.
- 4.2.1. - Pourquoi avoir ajouté $(v_2 + 1) \text{ cm}^3$ d'acide chlorhydrique A avant le dosage par la chlorure de baryum ?
- 4.2.2. - Calculer la concentration molaire volumique de S en ions sulfate.
- 4.3.1. - Calculer la concentration molaire volumique de la solution de thiosulfate de sodium.
- 4.3.2. - Calculer la concentration molaire volumique de S en ions iodate.
- 4.4. - Calculer la concentration molaire volumique de S en ions Na^+ .

Données :

- Masse molaire de l'hydrogénocarbonate de potassium : 100,12
- Masse molaire du dichromate de potassium : 294,19
- pK_A de $\text{H}_2\text{CO}_3 = 6,4 ; 10,3$
- Produits de solubilité :
 - . sulfate de baryum : $\text{pP}_S = - \lg \text{P}_S = 10$
 - . carbonate de baryum : $\text{pP}_S = 8,1$

MICROBIOLOGIE

PREMIER JOUR : Durée : 3 h

1 - PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (65 points)

Analyse bactériologique d'une eau de consommation non traitée :

- 1.1. - Recherche et dénombrement d'E. coli et des coliformes par la méthode de filtration sur membranes.
- 1.2. - Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs.
- 1.3. - Recherche de Salmonella.
A partir d'un milieu D.C.L. (désoxycholate-citrate-lactose) ou d'une gélose SS, repérer les colonies suspectes et les réensemencer en vue de leur identification.

2 - DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (35 points)

Identification d'une souche isolée après analyse bactériologique d'un lot d'huîtres.

DEUXIEME JOUR : Durée : 2 h

1 - PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (65 points)

Analyse bactériologique de l'eau de consommation non traitée :

- 1.1. -
Lecture et interprétation des résultats.
- 1.2. -
- 1.3. - Identification complète des bactéries réensemencées.

2 - DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (35 points)

Identification de la souche isolée du lot d'huîtres.

Lecture et interprétation des résultats après exécution éventuelle de tests complémentaires.

EPREUVES DE LA SESSION 1981

FRANCAIS

LA FORME SUPERIEURE DE L'ACTION, C'EST LA CREATION

A notre avis, ceux qui veulent enfermer les hommes dans des systèmes sociaux qui les assimilent à des cellules utiles et heureuses se trompent sur la nature profonde de la mentalité humaine. L'état du développement cérébral de l'Homme sapiens en fait autre chose qu'un simple élément destiné à trouver son bonheur dans la prosterité de l'Etat, dans un système dont on l'a convaincu (et parfois par quels moyens !) que sa finalité était cette prosterité. Chaque fois que des constructeurs de systèmes "pour 1 000 ans" ont prétendu avoir trouvé la définition de la condition humaine, l'envie de penser, l'envie d'être libre, de choisir, est apparue, s'est développée et a finalement vaincu ; car il y a quelque chose de pire pour un homme que la suppression de la liberté de pensée, c'est la suppression de la pensée. Priver le peuple de la pensée en le transformant en troupeau heureux, fécond et fidèle, est un grand crime. Faire de ce peuple une assemblée de spectateurs dociles et, si possible, d'admirateurs d'un homme ou d'un parti, au nom d'un bonheur matériel ou spirituel dans un équilibre purement fonctionnel, quel rêve pour bien des politiciens !

Chacun doit donc participer, apporter sa part, si modeste soit-elle, du travail de son esprit ; la solidarité doit se placer non pas dans la prosterité du Léviathan, mais dans l'accession des autres aux possibilités d'action, d'intervention et surtout de création. En effet, la forme supérieure de l'action n'est-elle pas la création ? N'est-ce pas ce qui reste finalement, rustique et sublime objet d'art sumérien retrouvé dans le sable, temple élevé aux dieux, poème charmant, principe, théorie nouvelle ; de l'ouvre-boîte à la méthode pédagogique, du plus récent pont sur l'Hudson à la nouvelle recette de cuisine . C'est en créant que l'homme se renouvelle et vit au sens fort du mot.

Mais, diront certains, créer est une chose réservée à l'élite, aux hommes supérieurs, aux gens doués ! Le peuple, la masse des médiocres, en est bien incapable. D'ailleurs cela ne les intéresse pas, regardez autour de vous ! Et pourtant, cette masse de prétendus médiocres a construit des cathédrales, des artisans anonymes ont réalisé des chefs-d'oeuvre qu'on paie en or chez l'antiquaire, ces hommes de rien ont tout construit. Ce qu'il y a de plus grave et de plus dangereux pour notre civilisation occidentale, est cette disparition en certains secteurs sociologiques, du désir et du besoin de créer. Une chaise et un poste de télévision, un billet pour le stade, un ticket de pari mutuel, un foyer bien garanti, une voiture neuve tous les deux ans, des loisirs pour pouvoir gaspiller sa liberté. Et pour diriger ces moutons de Panurge quelques Grands Prêtres, seuls capables de décider et d'utiliser convenablement la science pour gouverner. Les technocrates ou cybernètes d'un côté, le congrès des médiocres de l'autre.

Il y a plus de liberté pour le pauvre Indien qui fabrique plus ou moins habilement un petit objet de style maya qu'il vendra au touriste gringo que pour ce gringo qui ne vit qu'en fonction de la planification de ses dettes pour payer son auto et sa télévision en couleurs.

Créer, c'est matérialiser son imagination, c'est participer réellement à la grande aventure des hommes. C'est avec un peuple de créateurs qu'on peut donner un sens à la civilisation. N'y a-t-il pas finalement équivalence entre ces mots : création et civilisation ?

A. Kaufmann, L'homme d'action et la science

QUESTIONS

- 1 - Résumez le texte en douze lignes environ.
- 2 - Expliquez : - finalité,
- ces hommes de rien ont tout construit,
- technocrates.
- 3 - Vous commenterez le passage :
"Ce qu'il y a de plus grave et de plus dangereux pour notre civilisation occidentale, est cette disparition, en certains secteurs sociologiques, du désir et du besoin de créer."

BIOCHIMIE

A - LE PHOSPHORE LIPIDIQUE (15 points)

Le sérum renferme différentes formes de phosphore précisées dans le tableau ci-dessous

FORMES DE PHOSPHORE	VALEUR MOYENNE du phosphore en g/dm ³ de sérum
P total	0,125
P minéral	0,036
P lipidique	0,075
P des phosphodérivés de glucides etc...	0,008

- 1 - On précisera la signification de "phosphore lipidique". On donnera un exemple de composé et on en indiquera la formule et les principales propriétés physiques.
- 2 - Par traitement du sérum avec un mélange chloroforme-méthanol on obtient l'extrait lipidique total.
 - 2-1 - Une séparation des constituants de cet extrait par chromatographie sur couche mince de gel de silice donne les résultats regroupés sur le figure 1. (Deux chromatographies ont été réalisées). Interpréter ces résultats.
 - 2-2 - Après saponification totale de cet extrait on isole un savon d'acide gras dont l'oxydation permanganique conduit à la formation par mole d'acide gras de :
 - deux moles d'acide malonique (diacide carboxylique en C3),
 - une mole de propanoïque,
 - une mole d'un diacide carboxylique en C9,
 Quelle est la formule de l'acide gras isolé ? A quelle famille d'acide gras appartient-il ?

- 3 - On se propose de déterminer par dosage colorimétrique les taux de certains dérivés phosphorés. Pour cela on doit toujours revenir à la forme "phosphates" (Les résultats seront exprimés en g de phosphore par dm^3 de sérum).

On dispose des réactifs suivants :

- R_1 Solution étalon de KH_2PO_4
- R_2 Acide trichloracétique à $1,2 \text{ mol/dm}^3$
- R_3 Acide perchlorique à 8 mol/dm^3
- R_4 Peroxyde d'hydrogène à 30 %
- R_5 Réactifs pour le développement de la réaction colorée.

Premier temps :

A une prise de sérum on ajoute du réactif R_2 . Après centrifugation on recueille le surnageant dont on dose le phosphore. Soit $X_1 \text{ g/dm}^3$ de P.

Deuxième temps :

On traite le précipité obtenu au premier temps par les réactifs R_3 et R_4 jusqu'à décoloration (environ 1 heure à 200°C). Puis on dose le phosphore. Soit $X_2 \text{ g/dm}^3$ de P.

Troisième temps :

Traitement identique à celui du deuxième temps en remplaçant le précipité par du sérum. Soit $X_3 \text{ g/dm}^3$ de P.

- 3-1 - Expliquer le rôle des réactifs. En déduire le principe général du dosage des différentes formes de phosphore dans un milieu biologique.
- 3-2 - Discuter la signification de $X_3 - (X_1 + X_2)$.

B - LE METABOLISME DU GLYCEROL (30 points)

Le glycérol constitue un pont dans l'interconversion entre les lipides et les glucides. Le glycérol libre dérivant des triacylglycérols est d'abord phosphorylé en présence d'ATP par la glycérokinase puis le glycérol 3 phosphate formé est oxydé en dihydroxyacétone phosphate, soit par la glycérophosphate déshydrogénase cytoplasmique (à NAD^+) soit par la glycérophosphate déshydrogénase mitochondriale (qui est une flavoprotéine).

Le dihydroxyacétone formé peut alors être transformé par la triose phosphate isomérase en glycéraldéhyde 3 phosphate et rejoindre la voie de la glycolyse. Il est ensuite oxydé en CO_2 et H_2O .

1 - OXYDATION DU GLYCEROL :

- 1-1 - Ecrire l'équation d'oxydation totale du glycérol in vitro.
- 1-2 - Ecrire cette équation d'oxydation in vivo en la justifiant par le résumé des voies métaboliques (seule la formule du glycérol sera exigée dans cette réponse).
- 1-3 - Calculer le nombre de moles d'ATP formées par atome de carbone du glycérol lors de l'oxydation complète du glycérol in vivo.
- 1-4 - Même question que 1-3 - mais en partant du D glycéraldéhyde et non du glycérol. Conclure.

2 - Ecrire la totalité des réactions se déroulant depuis le glycérol libre jusqu'au pyruvate : nom des composés, des enzymes et des coenzymes - formules des substrats et des produits.

3 - On se propose d'étudier le mécanisme, de l'une des réactions précédentes : passage aldéhyde - acide de la glycolyse en aérobiose.

- 3-1 - Sachant que les réactifs bloquant les fonctions thiol arrêtent la glycolyse à ce stade, détailler le mécanisme de cette réaction en précisant le rôle de l'enzyme et l'étape exacte au cours de laquelle a lieu l'oxydation.
- 3-2 - Sachant que le potentiel standard d'oxydo-réduction du système acide-aldéhyde est de $-0,57 \text{ V}$, que celui du système $\text{NAD}^+ - \text{NADH}, \text{H}^+$ est de $-0,32 \text{ V}$ et qu'il n'apparaît pas de chaleur lors de la réaction globale, expliquer et justifier la particularité de la molécule de 3 phosphoglycéroylphosphate.
- 3-3 - Calculer le rapport P/O (ou index de phosphorylation oxydative) pour ce passage aldéhyde-acide.
- 3-4 - Calculer la variation d'enthalpie libre standard pour l'oxydation du couple aldéhyde-acide sachant que la chaîne respiratoire fonctionne et que E'_0 du couple $1/2 \text{ O}_2/\text{H}_2\text{O}$ vaut $+0,81 \text{ V}$.

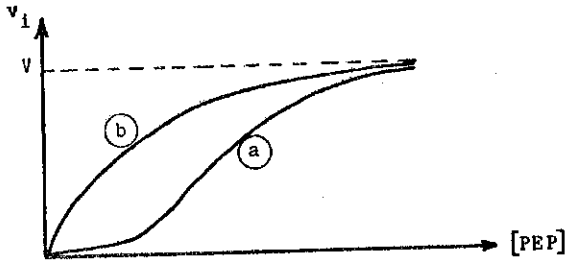
Donnée : $F = 96\,500$ coulombs.

C - ETUDE DE KINASES (20 points)

1 - LA PYRUVATE KINASE.

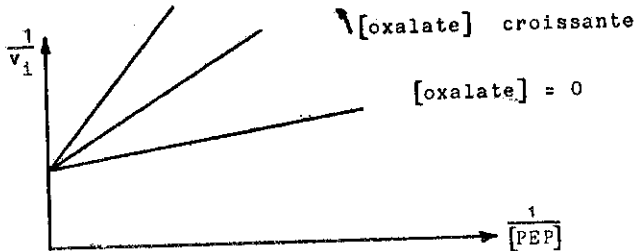
L'étude cinétique d'une pyruvate kinase effectuée à concentration constante et saturante d'ADP donne entre autres les résultats suivants :

tracés 1

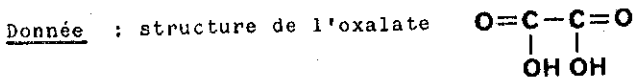


- [PEP] = concentration molaire en phosphoénolpyruvate
- (a) = courbe obtenue sans FDP
- (b) = courbe obtenue avec FDP saturant
- FDP = fructose 1-6 diphosphate.

tracés 2



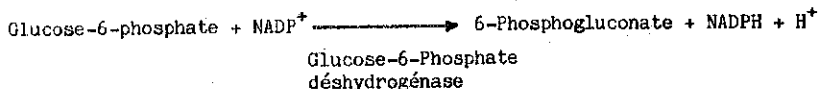
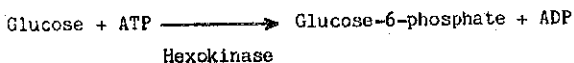
Dans les tracés 2 on représente les effets de l'oxalate à diverses concentrations molaires et en présence de FDP saturant :



Interpréter l'ensemble de ces tracés.

2 - LA GLUCOKINASE : utilisation pour le dosage du glucose.

2-1 - Principe : Les équations traduisant le principe du dosage sont les suivantes :



On compare les résultats obtenus soit par la méthode en "Point final" soit par la méthode "Cinétique non linéaire en temps fixé".

La méthode en "Point final" consiste à mesurer l'absorbance finale stabilisée (quand la réaction est terminée). La méthode cinétique consiste à comparer la vitesse de réaction avec la solution inconnue et celle avec une solution étalon dans un intervalle de temps suffisamment petit pour que la cinétique soit considérée comme linéaire, les autres conditions (pH, température, activités des enzymes) étant identiques. En effet l'équation de MICHAELIS :

$v = \frac{V_m (S)}{K_m + (S)}$ se simplifie en $\frac{V_m (S)}{K_m}$ lorsque (S) est faible et négligeable devant K_m . La vitesse est alors proportionnelle à (S).

2-2 - Données expérimentales :

- Méthode en "Point final" : à 340 nm l'absorbance finale mesurée est de 0,57 pour une largeur de cuve de 1 cm
- Méthode en "cinétique" : voir le graphique ci-joint (figure 2). En déduire dans les deux cas la concentration de la solution inconnue de glucose en g/dm^3 et en mmol/dm^3 . Quels peuvent être les avantages de la deuxième méthode par rapport à la première ?

Absorbance linétique molaire de NADH à 340 nm = $630 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$

C = 12 O = 16 H = 1

D - CHROMATOGRAPHIE (15 points)

On veut déterminer la masse molaire d'une protéine X par chromatographie sur tamis moléculaire (= filtration sur gel). On choisit trois gels ayant des domaines de fractionnement très différents :

- le gel A sépare les substances de masse molaire comprise entre $9 \cdot 10^4$ et $1,2 \cdot 10^6$ grammes,
- le gel B sépare les substances de masse molaire comprise entre $4 \cdot 10^4$ et $4 \cdot 10^5$ grammes,
- le gel C sépare les substances de masse molaire comprise entre $2 \cdot 10^4$ et $2,5 \cdot 10^5$ grammes.

On étalonne chaque gel avec les substances suivantes :

Substance	Masse molaire en grammes
bleu dextran	$2 \cdot 10^6$
fibrinogène	$3,4 \cdot 10^5$
catalase	$2,3 \cdot 10^5$
lactoglobuline	$1,9 \cdot 10^4$

Ensuite on chromatographie la protéine X sur chacun d'entre eux.

- 1 - Décrire le principe d'une chromatographie de filtration sur gel et l'exploitation des résultats.
- 2 - On donne les diagrammes d'éluion obtenus dans les trois cas (figure 3).

2-1 - Quel gel doit-on utiliser pour déterminer la masse molaire de la protéine X ? Justifier toutes les réponses.

Donnée : Aucune des protéines ne présente d'affinité particulière pour les gels utilisés.

2-2 - Tracer la courbe d'étalonnage du gel choisi et déterminer la masse molaire de la protéine X. Confirmer les commentaires du 2-1.

$$\text{Données : } .K_{av} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$$

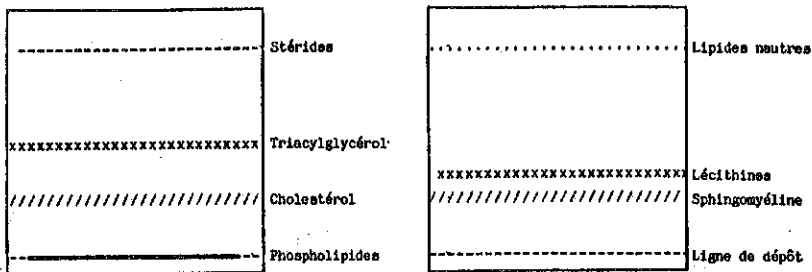
avec V_t : volume total

V_0 : volume mort

$$.K_{av} = -a \log M + b$$

avec M : masse molaire

FIGURE 1 (PARTIE A)

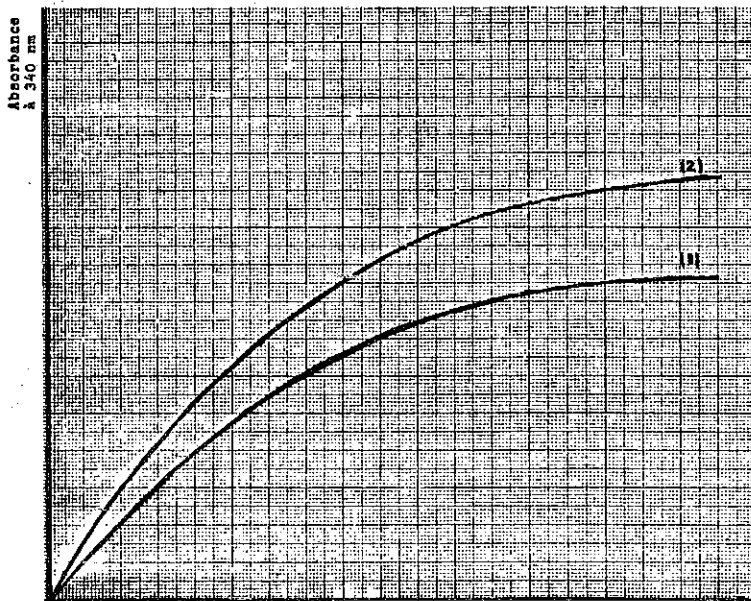


Phase (1) - Ether de pétrole 90 volumes
 - Ether éthylique 10 volumes
 - Ethanoïque 1 volume

Phase (2) - Chloroforme 65 volumes
 - Méthanol 25 volumes
 - Eau 1 volume

FIGURE 2 (PARTIE C)

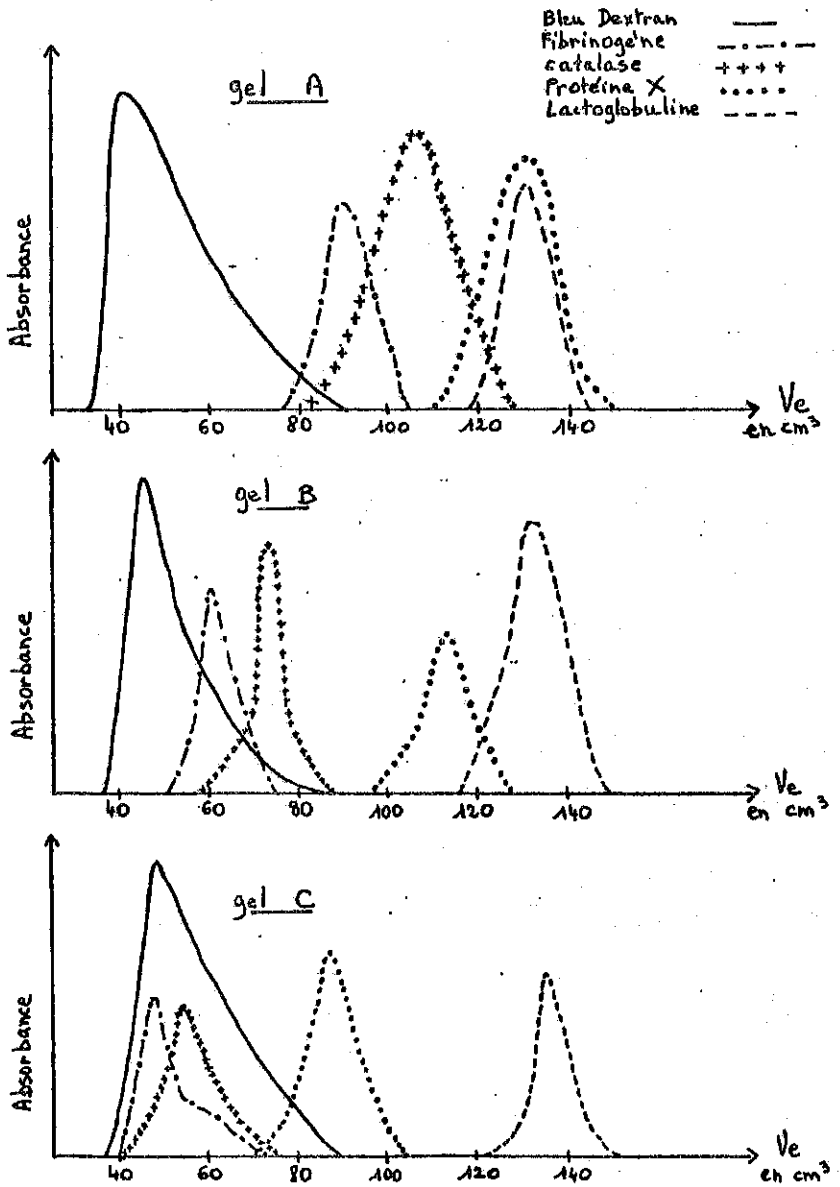
DOSAAGE DU GLUCOSE EN CINÉTIQUE



Courbe (1) - solution étalon à $0,7 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³
 Courbe (2) - solution inconnue



FIGURE 3 (PARTIE D)



PHYSIQUE

I. Question de cours : le candidat doit traiter l'une des deux questions de cours suivantes (8 points sur 20) :

1. Photométrie :

Définition des grandeurs suivantes : flux, intensité, transmission, densité optique.

Unités relatives aux grandeurs ci-dessus ; distinguer les grandeurs énergétiques et les grandeurs lumineuses.

Principe des récepteurs de flux suivants : cellule photoélectrique ; photomultiplicateur d'électrons ; photodiode.

ou

2. Spectrographie de masse :

Schéma d'un dispositif simple et explication des différents éléments le constituant.

Principe du tracé d'un spectre de masse.

Allure d'un spectre de masse ; interprétation et applications.

II. Problème obligatoire (12 points sur 20) :

On lit, sur les caractéristiques d'un microscope, les renseignements suivants :

Oculaire : 10 X ; Objectif : 45 X / O.N. : 0,65 .

Distance objectif-oculaire : 180 mm.

1. On désire tout d'abord vérifier ces données. On réalise, pour cela, les trois manipulations suivantes :

1.1 On observe, au microscope, un micromètre objectif gradué en $1/100$ de mm ; à l'aide d'une chambre claire, on regarde, en même temps, une règle graduée en mm. On déplace verticalement la règle graduée jusqu'à ce que sa distance optique à l'œil soit égale à 30,0 cm. On règle ensuite la mise au point du microscope de façon à ce qu'il n'y ait pas de parallaxe entre les deux images vues par l'œil.

On constate que $n = 20$ divisions du micromètre objectif coïncident avec 108 mm de la règle.

1.2 La mise au point étant toujours la même, on remplace l'oculaire par un oculaire micrométrique. On recherche la mise au point sans déplacer l'objectif par rapport à l'objet. Le micromètre est gradué en $1/10$ de mm.

On observe que $n = 20$ divisions du micromètre objectif coïncident avec $N = 90$ divisions du micromètre oculaire.

1.3 Un spertomètre est réalisé (voir figure) par une lame à faces parallèles d'épaisseur $e = 18,8$ mm et d'indice $n' = 1,472$. La face inférieure porte des graduations en mm.

La face supérieure est opaque, à l'exception d'un petit trou O sur lequel est réalisée la mise au point du microscope.

En enlevant l'oculaire et en observant à l'intérieur du microscope au moyen d'un viseur, on voit l'image $M'N'$ de la graduation MN .

On peut alors observer 18,5 divisions, suivant un diamètre du champ.

a) Donner le principe de la chambre claire et son intérêt.

b) Expliquer, à l'aide d'un schéma clair, le principe de la manipulation 1.1 ; quelle caractéristique du microscope peut-on en déduire ? La calculer numériquement.

c) Que peut-on déduire de l'expérience 1.2 ? En donner la valeur numérique.

d) L'ensemble des deux expériences 1.1 et 1.2 permet d'obtenir la puissance de l'oculaire ; la calculer.

e) L'expérience 1.3 donne l'ouverture numérique de l'objectif du microscope ;

. La définir ;

. Quel est son intérêt ?

. La calculer, dans le cas présent.

f) Conclusion : les caractéristiques du microscope sont-elles vérifiées ?

2. On considère que les observations 1.1 sont faites par l'œil placé au foyer principal image de l'oculaire (objectif et oculaire sont assimilés à des lentilles minces).

Calculer :

2.1 La puissance intrinsèque du microscope.

2.2 Son grossissement commercial.

2.3 La distance focale de l'oculaire.

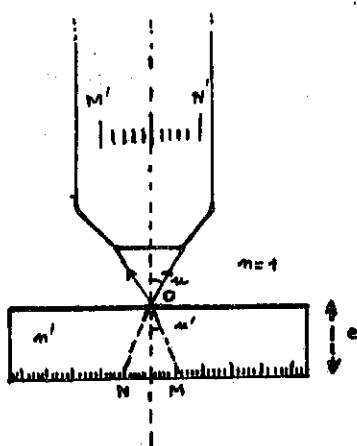
2.4 La distance focale de l'objectif (on déterminera la position de l'image intermédiaire et de l'objet).

2.5 La dimension du plus petit détail, placé dans l'air, visible au moyen du microscope ; on considèrera une longueur d'onde

$\lambda = 0,5 \mu\text{m}$. On rappelle que le pouvoir séparateur du microscope est :

$$AB = \frac{0,6 \lambda}{n \sin u} \quad (\text{notations évidentes}).$$

En déduire l'écart angulaire de son image vue par l'œil,
 au moyen du microscope. Est-ce que l'œil limite ce pouvoir séparateur
 sachant que pour l'œil, le plus petit écart angulaire décelable est
 $\epsilon = 4 \cdot 10^{-4}$ rad?



C H I M I E

I - Dans tout le problème on opère à 25°C.

En milieu acide la parabenzoquinone est réduite en paradiphénol (ou hydro-



(notée Q)

quinone) (notée H₂Q) suivant la demi-réaction élec-

tronique : $Q + 2 H^+ + 2 e^- \rightleftharpoons H_2Q$, potentiel normal $E^\circ_{Q/H_2Q} = +0,70 \text{ V}$

- 1 - Tracer le diagramme potentiel-pH pour ce couple rédox en considérant que toutes les concentrations molaires (sauf celle des ions H⁺) ont la même valeur c.
- 2 - L'hydroquinone est un diacide, on donne les pK_A des couples acide-base : H₂Q/HQ⁻ : pK_{A1} = 10 ; HQ⁻/Q²⁻ : pK_{A2} = 11,5.
 - 2-1 - Déterminer les domaines de pH (compris entre 0 et 13) entre lesquels prédominent les différentes espèces chimiques.
 - 2-2 - On considère les couples rédox :

$$Q + H^+ + 2e^- \rightleftharpoons HQ^-$$
, le potentiel normal $E^\circ_{Q/HQ^-} = +0,4 \text{ V}$

$$Q + 2e^- \rightleftharpoons Q^{2-}$$
 Compléter le diagramme potentiel-pH et déterminer le potentiel normal $E^\circ_{Q/Q^{2-}}$.
- 3 - 3-1 - Indiquer la condition thermodynamique pour qu'une réaction chimique ait lieu spontanément; en déduire la condition pour une réaction d'oxydo-réduction.
- 3-2 - On mélange des volumes égaux de solutions de parabenzoquinone, d'hydroquinone, d'iode (I₂) et d'iodure de potassium (K⁺, I⁻), de concentrations molaires respectivement égales à 0,02 mol.l⁻¹. Déterminer la réaction possible entre les deux couples rédox suivant la valeur du pH :

a/ pH = 0 ; b/ pH = 7.

 Données : potentiel normal $E^\circ_{I_2/I^-} = +0,54 \text{ V}$
 constante des gaz parfaits R = 8,32 J.K⁻¹.mol⁻¹
 le faraday : 1 F = 96 500 coulombs.

II - 1 - Définir et calculer l'enthalpie de formation du méthane.

2 - Définir l'énergie de liaison d'une molécule diatomique, et calculer l'énergie de liaison de la triple liaison $C \equiv C$ à partir des données suivantes à $25^\circ C$:

- les variations d'enthalpie au cours des réactions de combustion de : méthane (CH_4) : -889 kJ.mol^{-1} ,

éthyne (ou acétylène : C_2H_2) : $-1\ 299 \text{ kJ.mol}^{-1}$

- les enthalpies de formation de : l'eau liquide : -285 kJ.mol^{-1} ;
dioxyde de carbone : -393 kJ.mol^{-1}

chaleur latente molaire de sublimation du graphite : $+718 \text{ kJ.mol}^{-1}$
Energie de liaison H - H : $+431 \text{ kJ.mol}^{-1}$

III - 1 - Indiquer les conditions expérimentales de la préparation d'un dérivé organomagnésien : le chlorure d'éthyle magnésium $CH_3 - CH_2MgCl$.

2 - On fait réagir cet organomagnésien sur les composés suivants :

a/ $CH_3 - \overset{O}{\parallel}C - CH = CH_2$; b/ $CH_3 - CH_2 - C \equiv C - H$

Ecrire la réaction suivie d'une hydrolyse s'il y a lieu.

3 - 3-1 - A partir de composés organiques et minéraux convenablement choisis, proposer une synthèse magnésienne de l'acide méthyl-2 propanoïque : $(CH_3)_2CH - CO_2H$

3-2 - Donner l'allure du spectre RMN de cet acide ; on représentera chaque pic par un trait de longueur proportionnelle à la surface du pic correspondant (2 cm pour 1 atome d'hydrogène).

Préciser la position relative de chaque pic et la multiplicité de chaque pic.

N.B :-Les trois questions de l'exercice III peuvent être traitées indépendamment.

BIOLOGIE

N.B : Les sujets de microbiologie et de physiologie sont à traiter sur des copies séparées, ramassées séparément.

I - MICROBIOLOGIE (Coef : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix :

PREMIER SUJET :

1 - LES ANTIBIOTIQUES (10 points) :

- 1-1 - Les antibiotiques agissent au niveau du métabolisme cellulaire sur des cibles très variées. Expliquer leur mode d'action.
- 1-2 - Quel procédé utilise-t-on couramment au laboratoire pour déterminer rapidement la sensibilité d'une souche bactérienne aux antibiotiques ?
Indiquer le principe de cette méthode.
Comment les résultats sont-ils exploités ?

2 - GENETIQUE (10 points) :

On dispose de deux souches Hfr et F- d'Escherichia coli qui possèdent les génotypes suivants :

Hfr : thr⁺, leu⁺, lac⁺, gal⁺, mal⁺, str^S

F- : thr⁻, leu⁻, lac⁻, gal⁻, mal⁻, str^R

- sachant que :
- . thr⁺, leu⁺ = prototrophie pour la thréonine et la leucine
 - . thr⁻, leu⁻ = auxotrophie pour la thréonine et la leucine
 - . lac⁺, gal⁺, mal⁺ = capacité d'utiliser le lactose, le galactose, le maltose
 - . lac⁻, gal⁻, mal⁻ = incapacité d'utiliser le lactose, le galactose, le maltose.
 - . str^S = sensibilité à la streptomycine
 - . str^R = résistance à la streptomycine.
 - . Toutes les souches utilisent le glucose.

On mélange dans des proportions convenables des cellules Hfr et F- dans trois échantillons : E1, E2, E3, de façon qu'il y ait conjugaison bactérienne.

La conjugaison est interrompue par brassage au mixeur à des temps différents :

- pour l'échantillon E1 à 7 min
- pour l'échantillon E2 à 10 min
- pour l'échantillon E3 à 19 min.

Chacun de ces trois échantillons est alors étalé sur deux milieux :

- milieu M1 : milieu minimum + streptomycine + glucose
- milieu M2 : milieu minimum + streptomycine + thréonine + leucine + lactose.

2-1 - Donner une définition des termes auxotrophie et prototrophie.

2-2 - Quel sera le génotype des bactéries sélectionnées par chacun des deux milieux M1 et M2 ?

2-3 - Quelle définition générale peut-on donner de la conjugaison ?

2-4 - Pour l'échantillon E1 : aucune colonie ne se développe sur les milieux M1 et M2.

Pour l'échantillon E2 : des colonies se développent sur M1, aucune sur le milieu M2.

Pour l'échantillon E3 : des colonies se développent sur les deux milieux M1 et M2.

Interpréter ces résultats et indiquer l'intérêt de cette technique.

DEUXIEME SUJET :

1 - Principe de l'auto-épuration d'une eau de rivière. (5 points).

2 - LA COLIMETRIE (15 points)

2-1 - En choisissant un exemple précis montrer l'intérêt de la colimétrie en bactériologie alimentaire.

2-2 - Indiquer les différentes méthodes utilisées en colimétrie et justifier chacune d'elles en précisant ses avantages et ses inconvénients.

Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix :

PREMIER SUJET : PHYSIOLOGIE DU COEUR

1 - PREMIERE PARTIE : ANATOMIE (5 points)

- 1-1 - Légénder la figure A représentant la configuration interne du coeur et le départ des gros vaisseaux. (Indiquer la signification de chaque chiffre).
- 1-2 - Placer sur un schéma simple du coeur les différentes parties du tissu nodal.

2 - DEUXIEME PARTIE : REVOLUTION CARDIAQUE (6 points)

Les graphiques de la figure B correspondent à l'enregistrement :

- des variations de pression dans le ventricule gauche, l'oreillette gauche et l'artère aorte obtenues par cathétérismes,
- des bruits du coeur (phonocardiogramme),
- de l'activité électrique du coeur (électro-cardiogramme).

A l'aide de ces résultats décrire les différentes phases de la révolution cardiaque.

3 - TROISIEME PARTIE : REGULATION DE L'ACTIVITE CARDIAQUE (9 points)

- 3-1 - Décrire sommairement un dispositif permettant d'enregistrer les variations de la pression artérielle.
- 3-2 - Les graphiques D, E, F et G montrent les modifications de la pression artérielle (exprimée en mm de mercure), provoquées par différentes opérations (excitation ou ligatures) pratiquées sur les nerfs mis en jeu dans la régulation de l'activité cardiaque. La figure C permet de localiser ces nerfs. Nous considérerons que ces modifications de la pression artérielle résultent de modifications de l'activité cardiaque.
- Comment le rythme cardiaque, peut-il modifier la pression artérielle ?
 - Citer d'autres facteurs capables de modifier la pression artérielle.
 - Déduire de l'étude des graphiques D, E, F et G les rôles des nerfs N_1 , N_2 et N_3 , leurs noms et les rapports fonctionnels existant entre N_1 et N_2 .

G_1 est l'excitation du bout périphérique d'un nerf N_1 sectionné

G_2 est l'excitation du bout central de ce même nerf

G_3 est identique à G_2 mais réalisée après section des nerfs N_2 .

- 3-3 - Les graphiques H et I indiquent les modifications de la pression artérielle provoquées par la ligature en deux points différents d'une carotide. Chaque ligature est réalisée indépendamment de l'autre. Les emplacements de ces ligatures sont indiqués sur la figure C.
- Interpréter ces résultats.

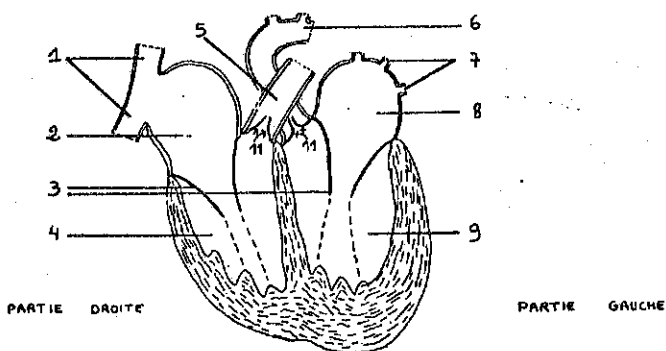
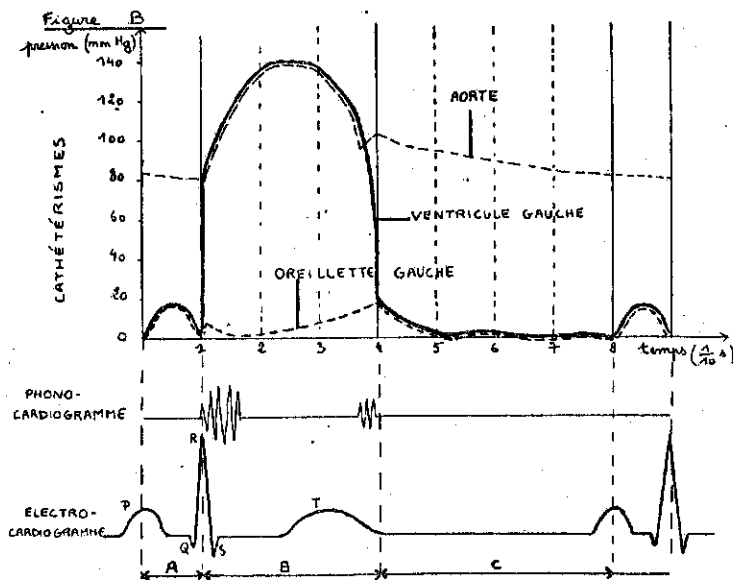


Figure A



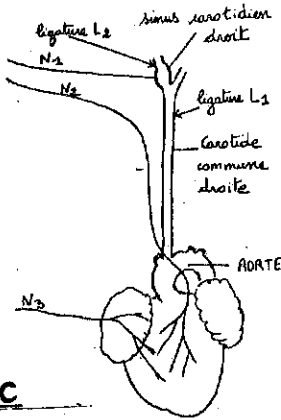


Figure C

situation des nerfs étudiés et des ligatures utilisées pour les enregistrements H et I.

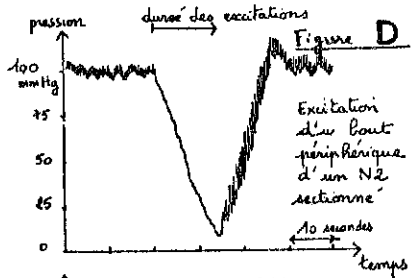


Figure D

Excitation du bout périphérique d'un N2 sectionné

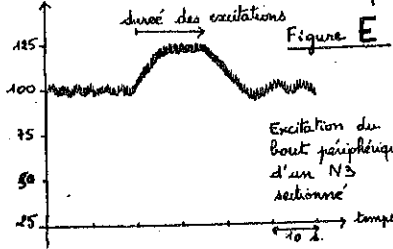


Figure E

Excitation du bout périphérique d'un N3 sectionné

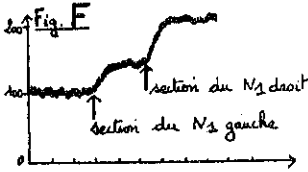


Fig. F

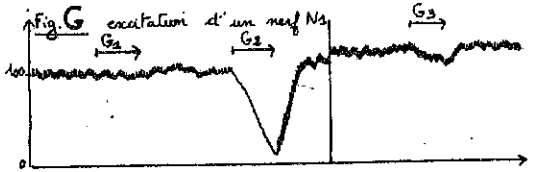


Fig. G

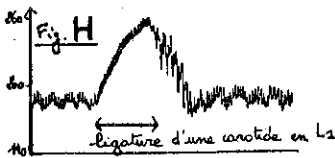


Fig. H

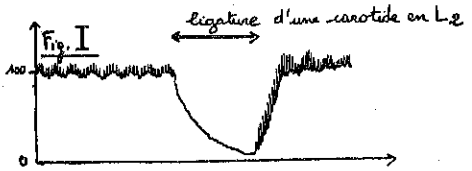


Fig. I

DEUXIEME SUJET : L'HOMÉOSTASIE DE L'ORGANISME

- 1 - Schématiser la structure d'un néphron de façon à situer ses différentes parties et sa vascularisation (3 points).
- 2 - Rôle épurateur du rein.
Etudier les propriétés du néphron et leurs conséquences dans la conservation des substances utiles et l'élimination des déchets. (7 points)
- 3 - Rôle régulateur (10 points)
 - Montrer la fonction prépondérante du rein dans la régulation du volume du liquide extracellulaire et de la pression osmotique.
 - Envisager la part des poumons et des reins dans la régulation du pH de l'organisme.

ANALYSES BIOCHIMIQUES

103

(+physique + montage)

A - REDACTION PRELIMINAIRE : (Durée : 0 h 30 - Coef. : 1)

Documents non autorisés.

1 - Dosage du fer par une méthode colorimétrique :

- principe,
- principaux temps du mode opératoire.

2 - Principes des méthodes de séparation des acides aminés d'un mélange par chromatographie.

- MANIPULATION : (Durée : 5 h 30 - Coef. : 5)

Documents personnels autorisés.

ETUDE D'UNE PROTEINE P

Les radicaux "R" des amino-acides naturels possèdent des groupements chimiques variés qui confèrent aux protéines certaines de leurs propriétés physico-chimiques et déterminent leurs structures secondaire, tertiaire et quaternaire.

Cette manipulation aura pour but :

- de doser les groupements ionisables acides,
- de doser les fonctions thiol non masquées d'une protéine native P après avoir déterminé sa masse molaire minimale.

Il s'agit d'une métalloprotéine P qui a subi divers procédés de fractionnement. Cinq fractions A, B, C, D et E ont été obtenues. On se propose d'étudier successivement ces 5 fractions.

1 - ETUDE DE LA FRACTION A -

Elle contient le fer (II) obtenu après minéralisation de la métalloprotéine P : 1,255 g de protéine initiale ont donné 100 cm³ de fraction A.

1.1. - Préparation de la solution fille de fer (II) à partir d'une solution mère étalon de fer (II) à 2 mmol.dm⁻³.

La solution devant être tamponnée à pH = 3,5, il est nécessaire de déterminer à l'aide d'un essai préliminaire le volume d'acétate de sodium à utiliser.

1.1.1. - Essai préliminaire :

Dans un bécher en plastique, verser :

- 60 cm³ d'eau distillée,
- E = 5 cm³ de solution mère de fer (II).

Verser, à la burette, une solution d'acétate de sodium à 20 g.dm⁻³, de manière à amener le pH à 3,5 (utiliser le pH-mètre).

Soit V cm³ le volume d'acétate de sodium nécessaire.

1.1.2. - Solution fille étalon :

Elle est préparée par dilution au 1/20 de la solution mère ; dans une fiole jaugée de 100 cm³, verser :

- E = 5 cm³ de solution mère de fer (II),
- V cm³ d'acétate de sodium à 20 g.dm⁻³.

Compléter à 100 cm³ avec de l'eau distillée bouillie froide.

1.2. - Etalonnage.

A l'aide de la solution fille préparer la gamme suivante :

Tubes n°	0	1	2	3	4	5
Volumes en cm ³						
Solution fille de fer (II)	0	2	4	6	8	10
Eau distillée	17	15	13	11	9	7
Solution tamponnée d'hydroquinone	1	1	1	1	1	1
Réactif à l'o-phénanthroline	2	2	2	2	2	2

Agiter. Laisser reposer une heure à la température du laboratoire. Lire les absorbances à 490 nm.

1.3. - Dosage de la fraction A.

Diluer cette fraction au 1/10 en ajustant le pH à 3,5.

Dans un tube à essais, introduire :

- solution diluée de la fraction A 5 cm³
- eau distillée 12 cm³
- solution tamponnée d'hydroquinone 1 cm³
- réactif à l'ortho-phénanthroline 2 cm³

Agiter. Laisser reposer une heure à la température du laboratoire. Lire l'absorbance à 490 nm.

2 - ETUDE DE LA FRACTION B -

Elle est constituée par la protéine P (5,0 g pour 100 cm³ fraction). La molécule P présente à la périphérie des groupements ionisables libres, caractéristiques.

On se propose de les doser par conductimétrie (dosage en retour)

2.1. - Détermination du nombre de groupements acides.

Dans un bécher de grande capacité, introduire :

- E₁ = 2 cm³ de fraction B,
- E₂ = 0,50 cm³ de solution d'hydroxyde de sodium de concentration molaire (volumique) voisine de 1 mol.dm⁻³,
- de l'eau distillée.

Plonger la cellule conductimétrique et mettre en place l'agitation magnétique.

Mesurer la conductance initiale.

Verser, à la semi micro-burette, une solution d'acide chlorhydrique, de concentration molaire (volumique) voisine de 0,1 mol.dm⁻³ (valeur exacte sur le flacon).

Mesurer les variations de la conductance en fonction des volumes d'acide chlorhydrique.

2.2. - Effectuer un témoin, sans fraction B, dans les mêmes conditions.

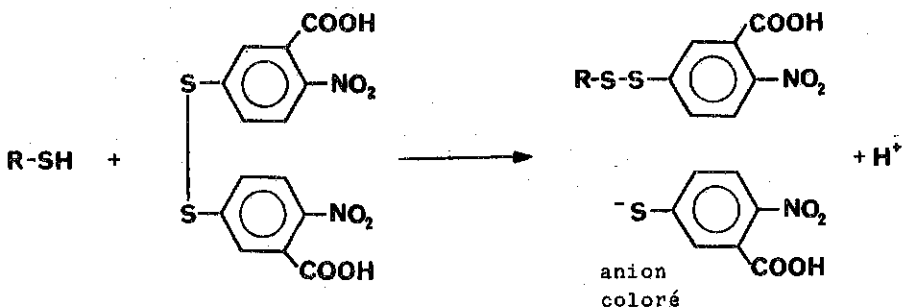
3 - ETUDE DE LA FRACTION C -

Elle est constituée par la protéine P en solution tamponnée à pH = 7,5 (2,09 g de protéine P pour 100 cm³ de fraction C).

On se propose de déterminer le nombre de fonctions thiol non masquées présentes dans la molécule P.

3.1. - Principe.

Le réactif d'Ellman ou acide 5,5'-dithio-bis-(2 nitro-benzoïque) ou D.T.N.B. est un disulfure aromatique. Le D.T.N.B. réagit sur le groupement fonctionnel des thiols aliphatiques. Cela permet une réaction d'échange et conduit à la formation d'un anion coloré qui absorbe la lumière avec un maximum à 412 nm. La réaction est stoechiométrique.

3.2. - Manipulation.3.2.1. - DOSAGE.

Diluer la fraction C au 1/50.

Dans un tube à essais, introduire :

- solution diluée au 1/50 de la

fraction C E = 1 cm³

- D.T.N.B. à 0,01 mol.dm⁻³ 0,5 cm³

Compléter à 5 cm³ à l'aide d'une solution tampon de phosphate (0,1 mol.dm⁻³) de pH = 7,5.

Mélanger. Lire l'absorbance à 412 nm après 3 min.

3.2.2. - ETALONNAGE.

L'étalonnage du spectrophotomètre se fait à l'aide d'une solution de cystéine tamponnée à pH = 7,5. Cette solution contient 5 mmol.dm⁻³ de cystéine. Effectuer une dilution convenable puis préparer une gamme d'étalonnage comportant quatre

solutions dont les concentrations soient telles que l'on ait de 0,05 à 0,2 micromole de cystéine par tube.

4 - ETUDE DES FRACTIONS D ET E -

Les fractions D et E sont des solutions des acides aminés N-terminal (fraction D) et C-terminal (fraction E) de la protéine P. On se propose d'identifier ces acides aminés par CCM sur gel de silice en utilisant comme solvant mobile le mélange : n butanol, éthanofique, eau (3 V, 1 V, 1 V).

MANIPULATION :

Utiliser une petite plaque prête à l'emploi et réactivée par un séjour à l'étuve à 100°C. A l'aide de micropipettes (ou tubes capillaires), déposer sur la plaque une goutte de chacune des solutions témoins d'acides aminés (noms inscrits sur les tubes), ainsi qu'une goutte de la fraction D et une goutte de la fraction E. Sécher. Surcharger une ou deux fois. Sécher.

Placer la plaque dans un béccher contenant le solvant.

Recouvrir d'un couvercle. Laisser migrer.

Après séchage, révéler par pulvérisation de ninhydrine et séjour de 10 minutes dans l'étuve à 100°C.

5 - COMPTE RENDU -

5.1. - Déterminer la concentration molaire (volumique) de la fraction A en fer (II). En déduire le pourcentage de fer contenu dans la protéine P et la masse molaire minimale de cette protéine.

5.2. - Déterminer le nombre de groupements acides libres contenus dans la fraction B. En déduire le nombre de groupements acides libres contenus par mole de protéine P.

5.3. - Déterminer le nombre de fonctions thiol contenues dans la fraction C. En déduire le nombre de fonctions thiol par mole de protéine P.

Indiquer le nom des acides aminés N et C terminaux de P.

5.4. - Le nombre des fonctions thiol aurait-il été le même si on avait effectué le dosage sur la protéine dénaturée ? Justifier la réponse.

DONNEE : Fe = 55,85 g.mol⁻¹

ANALYSES CHIMIQUES

(+physique + montage)

A - INTERROGATION PRELIMINAIRE : (Durée : 30 min - Coef. : 1)

Documents non autorisés.

Dosage d'une solution S contenant NH_3 , NH_4Cl , NaCl , KCl .

- 1 - Dosage des ions Cl^- de S par mercurimétrie (6 points)
Exposer le principe de cette méthode ; préciser un indicateur de fin de réaction et les conditions à respecter pour le pH du milieu réactionnel.
- 2 - Dosage du mélange S par photométrie de flamme. (14 points)
 - 2.1. - Exposer le principe d'un dosage par photométrie de flamme dans le cas général puis sur l'exemple du mélange S.
 - 2.2. - Préciser en outre les points suivants dans le cas général :
 - nature des éléments intéressés par cette méthode pour les photomètres de flamme courants,
 - importance de la concentration de l'élément à doser,
 - interférences possibles avec d'autres substances du milieu réactionnel,
 - ordre de grandeur de la précision attendue pour de tels dosages.

DONNEES : longueur d'onde de la raie émise pour :

- Na 589,3 nm
- K 766,5 nm

B - MANIPULATION : (Durée : 4 h 30 - Coef. : 4)

Documents personnels autorisés.

Dosage d'une solution S contenant NH_3 , NH_4Cl , NaCl , KCl .

- 1 - Dosage de S par distillation de NH_3 après alcalinisation (méthode de Schloessing).
 - 1.1. - Etalonnage d'une solution de H_2SO_4 à environ 0,05 mole de H_2SO_4 par dm^3 par pesée de tétraborate de sodium décahydraté (borax).
Utiliser un indicateur coloré convenable.
Deux pesées sont exigées.

1.2. - Montage.

Effectuer le montage correspondant à la distillation de l'ammoniac. Ce montage comprend :

- un ballon à distiller,
- un piège à vapeurs lourdes,
- un réfrigérant,
- une allonge droite à boule dont l'extrémité plonge dans un béccher (A).

1.3. - Alcalinisation, distillation et dosage (lunettes de protection obligatoires).

* Introduire dans le ballon à distiller 10 cm^3 de mélange S à doser, 100 cm^3 d'eau distillée, trois billes de verre.

Introduire dans le béccher (A) environ 40 cm^3 de solution d'acide borique à 5 g/dm^3 et quelques gouttes de rouge de méthyle.

* Au dernier moment, ajouter 10 cm^3 d'une solution d'hydroxyde de sodium concentrée dans le ballon.

* Distiller l'ammoniac dans (A) par chauffage modéré. Doser simultanément par la solution de H_2SO_4 étalonné en 1.1.

2 - Dosage des ions Cl^- de S par mercurimétrie (méthode de Votocek)

2.1. - Etalonnage du nitrate mercurique.

On dispose d'une solution étalon E de NaCl à $1,30 \text{ g/dm}^3$.

Prise d'essai de E : 5 cm^3 .

Ajouter 10 cm^3 d'eau distillée.

Ajuster le pH vers 2 par addition goutte à goutte de HNO_3 à environ 1 mol/dm^3 .

Ajouter 4 gouttes de diphénylcarbazon.

Doser par la solution mercurique ($v_E \text{ cm}^3$).

2.2. - Dosage de S.

La solution S est à environ $0,09 \text{ mol/dm}^3$ d'ions Cl^- .

Effectuer une dilution correcte à partir de S pour obtenir 100 cm^3 d'une solution S' de concentration molaire volumique en ions Cl^- voisine de celle de E.

Opérer pour S' comme en 2.1. ($v_{S'} \text{ cm}^3$).

3 - Dosage des ions Na^+ et K^+ par photométrie de flamme.

3.1. - Réalisation des solutions étalons :

On dispose des deux solutions mères suivantes :

- solution B à 20 mg/dm^3 d'ions K^+

- solution C à 100 mg/dm^3 d'ions Na^+

On préparera dans des fioles jaugées de 100 cm^3 huit solutions étalons de concentration massique ρ variable en Na^+ et K^+ selon le tableau qui suit :

numéro fiole	$\rho_{\text{K}^+} (\text{mg/dm}^3)$	$\rho_{\text{Na}^+} (\text{mg/dm}^3)$	$v_{\text{B}} (\text{cm}^3)$	$v_{\text{C}} (\text{cm}^3)$	Indication appareil
1	1	env. 12			
2	2	env. 12			
3	3	env. 12			
4	4	env. 12			
5	env. 2,5	5			
6	env. 2,5	10			
7	env. 2,5	15			
8	env. 2,5	20			

3.2. - Dilution de la solution S à doser :

Diluer S au $1/20$ de façon à obtenir une solution X à environ 12 mg/dm^3 en Na^+ et environ $2,5 \text{ mg/dm}^3$ en K^+ .

3.3. - Utilisation du photomètre.

Réaliser les différents réglages.

Effectuer les mesures pour les mélanges étalons et pour X.

Deux dilutions X_1 et X_2 sont exigées.

4 - Résultats et compte rendu.

L'ensemble des résultats expérimentaux sera rassemblé dans un tableau sur feuille séparée.

- 4.1. - 4.1.1. - Expression littérale de $C_{H_2SO_4}$ en mol/dm³ à partir de la pesée de borax effectuée. Résultat.
- 4.1.2. - Quels renseignements sur la composition de S peut-on tirer du dosage après distillation de NH₃ ?
- 4.1.3. - Rôle de l'acide borique contenu dans le béccher (A)
- 4.2. - 4.2.1. - Expliquer la dilution effectuée sur S pour obtenir S'.
- 4.2.2. - Expression littérale de $C_{Cl^-(S)}$ en mol/dm³ en fonction de v_E et $v_{S'}$.
- 4.2.3. - Résultat pour $C_{Cl^-(S)}$.
- 4.3. - 4.3.1. - Reproduire et compléter le tableau proposé en 3.1. et expliquer le choix des solutions étalons de ce tableau.
- 4.3.2. - Tracer les courbes d'étalonnage.
En déduire la concentration massique (en mg/dm³) de la solution X en Na⁺ et K⁺.
- 4.3.3. - A partir des résultats précédents, exprimer correctement le résultat de $\rho_{NaCl}(S)$ et de $\rho_{KCl}(S)$ (en g/dm³) en considérant pour cette méthode de dosage une précision de 2 %.
- 4.4. - Déduire de tout ce qui précède C_{NH_3} et C_{NH_4Cl} (en mol/dm³), puis ρ_{NH_4Cl} (en g/dm³).

DONNEES :

$Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$: 381,4
NaCl	: 58,44
KCl	: 74,56
NH ₄ Cl	: 53,49
Na	: 22,99
K	: 39,10

MICROBIOLOGIE

PREMIER JOUR - Durée : 3 h

PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (60 points)

Analyse de laits crus.

- 1 - Recherche d'antibiotique dans le lait : méthode des disques (micro-organisme-test : *Sarcina lutea*)
 - Echantillon n° 1
 - Echantillon n° 2
- 2 - Contrôle bactériologique :
 - Echantillon n° 3
 - 2.1. - Examen microscopique direct après coloration de Gram.
 - 2.2. - Isolement sur milieux sélectifs, fournis après orientation du diagnostic.

DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (40 points)

Identification d'une souche isolée d'une viande hachée.
La souche est présentée sur gélose nutritive.

DEUXIEME JOUR - Durée : 2 h

PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (60 points)

Analyse de laits crus.

- 1 - Recherche d'antibiotique :
 - Lecture et interprétation : Echantillons n° 1 et n° 2.
- 2 - Contrôle bactériologique : échantillon n° 3
 - Lecture des isoléments et orientation du diagnostic.
 - Conclusion.

DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (40 points)

- Identification d'une souche isolée d'une viande hachée.
- Lecture des résultats de la galerie d'identification et tests complémentaires.
 - Interprétation des résultats.

EPREUVES DE LA SESSION 1982

FRANCAIS

Contrairement à ce qu'on croit souvent, l'important dans la science, c'est autant l'esprit que le produit. C'est autant l'ouverture, la primauté de la critique, la soumission à l'imprévu, si contrariant soit-il, que le résultat, si nouveau soit-il. Il y a belle lurette que les scientifiques ont renoncé à l'idée d'une vérité ultime et intangible, image exacte d'une "réalité" qui attendrait au coin de la rue d'être dévoilée. Ils savent maintenant devoir se contenter du partiel et du provisoire. Une telle démarche procède souvent à l'encontre de la pente naturelle à l'esprit humain qui réclame unité et cohérence dans sa représentation du monde sous ses aspects les plus divers. De fait, ce conflit entre l'universel et le local, entre l'éternel et le provisoire, on le voit périodiquement réapparaître dans une série de polémiques opposant ceux qui refusent une vision totale et imposée du monde à ceux qui ne peuvent s'en passer. Que la vie et l'homme soient devenus objets de recherche et non plus de révélation, peu l'acceptent.

Depuis quelques années, on fait beaucoup de reproches aux scientifiques. On les accuse d'être sans cœur et sans conscience, de ne pas s'intéresser au reste de l'humanité; et même d'être des individus dangereux qui n'hésitent pas à découvrir des moyens de destruction et de coercition terribles et à s'en servir. C'est leur faire beaucoup d'honneur. La proportion d'imbéciles et de malfaisants est une constante qu'on retrouve dans tous les échantillons d'une population, chez les scientifiques comme chez les agents d'assurances, chez les écrivains comme chez les paysans, chez les prêtres comme chez les hommes politiques. Et malgré le Dr. Frankenstein et le Dr. Folamour, les catastrophes de l'histoire sont le fait moins des scientifiques que des prêtres et des hommes politiques.

.../...

Car ce n'est pas seulement l'intérêt qui fait s'entre-tuer les hommes. C'est aussi le dogmatisme. Rien n'est aussi dangereux que la certitude d'avoir raison. Rien ne cause autant de destruction que l'obsession d'une vérité considérée comme absolue. Tous les crimes de l'histoire sont des conséquences de quelque fanatisme. Tous les massacres ont été accomplis par vertu, au nom de la religion vraie, du nationalisme légitime, de la politique idoine, de l'idéologie juste; bref au nom du combat contre la vérité de l'autre, du combat contre Satan. Cette froideur et cette objectivité qu'on reproche si souvent aux scientifiques, peut-être conviennent-elles mieux que la fièvre et la subjectivité pour traiter certaines affaires humaines. Car ce ne sont pas les idées de la science qui engendrent les passions. Ce sont les passions qui utilisent la science pour soutenir leur cause. La science ne conduit pas au racisme et à la haine. C'est la haine qui en appelle à la science pour justifier son racisme. On peut reprocher à certains scientifiques la fougue qu'ils apportent parfois à défendre leurs idées. Mais aucun génocide n'a encore été perpétré pour faire triompher une théorie scientifique. A la fin de ce XX^e siècle, il devrait être clair pour chacun qu'aucun système n'expliquera le monde dans tous ses aspects et tous ses détails. Avoir contribué à casser l'idée d'une vérité intangible et éternelle n'est peut-être pas l'un des moindres titres de gloire de la démarche scientifique.

François JACOB, Le Jeu des possibles,
éd. Fayard, 1981, pages 11 - 13.

QUESTIONS

- 1 - Résumez le texte en une dizaine de lignes. (7 points)
- 2 - Expliquez les mots et expressions soulignés : "vérité ultime et intangible", "coercition", "génocide". (3 points)
- 3 - Commentez de manière personnelle, cette affirmation de François JACOB : "Rien n'est aussi dangereux que la certitude d'avoir raison. Rien ne cause autant de destruction que l'obsession d'une vérité considérée comme absolue."
(Développement composé, d'une quarantaine de lignes). (10 points)

BIOCHIMIE

A - HYDROGENATIONS ET DESHYDROGENATIONS (35 points)

Exemple de déshydrogénation en aérobiose : la décarboxylation oxydative des acides α cétoniques.

1.1 - Définir la notion "complexe multienzymatique".

1.2 - Ecrire le bilan de la réaction de décarboxylation oxydative d'un acide α cétonique. Décrire les différentes étapes en insistant sur le rôle des coenzymes.

1.3 - Par deux exemples, montrer l'importance de cette réaction dans le métabolisme intermédiaire. Décrire sous forme de schéma la destinée des produits formés en précisant les noms des substrats, des produits, et des coenzymes impliqués (les formules chimiques ne sont pas demandées). On s'attachera à illustrer la notion de "carrefour métabolique".

Exemple d'hydrogénation en anaérobiose : hydrogénation de l'éthanal en éthanol par l'alcooldéshydrogénase.

Des levures et quelques bactéries ont dans leur équipement enzymatique l'alcooldéshydrogénase. Ces micro-organismes peuvent être utilisés pour la production industrielle d'éthanol.

2.1 - A l'aide de deux exemples montrer l'importance et les avantages des synthèses biologiques dans l'industrie.

2.2 - La figure 1 représente les principales étapes lors de l'utilisation d'un micro-organisme pour la synthèse industrielle d'un métabolite.

— Préciser les méthodes qui peuvent être utilisées dans l'étape (4).

— Pour la synthèse biologique de l'éthanol, l'étape (1) peut être la conversion d'amidon en glucose. Après avoir rappelé la structure de l'amidon, développer les réactions d'hydrolyse de cette molécule (lieu d'attaque, produits formés).

— Lors de cette synthèse, on suit en parallèle la croissance des levures et la concentration en éthanol.

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Temps en heures	0	1 h 30	3 h	4 h 30	6 h	7 h 30	9 h	10 h 30	12 h
Poids sec de levures (g/dm ³ de milieu)	1,1	1,4	1,8	2,7	4,3	5,9	6,3	6,3	6,2
ALCOOL (g/dm ³ de milieu)	0	0,2	0,6	1,6	3,2	5	5,8	5,7	5,4

Tracer sur un même graphique les courbes illustrant ce tableau et les commenter.

- 2.3 - Des expériences récentes ont permis de mettre au point une méthode de production industrielle en continu d'éthanol en utilisant des levures vivantes (*Saccharomyces carlbergensis*) immobilisées dans un gel. Quels peuvent être les avantages de choisir un tel procédé plutôt qu'un procédé discontinu ?

B - CINÉTIQUE ET BIOSYNTHESE D'UNE ENZYME : LA β -GALACTOSIDASE (30 points)

- 1 - Le lactose et l'orthonitrophényl- β -D-galactoside sont deux substrats de cette enzyme.

Ecrire les équations des réactions d'hydrolyse pour chacun de ces composés.

- 2 - Détermination des constantes cinétiques de la β -galactosidase d'*Escherichia coli*.

A cet effet, on mesure les vitesses initiales d'hydrolyse de l'orthonitrophényl- β -D-galactoside (ONPG), à 25°C, dans 4 mélanges réactionnels, en suivant la variation initiale d'absorbance par minute ($\Delta A/\Delta t$) à 373 nm. A cette longueur d'onde, les coefficients d'extinction molaire sont :

$$\epsilon_{\text{ONPG}} = 350 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{\text{ONP}} = 2400 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

La composition des mélanges et les résultats sont indiqués dans le tableau :

mélanges n°s	I	II	III	IV
solution d'ONPG à $1,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$ dans un tampon pH = 7,6:	2,5 cm ³	1 cm ³	0,5 cm ³	0,3 cm ³
tampon pH = 7,6	0,4 cm ³	1,9 cm ³	2,4 cm ³	2,6 cm ³
solution d'enzyme à $0,25 \text{ mg.cm}^{-3}$ dans le tampon pH = 7,6	0,1 cm ³	0,1 cm ³	0,1 cm ³	0,1 cm ³
variation d'absorbance par minute $\frac{\Delta A}{\Delta t}$	0,312	0,200	0,129	0,086

- Donnée :

Trajet optique = 1 cm

2.1 - Démontrer que, dans les calculs des vitesses à partir de $\Delta A/\Delta t$, il convient de tenir compte de la différence des 2 coefficients ϵ donnés.

2.2 - Déterminer par la méthode de Lineweaver et Burk (coordonnées inverses) la constante de Michaëlis de l'enzyme.

2.3 - Dédurre de la représentation précédente l'activité catalytique spécifique de la préparation enzymatique (en $\mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$).

2.4 - Cette préparation est constituée par l'enzyme pure (masse molaire = 540 000). Calculer l'activité catalytique molaire (en moles par seconde et par mole d'enzyme : kat.mol^{-1}).

3 - Chez *E. coli*, la β -galactosidase est une enzyme inductible.

Décrire le mécanisme de l'induction enzymatique.

4 - Etude de l'effet de l'isopropyl- β -D-thiogalactoside (IPTG) sur la synthèse de la β -galactosidase.

On veut comparer cet effet à celui de l'actinomycine D (antibiotique qui bloque la transcription de l'ADN). On réalise donc l'expérience suivante :

Une suspension d'une souche inductible d'*E.coli* est réalisée dans un milieu contenant de l'IPTG ($5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$). Cette suspension initiale est divisée en 3 fractions qui subissent, chacune, un traitement particulier après 5 minutes d'incubation à 28°C :

1re fraction : culture 1

Pas de traitement ; l'incubation continue.

2e fraction : culture 2

Addition d'actinomycine D ; l'incubation continue.

3e fraction : culture 3

Elimination de l'IPTG ; l'incubation continue.

Pendant toute l'incubation, des échantillons sont prélevés et leur activité β -galactosidase est mesurée avec l'ONPG comme substrat, après éclatement des cellules (on considérera que l'IPTG n'interfère pas dans ces déterminations d'activité). Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

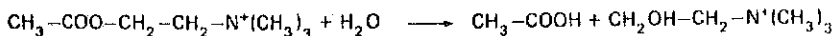
Temps après l'addition de l'IPTG (min)	Activité enzymatique en nmol d'ONPG.min ⁻¹ par mg de masse sèche cellulaire		
	culture 1	culture 2	culture 3
0	0,5	0,5	0,5
4	0,5	0,5	0,5
5	0,75	0,75	0,75
6	1,5	1,4	1,45
7	2,5	1,8	1,9
9	4,7	2,3	2,45
11	6,8	2,55	2,70
15	10,9	2,80	3,00
17	12,9	2,80	3,00

Tracer la courbe représentative de l'activité en fonction du temps dans les 3 cas (utiliser une seule feuille de papier millimétré).

Expliquer et comparer les modes d'action de l'actinomycine et de l'IPTG.

C. PURIFICATION D'UNE ENZYME : L'ACÉTYLCHOLINESTÉRASE (15 points)

L'acétylcholinestérase est une enzyme catalysant l'hydrolyse :



La détermination de son activité catalytique peut se faire de la façon suivante : un volume de solution d'enzyme contenant x mg de protéine est ajouté à une solution d'acétylcholine (en excès). On amène le pH initial à 7 et la température à 30°C.

Le pH a tendance à diminuer à cause de l'acide libéré ; on détermine donc le volume $V \text{ cm}^3$ de solution d'hydroxyde de sodium exactement $0,01 \text{ mol.dm}^{-3}$ nécessaire, par minute, pour maintenir le pH à sa valeur initiale (technique du "pH-stat").

On compare deux techniques de purification de cette enzyme à partir d'un broyat de tissu animal :

1^{re} technique : utilisation de procédés classiques

2^e technique : utilisation de la chromatographie d'affinité.

Compléter numériquement le tableau "purification" ci-joint en faisant figurer pour chaque fraction :

- l'activité catalytique spécifique en U.mg^{-1}
- l'activité catalytique totale de la fraction
- le rendement (= pourcentage de récupération de l'activité par rapport à la 1^{re} étape)
- l'enrichissement (= coefficient de purification par rapport à la 1^{re} étape).

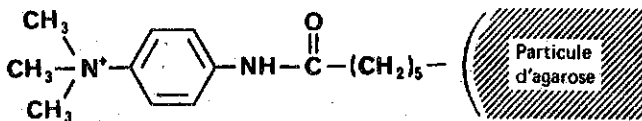
On expliquera le principe des calculs.

N.B. : 1 Unité U correspond à la quantité d'enzyme qui, dans les conditions du dosage, convertit $1 \mu\text{mole}$ d'acétylcholine par minute.

Comparer les résultats obtenus dans les deux techniques.

Donner le principe de la chromatographie sur DEAE-cellulose utilisée dans la 1^{re} technique.

La chromatographie d'affinité employée dans la 2^e technique est une chromatographie sur colonne. La colonne est constituée par des particules d'agarose où sont fixées, de façon covalente, des molécules d'un inhibiteur compétitif de l'acétylcholinestérase :



L'enzyme à isoler se lie par l'intermédiaire de son site actif et on doit l'éluer ensuite par une solution contenant la molécule de ligand libre (inhibiteur compétitif).

Justifier les résultats obtenus avec la 2^e technique de purification.

FIGURE 1

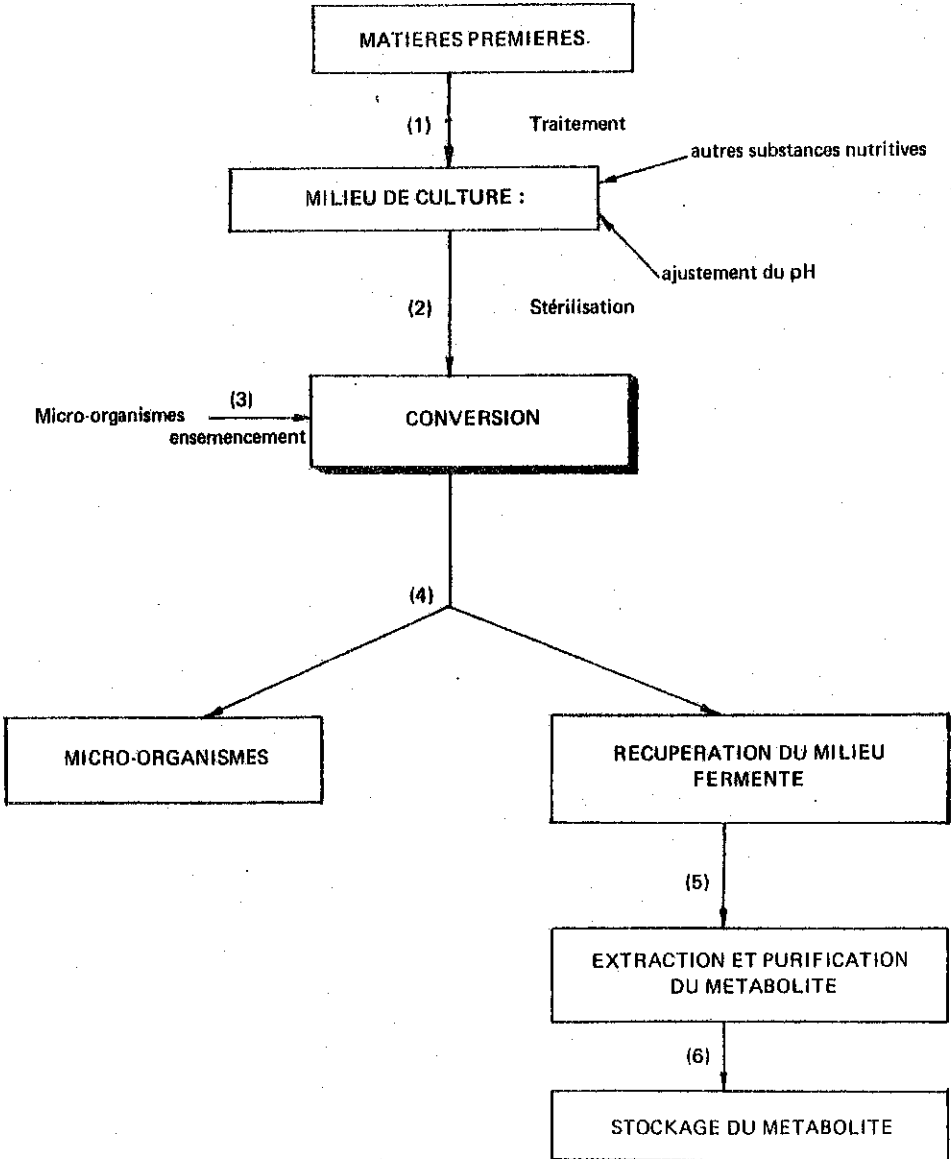


TABLEAU "PURIFICATION"

à compléter et à remettre avec la copie
1re technique : utilisation de procédés classiques

Fraction	Masse totale de protéines contenues dans la fraction : mg	Masse x utilisée pour l'essai : mg	Volume V mesuré lors de l'essai : cm ³ NaOH (0,01 mol.dm ⁻³) par min	Activité catalytique spécifique : U.mg ⁻¹	Activité catalytique totale : U	RENDEMENT	ENRICHISSEMENT
I ₁ : tissu frais homogénéisé. On précipite par (NH ₄) ₂ SO ₄ . Redissolution du culot.	120	0,1	5,20				
II ₁ : fraction I ₁ soumise à une chromatographie sur DEAE-cellulose	14	0,01	2,30				
III ₁ : concentration et dialyse	13	0,01	2,40				
IV ₁ : Gel-filtration sur Sephadex G200	6,6	0,01	4,20				
V ₁ : fraction IV ₁ passée sur DEAE-cellulose	1,3	0,01	7,90				

2e technique : utilisation de la chromatographie d'affinité

Fraction	Masse totale de protéines de la fraction : mg	Masse x : mg	Volume V : cm ³ .min ⁻¹	Activité spécifique : U.mg ⁻¹	Activité totale : U	RENDEMENT	ENRICHISSEMENT
I ₂ : tissu frais homogénéisé. On précipite par (NH ₄) ₂ SO ₄ . Redissolution du culot.	140	0,1	4,7				
II ₂ : fraction I ₂ soumise à une chromatographie d'affinité	4,7	0,01	9,75				

PHYSIQUE ET CHIMIE

PHYSIQUE

1 - QUESTION DE COURS (18 points)

Le candidat doit traiter l'une des deux questions de cours suivantes.

Première question : Viscosité d'un liquide :

- définition du coefficient de viscosité dynamique - unité -
- facteurs de variation
- méthodes de mesure.

OU

Deuxième question : Equilibres entre les différents états physiques d'un corps pur :

1 - Définir et donner l'allure des courbes de :

- solidification
- vaporisation
- sublimation.

2 - Tracer le diagramme du corps pur - indiquer la signification physique des différentes régions du plan.

3 - Qu'appelle-t-on point triple ? Quelle est la variance du système au point triple ? Quelle est sa signification physique ?

2 - PROBLEME OBLIGATOIRE (24 points)

Un spectrogoniomètre (figure 1) comprend :

- une plateforme circulaire horizontale graduée de 0 à 360°
- un collimateur C d'axe horizontal, à fente verticale F de largeur réglable a, comportant une lentille convergente L₁ de distance focale f₁ = 20 cm

— une lunette d'axe horizontal comportant :

- un objectif L_2 de distance focale $f_2 = 30$ cm
- un réticule R
- un oculaire L_3 de distance focale f_3
- une alidade, munie d'un vernier, solidaire de la lunette, permet de repérer sa position à la minute près, sur la graduation de la plateforme.

— un prisme, en flint, d'angle A , dont l'arête est verticale et dont l'indice est fonction de la longueur d'onde (voir tableau ci-dessous).

raie	λ en nm	n
D	656,3	1,6236
	589,3	1,6287
	486,1	1,6414

Dans tout le problème on supposera que le collimateur et la lunette sont réglés sur l'infini.

1.1 - Quel est le rôle du collimateur à fente ? Préciser les positions respectives de la fente et de la lentille L_1 pour que le collimateur soit correctement réglé.

1.2 - Quelle est la signification du terme "lunette réglée sur l'infini" ? Préciser dans ce cas les positions respectives de l'objectif, du réticule et de l'oculaire.

1.3 - Comment est constitué un vernier au 1/30 permettant de lire les positions de la lunette à la minute près ?

1.4 - Calculer le pouvoir dispersif du prisme $\left| \frac{dn}{d\lambda} \right|$ au voisinage de la raie D.

2 - Mesure de l'angle A du prisme :

L'arête verticale du prisme étant au voisinage du centre de la plateforme, on fait tomber sur l'arête du prisme un faisceau horizontal de lumière blanche parallèle (figure 2).

Montrer qu'en repérant les directions α_1 et α_2 des faisceaux réfléchis sur les faces AB et AC, on peut en déduire l'angle du prisme.

On trouve $A = 60^\circ 12'$.

3 - La fente est supposée infiniment fine :

3.1 - La source de lumière S est monochromatique de longueur d'onde $\lambda = 589,3$ nm. La lumière sortant du collimateur rencontre la face AB du prisme sous l'incidence i et émerge par la face AC ; on observe à l'aide de la lunette l'image de la fente.

3.1.1 - Entre quelles limites doit être compris l'angle d'incidence i pour qu'on puisse observer cette image ?

3.1.2 - Quelles sont les déviations que subit le faisceau à travers le prisme pour ces deux valeurs de l'angle d'incidence ?

3.1.3 - Pour quelle valeur i_m de l'angle d'incidence, la déviation est-elle minimale ? Quelle est la valeur de la déviation minimale ?

3.2 - La lumière incidente comporte en réalité les deux radiations du doublet du sodium de longueur d'onde $\lambda_1 = 589,0$ nm et $\lambda_2 = 589,6$ nm. Le prisme est réglé au minimum de déviation pour $\lambda = 589,3$ nm.

3.2.1 - Montrer qu'au voisinage du minimum de déviation l'angle de dispersion D de deux radiations voisines de longueurs d'onde λ et $\lambda + \Delta\lambda$ est :

$$\Delta D = 2 \frac{\tan i_m}{n} \cdot \left| \frac{dn}{d\lambda} \right| \cdot \Delta\lambda$$

(tan désigne la fonction tangente).

3.2.2 - Calculer la distance des deux images de la fente que donne l'objectif L_2 de la lunette.

3.2.3 - Quelle doit être la puissance intrinsèque de l'oculaire pour que la distance angulaire des deux images observées dans la lunette soit de 10^{-3} radians ? En déduire la distance focale de l'oculaire.

4 - La fente a une certaine largeur $a = 0,1$ mm ; le prisme est toujours réglé au minimum de déviation pour la radiation de longueur d'onde $\lambda = 589,3$ nm.

4.1 - Calculer en fonction de a , f_1 et f_2 , la largeur a' de l'image de la fente éclairée en lumière monochromatique que donne l'objectif L_2 de la lunette.

4.2 - Montrer que le pouvoir de résolution du spectroscopie est

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} = \lambda \cdot \frac{f_1}{a} \cdot \frac{2 \tan i_m}{n} \cdot \left| \frac{dn}{d\lambda} \right|$$

4.3 - Les deux raies du doublet du sodium de longueur d'onde λ_1 et λ_2 sont-elles séparées ?

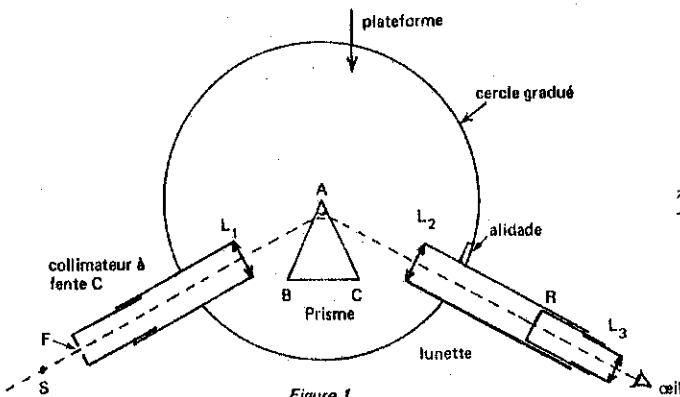


Figure 1

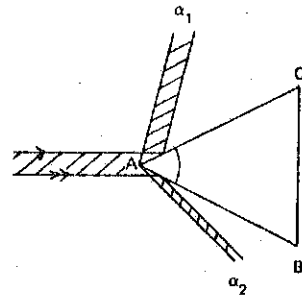


Figure 2

CHIMIE

1 - Complexes (16 points)

A une solution ferrique à $0,002 \text{ mol.dm}^{-3}$ on ajoute volume à volume une solution de thiocyanate SCN^- à $0,2 \text{ mol.dm}^{-3}$. On obtient une solution S dont la coloration rouge due au complexe $[\text{FeSCN}]^{2+}$ n'est visible qu'à partir d'une concentration molaire de ce complexe égale à $3,2 \cdot 10^{-8} \text{ mol.dm}^{-3}$.

1.1 - Etude de la solution S

1.1.1 - Qu'est-ce qu'un complexe ?

1.1.2 - Quelles sont les concentrations molaires des différentes espèces chimiques en solution dans S à l'équilibre ?

1.2 - Influence d'un autre réactif complexant

On ajoute, sans variation de volume, une mole de fluorure de potassium (KF) par litre de solution S.

1.2.1 - Expliquer qualitativement la disparition de la coloration rouge.

1.2.2 - Confirmer par le calcul de la nouvelle concentration molaire en $[\text{FeSCN}]^{2+}$. On justifiera les approximations effectuées.

1.2.3 - Démontrer et calculer le pH de la solution obtenue.

1.3 - influence du pH

Par addition d'un acide fort à la solution obtenue au 1.2, on provoque la réapparition de la coloration rouge.

1.3.1 - Expliquer le phénomène qualitativement.

1.3.2 - Au-dessous de quelle valeur de pH cette coloration sera-t-elle visible ?

Données à 25°C : — Seuls complexes considérés : $[\text{FeSCN}]^{2+}$ ($\text{p}K_c = 2,1$) ;

$[\text{FeF}]^{2+}$ ($\text{p}K_c = 5,5$) ;

— HSCN : acide fort ;

— HF : acide faible ($\text{p}K_A = 3,2$) ;

— On négligera la précipitation de l'hydroxyde ferrique.

2 - Précipitation (8 points)

A un litre de solution ferrique à $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ on ajoute, sans variation de volume, $1,5 \cdot 10^{-3}$ mole d'hydroxyde de sodium.

2.1 - Précipitation de l'hydroxyde ferrique

2.1.1 - Montrer qu'il y a effectivement précipitation de cet hydroxyde.

2.1.2 - Calculer le pH de la solution obtenue.

2.2 - Dissolution du précipité par formation de complexe

L'éthylènediamine-tétracétate (symbolisé par l'ion Y^{4-}) complexe les ions ferriques.Quelle concentration molaire d'ions Y^{4-} doit-on avoir en excès à l'équilibre pour dissoudre totalement le précipité d'hydroxyde ?

Données à 25°C : — Seules constantes considérées :

$$pK_s (\text{Fe}(\text{OH})_3) = 37,4 ;$$

$$pK_c ([\text{FeY}]^-) = 25,1 ;$$

$$pK_e = 14 \text{ (produit ionique de l'eau).}$$

3 - Chimie organique (16 points)

L'acroléine a comme formule $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$.

3.1 - Par un schéma clairement annoté indiquant le recouvrement des orbitales atomiques des différents atomes, montrer que cette molécule est plane.

3.2 - En déduire l'existence possible de formes mésomères limites.

3.3 - Etude de quelques propriétés chimiques de l'acroléine.

3.3.1 - Ecrire l'équation de la réaction de $\text{C}_2\text{H}_5\text{MgBr}$ (suivie d'une hydrolyse) sur l'acroléine.

3.3.2 - Justifier l'orientation de l'addition électrophile de HBr sur l'acroléine et écrire l'équation correspondante.

3.3.3 - D'autres réactions peuvent être expliquées par le phénomène décrit en 3.2.

Justifier en particulier la formation de $\text{CH}_3-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CHO}$ par une addition nucléophile de la méthylamine sur l'acroléine.

3.4 - Sur un exemple au choix, illustrer et expliquer l'expression "tautomères".

BIOLOGIE

I - MICROBIOLOGIE (Coef. : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix.

PREMIER SUJET

Les produits alimentaires contiennent souvent des micro-organismes :

- certains sont indispensables car ils participent à l'élaboration, la transformation de l'aliment, assurent le développement des qualités organoleptiques particulières, ou bien encore participent à sa conservation,
- d'autres sont néfastes pour la qualité de l'aliment,
- d'autres encore sont dangereux, responsables de toxi-infections alimentaires.

- 1 - A l'aide d'exemples précis, illustrer les différents points du paragraphe précédent
- 2 - Les toxi-infections alimentaires procèdent-elles toutes du même mécanisme ? Illustrer votre réponse à l'aide d'exemples précis
- 3 - Les ferments lactiques :
 - 3.1 - Proposer une définition complète,
 - 3.2 - Présenter les bactéries lactiques en montrant leur importance.

DEUXIEME SUJET

Le métabolisme glucidique chez les bactéries. Applications à la recherche et à l'identification des entérobactéries.

DEUXIEME SUJET

LE PANCREAS ENDOCRINE

1 - L'étude de l'incorporation de la leucine tritiée dans les protéines des cellules β des îlots de Langerhans isolés de rat, en culture, montre :

- par autoradiographie :

- la présence d'éléments radioactifs dans l'ergastoplasme, 5 minutes après le début de l'incubation,
- la radioactivité des saccules des dictyosomes de l'appareil de Golgi, 10 minutes après le début de l'expérience,
- des grains de sécrétion marqués après 60 minutes d'expérimentation.

- la cinétique d'incorporation de la leucine tritiée dans la proinsuline et dans l'insuline (figure 1).

1.1 - Exposer le principe de la technique d'autoradiographie.

1.2 - Expliquer le mécanisme de sécrétion de l'insuline et le résumer sur un schéma clair et soigneusement annoté de la cellule β replacée dans son environnement physiologique, c'est-à-dire dans un tissu vascularisé.

2 - Trois lots de cœurs isolés de rats sont perfusés avec des solutions de glucose de concentration croissante :

- les cœurs du lot A sont perfusés uniquement avec du glucose,
- les cœurs du lot B reçoivent une solution de glucose et d'insuline,
- les cœurs du lot C sont perfusés avec le mélange glucose, insuline et phloridzine.

Les résultats de la mesure de la captation du glucose par les cellules cardiaques apparaissent figure 2.

Un fragment de tissu adipeux incubé dans un milieu pauvre en glucose épuise ses réserves. Si le milieu est additionné de glucose et d'insuline, la mobilisation lipidique s'arrête instantanément.

La destruction spécifique des cellules β des îlots de Langerhans du rat par l'alloxane est suivie d'une hyperglycémie, d'une cétonémie, d'une glucosurie, d'une cétonurie et d'un dépérissement de l'animal malgré sa polyphagie.

Analyser ces observations et les interpréter en arguant du rôle et du mode d'action de l'insuline et en montrant le lien qui existe entre les perturbations enregistrées en cas de déficit.

3 - Une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale est pratiquée chez trois sujets à jeun, ayant reçu 300 g de glucose par jour et n'ayant subi aucun traitement hormonal, ni anti-diurétique, ni anti-inflammatoire dans les jours qui précèdent le test.

L'évolution de la glycémie et de l'insulinémie de ces personnes dans les heures qui suivent l'ingestion des 100 g de glucose est représentée figure 3.

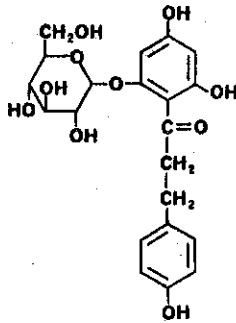
3.1 - Pourquoi prend-on les précautions notifiées ci-dessus : sujet à jeun... ?

3.2 - Commenter et interpréter les courbes obtenues chez le sujet normal A.

3.3 - Donner une (ou des) interprétation(s) possible(s) aux réponses enregistrées chez les sujets B et C.

3.4 - La même épreuve pratiquée chez la femme B au cours d'une grossesse fournit les résultats de la figure 4. Comment peut-on expliquer ce comportement ?

Donnée : formule de la phloridzine.



BAREME DE NOTATION

I - MICROBIOLOGIE (Coef. 2)

Premier sujet : 20 points

1	9 points
2	6 points
3	5 points

Deuxième sujet : 20 points

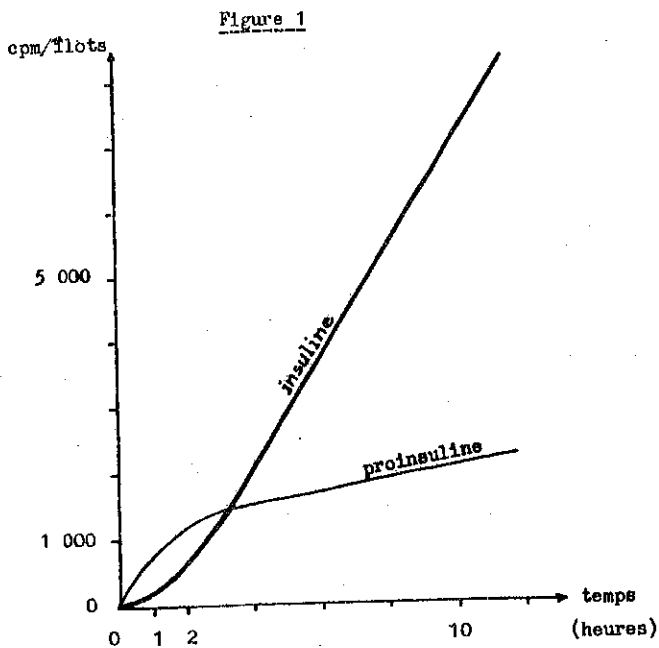
II - PHYSIOLOGIE (Coef. 2)

Premier sujet : 20 points

1	10 points
2	5 points
3	5 points

Deuxième sujet : 20 points

1	6 points
2	7 points
3	7 points



Incorporation de la leucine tritiée dans la proinsuline et dans l'insuline

Figure 1

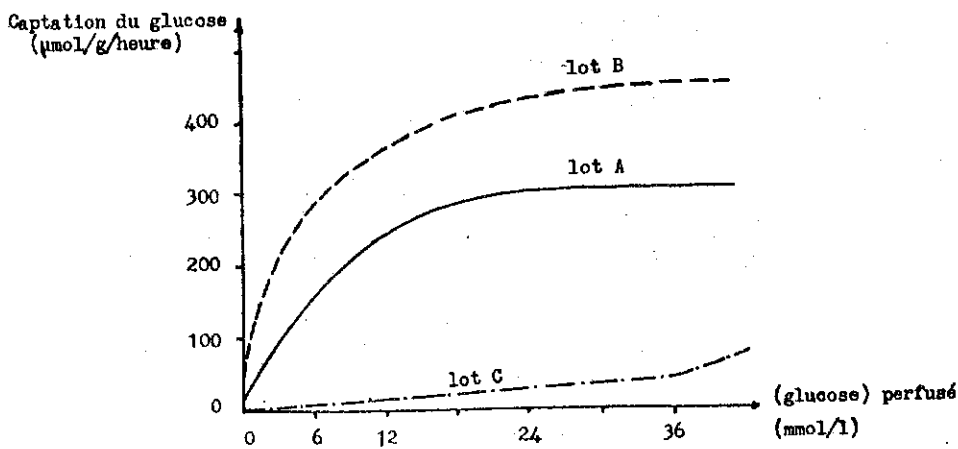


Figure 2

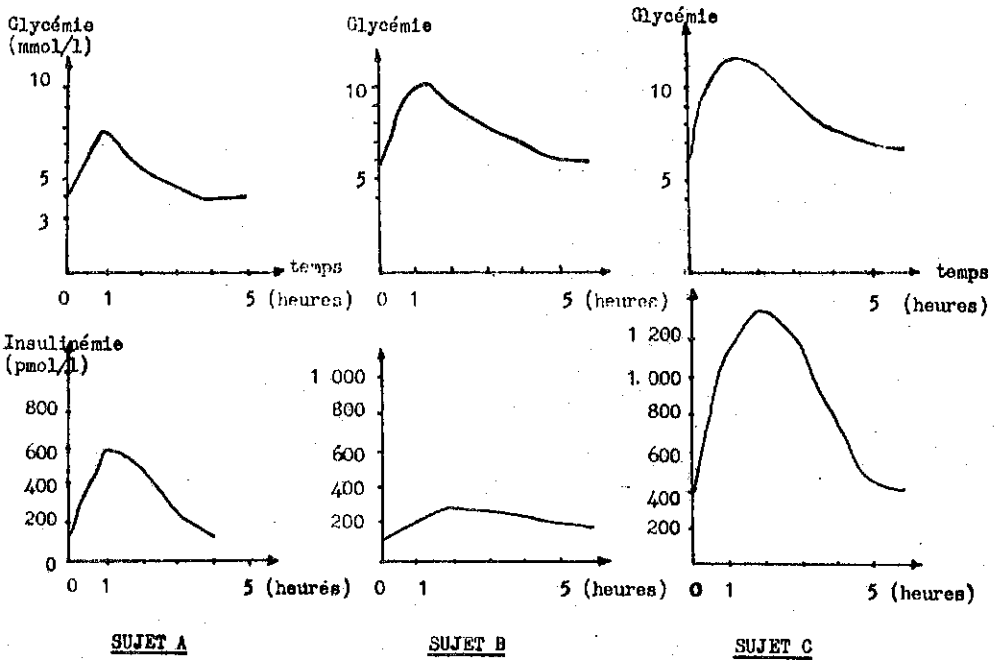


Figure 3

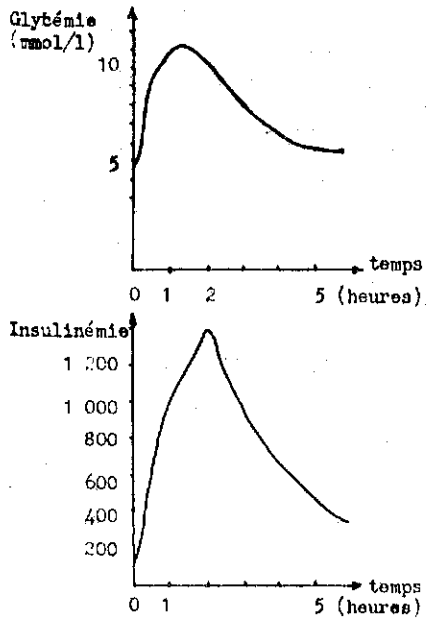


Figure 4

ANALYSES BIOCHIMIQUES

(+physique + montage)

A - REDACTION PRELIMINAIRE

(Durée : 0 h 30 - Coef. : 1)

Documents non autorisés

1 - Dosage de l'éthanol par chromimétrie :

- Donner le principe de ce dosage et les équations des réactions.
- Indiquer les principaux temps de mode opératoire.
- Donner l'expression du résultat.

2 - Chromatographie des sucres sur couche mince :

- Donner le principe de ce type de chromatographie.
- Indiquer les principaux temps du mode opératoire.
- Préciser ce qu'est le Rf d'un sucre.

B - MANIPULATION

(Durée 5 h 30 - Coef. : 5)

Documents personnels autorisés

ETUDE DE LA TRANSFORMATION D'UN SUBSTRAT GLUCIDIQUE PENDANT LA CROISSANCE BACTERIENNE

On étudie l'utilisation de polyols ou de leur dérivé d'oxydation, la dihydroxyacétone, comme source de carbone lors d'une croissance bactérienne.

On cultive les bactéries dans un milieu contenant du glycérol et on effectue, en fonction du temps, les mesures suivantes :

- mesure de l'absorbance de la culture bactérienne à 620 nm,
- mise en évidence de la transformation du glycérol par chromatographie sur couche mince (C.C.M.),
- dosage du glycérol par iodométrie après oxydation périodique,
- dosage de la dihydroxyacétone par colorimétrie,
- dosage de l'alcool total du moût en fin de croissance.

La courbe de croissance obtenue est représentée en coordonnées semi-logarithmiques sur la figure jointe.

1 - MISE EN EVIDENCE DE LA TRANSFORMATION DU GLYCEROL PAR CCM

1.1 - Principe

On réalise une chromatographie sur couche mince de cellulose de prélèvements de moût pendant la croissance.

Le solvant est constitué par la phase supérieure d'un mélange acétate d'éthyle - eau - acide formique (60 - 35 - 5).

Les témoins sont des solutions de glycérol et de dihydroxyacétone (DHA).

On révèle les taches, après oxydation périodique, par le réactif de Schiff.

1.2 - Mode opératoire

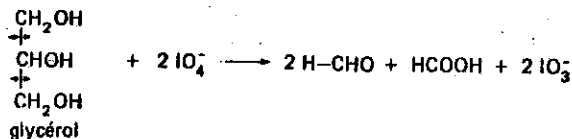
- Laisser saturer la cuve avec le solvant 15 min
 - Faire régénérer les plaques 15 min à 115°C
 - Tracer une ligne de dépôt à 2 cm du bord
 - A l'aide de capillaires fins de diamètre comparable, faire deux dépôts de chaque prélèvement à chromatographier (notés C₀, C_{12h}...)
- Remarque : Placer le témoin glycérol à gauche, puis les essais dans l'ordre croissant des temps de prélèvements et le témoin DHA à droite de la plaque (1 plaque par candidat).
- Laisser migrer (environ 2 h)
 - Sortir les plaques, noter le front du solvant, sécher
 - Pulvériser une solution de periodate de sodium, attendre 5 min, sécher
 - Pulvériser le réactif de Schiff, révéler les taches en séchant à l'air chaud.

DOSAGE DU GLYCEROL PAR IODOMETRIE

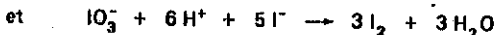
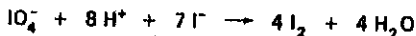
2.1 - Principe

Le periodate de sodium coupe sélectivement une molécule entre deux atomes de carbone adjacents porteurs de fonction alcool, chaque oxydation s'accompagnant d'une réduction de periodate en iodate.

Pour le glycérol la réaction est la suivante :



Les ions IO_4^- restants et IO_3^- formés sont dosés simultanément par iodométrie. Les réactions sont les suivantes :



L'iode formé est dosé par le thiosulfate de sodium. Un témoin est effectué dans les mêmes conditions sur une solution ne contenant pas de glycérol.

2.2 - Mode opératoire

2.2.1 - Préparation des mélanges réactionnels.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire :

- E ml de solution de glycérol à doser notée G₀, G_{Bh} et G_{12h}
- E' = 25 ml de solution de NaIO₄ de concentration molaire voisine de 0,2 mol.l⁻¹

Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

Faire un témoin en remplaçant la prise d'essai de glycérol par de l'eau distillée.

Les prélèvements contenant le glycérol à doser sont : G_0 , G_{8h} , G_{12h} ; les prises d'essais sont

- pour G_0 $E_0 = 20$ ml
- pour G_{8h} $E_{8h} = 20$ ml
- pour G_{12h} $E_{12h} = 25$ ml

Laisser les réactions se poursuivre 45 min à l'obscurité.

2.2.2 - Mesure du periodate consommé

Dans une fiole d'Erlenmeyer de 250 ml bouchant émeril, introduire :

- 5 ml de H_2SO_4 au 1/5
- 10 ml de KI à 10 %
- E = 5 ml de mélange réactionnel à doser.

Laisser 5 min à l'obscurité ; doser l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium de concentration molaire en ions $S_2O_3^{2-}$ voisine de $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ (la concentration molaire précise sera donnée pendant la manipulation), en présence de thiodène et en milieu dilué.

Réaliser un témoin dans les mêmes conditions.

Soit V_1 les chutes de burette de solution de thiosulfate des essais (V_1 , V_1' , V_1'')
et V_2 les chutes de burette de solution de thiosulfate du témoin.

3 - DOSAGE DE LA DIHYDROXYACETONE (DHA) PAR COLORIMETRIE

3.1 - Principe

Les cétooses réagissent avec le résorcinol en présence d'acide chlorhydrique concentré en donnant un composé coloré en rouge orangé. L'intensité de la coloration est fonction de la concentration en cétooses.

3.2 - Mode opératoire

3.2.1 - Constitution de l'essai

Dans un tube à essai à bouchon vissé, introduire :

- 1 ml de prélèvement à doser noté D_{12h} , D_{16h} ...
- 4 ml de réactif au résorcinol (Dangereux en pipette automatique), mélanger.

Porter au bain thermostaté à 60°C pendant 10 min

Arrêter la réaction dans un bain d'eau glacée.

Remarque très importante : le développement de la coloration n'est pas terminé en 10 min, mais la coloration obtenue est stable après refroidissement suffisant ce qui permet la mesure au spectrophotomètre à 490 nm pendant 15 min environ.

Les prélèvements à doser sont : D_{12h} , D_{16h} , D_{24h} (donnés déjà dilués au 1/5) et D_{40h} non dilué.

3.2.2 - Gamme d'étalonnage.

A l'aide d'une solution étalon de DHA à $1,8 \text{ g.l}^{-1}$, réaliser une gamme d'étalonnage contenant au maximum $20 \mu\text{mol}$ de DHA par tube.

Mesurer l'absorbance des tubes contre un blanc de gamme dans les mêmes conditions que les essais.

4 - DOSAGE DE L'ETHANOL FORME EN FIN DE FERMENTATION

4.1 - Principe

En fin de croissance l'éthanol contenu dans une quantité connue du milieu de fermentation est extrait par distillation. L'alcool du distillat est oxydé en acide acétique par un excès de dichromate de potassium en milieu nitrique. L'excès de dichromate réagit sur l'iodure de potassium en excès. L'iode libéré est dosé par le thiosulfate de sodium.

4.2 - Mode opératoire

4.2.1 - Distillation (une seule distillation est demandée)

Introduire dans un ballon de 500 ml, $E_1 = 50$ ml de "surnageant de moût" noté "alcool à doser"; ajouter environ 100 ml d'eau distillée et quelques grains de pierre ponce ou une bille de verre; distiller.

Recueillir 40 à 50 ml de distillat dans une fiole jaugée de 100 ml contenant environ 20 ml d'eau distillée, ajuster à 100 ml avec de l'eau distillée.

4.2.2 - Dosage de l'éthanol

Dans une fiole d'Erlenmeyer de 250 ml, bouchant émeri introduire :

– $E_2 = 5$ ml de distillat

– $E_3 = 20$ ml de solution nitrique de dichromate de potassium de concentration molaire en ions $Cr_2O_7^{2-}$ environ $1/60 \text{ mol.l}^{-1}$ (Dangereux : poire d'aspiration)

Boucher et laisser 30 min à l'obscurité et à la température du laboratoire. Ajouter 100 ml d'eau distillée, 10 ml de solution d'iodure de potassium à 100 g.l^{-1} . Agiter, attendre 5 min

Doser l'iode libéré par la solution de $Na_2S_2O_3 \sim 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ de concentration molaire en ions $S_2O_3^{2-}$ voisine de $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ (concentration exacte sur le flacon).

Faire un témoin.

5 - RESULTATS

5.1 - Chromatographie

En considérant que les taches de DHA ont tendance à traîner, prendre leur sommet comme distance de migration.

– Calculer le Rf du glycérol et de la DHA dans ce système de chromatographie.

– Quelle est l'évolution de la composition du milieu pendant la culture, quant à la source carbonée ?

5.2 - Dosage du glycérol

– Calculer la concentration molaire en glycérol des prélèvements au temps zéro, 8 heures et 12 heures.

5.3 - Dosage de la dihydroxyacétone (DHA)

- Etablir le tableau colorimétrique.
- Tracer la courbe d'étalonnage.
- En déduire la concentration molaire en DHA du milieu de culture pour les prélèvements 12 h, 16 h, 24 h, et 40 h.

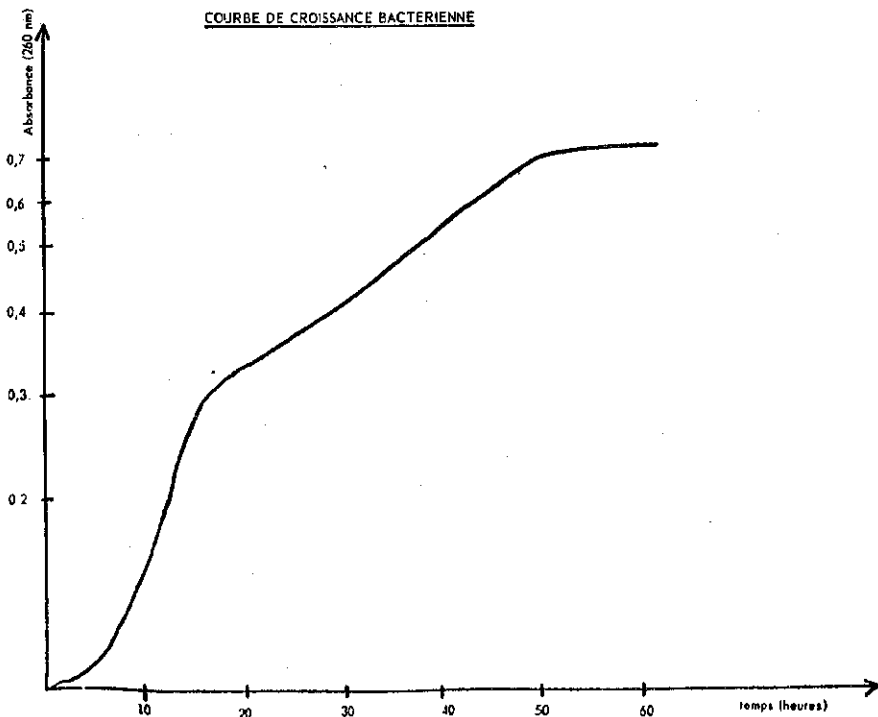
5.4 - Dosage de l'éthanol

Calculer :

- la concentration molaire du moût en éthanol
- le rendement de la fermentation alcoolique

5.5 - Conclusions générales

- Sur le graphique de la croissance bactérienne ci-joint, représenter les variations de concentrations du milieu de culture en glycérol et DHA (en mol.l^{-1}) en fonction du temps.
Pour le glycérol, extrapoler la courbe au temps 16 h en justifiant votre réponse.
Pour la DHA, extrapoler la courbe au temps zéro, justifier.
- En vous aidant de l'ensemble des résultats obtenus, donner une interprétation de la rupture de pente observée sur la courbe de croissance au temps 16 h et de l'utilisation de la source de carbone par la souche bactérienne étudiée.



ANALYSES CHIMIQUES

(+physique + montage)

139

A - REDACTION PRELIMINAIRE

(Durée : 0 h 30 - Coef 1)

Documents personnels non autorisés

Dosage potentiométrique d'une solution de dichromate de potassium par une solution de sel de Mohr

- 1 - Principe de dosage.
- 2 - Schéma du montage, préciser la nature, le rôle et la constitution des électrodes utilisées.
- 3 - Allure de la courbe, points particuliers. Détermination du point équivalent.
- 4 - Expression littérale de la concentration molaire volumique en ions dichromate.

Données :

$$E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} = 0,77 \text{ V}$$

$$E^{\circ}_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cr}^{3+}} = 1,33 \text{ V}$$

B - MANIPULATION

(Durée : 4 h 30 - Coef. : 4)

Documents personnels autorisés

Dosage d'une solution S contenant les ions dichromate, sulfate, H^+ et potassium aux concentrations molaires respectives C_1, C_2, C_3, C_4 .

1 - Dosage potentiométrique des ions dichromate à l'aide d'une solution de sel de Mohr.

1.1 - Préparation de 100 cm^3 de solution de sel de Mohr de concentration molaire en Fe II connue C de l'ordre de $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$.

Utiliser de l'eau bouillie refroidie à l'abri de l'air et de l'acide sulfurique au 1/5 (environ 25 cm^3 pour 100 cm^3 de solution)

Données : Formule moléculaire de sel de Mohr : $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Masse molaire du sel de Mohr : $392,16 \text{ g.mol}^{-1}$

1.2 - Dosage potentiométrique

Utiliser le couple d'électrodes platine, calomel et un décaleur d'origine si c'est nécessaire.

Opérer sur $E_1 = 10 \text{ cm}^3$ de solution de sel de Mohr

– 25 cm^3 de H_2SO_4 au 1/5

– eau distillée jusqu'à 200 cm^3

Mettre la solution S dans la burette.

2 - Dosage des ions sulfate par conductimétrie par une solution de chlorure de baryum de concentration molaire en ions Ba^{2+} connue de l'ordre de $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$

Dans un bécher de 600 cm^3 , introduire :

$$E_2 = 10 \text{ cm}^3 \text{ de S}$$

ajouter 300 cm^3 d'eau distillée

Réaliser 2 dosages précis

3 - Dosage volumétrique des ions H^+

La solution proposée a une concentration molaire C_3 en ions H^+ de l'ordre de $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$

Opérer par pesées de borax (tétraborate de sodium décahydraté), réaliser 2 essais.

Choisir l'indicateur convenable.

Données : Formule moléculaire du borax : $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$

Masse molaire du borax : $381,43 \text{ g.mol}^{-1}$

4 - Résultats

4.1.1 - Calcul de la masse de sel Mohr à peser.

4.1.2 - Tracé de la courbe.

4.1.3 - Détermination du point équivalent. Calcul de C_1 .

4.2.1 - Tracés des deux courbes.

4.2.2 - Détermination de C_2 .

4.3.1 - Calcul de la masse de borax à peser.

4.3.2 - Calcul de C_3 .

4.4 - Calcul de C_4 .

4.5 - Tableau de résultats.

Donnée : La solution S a été préparée à partir de dichromate de potassium, de sulfate de potassium et d'acide sulfurique.

MICROBIOLOGIE

PREMIER JOUR

Durée : 3 h

COLIMETRIE DE L'EAU

PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (65 points)

- 1 - A partir d'un échantillon d'eau, effectuez un dénombrement des coliformes totaux en utilisant une méthode traditionnelle en milieu liquide.
- 2 - A partir du même échantillon d'eau, réalisez un dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux par filtration.
- 3 - Un tube positif correspondant à une recherche déjà effectuée de coliformes totaux vous est remis ; exécutez à partir de celui-ci :
 - un test permettant de mettre en évidence la présence éventuelle d'*Escherichia coli*,
 - un isolement sur E.M.B.

DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (20 points)

Une souche pure provenant d'une colimétrie positive effectuée sur une eau et présentée sur gélose nutritive vous est remise ; effectuez son identification et montrez une coloration de Gram.

(N.B. - 15 points sont réservés pour une partie de l'épreuve du deuxième jour).

DEUXIEME JOUR

Durée : 2 h

PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (65 points)

1re et 2e QUESTIONS :

- 1 - Procédez à la lecture des résultats.
- 2 - Quelles restrictions pouvez-vous éventuellement émettre pour chacun d'eux ?
- 3 - Comparez les résultats obtenus à l'aide des différentes méthodes

3e QUESTION :

- 1 - L'eau contenait-elle des Escherichia coli ? des coliformes ?
- 2 - Est-il possible de faire une orientation de diagnostic ?

DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (20 points)

Terminez l'identification.

CONCLUSION : (15 points)

En supposant que toutes les analyses précédentes constituent des étapes de l'étude d'une même eau, établissez un tableau global des résultats et formulez, en la justifiant, une conclusion générale.

EPREUVES DE LA SESSION 1983

BIOCHIMIE

A - ACIDES NUCLEIQUES ET SYNTHÈSE DES PROTÉINES

(20 points)

- 1 - Schématiser le processus d'élongation d'une chaîne polypeptidique lors de la synthèse protéique. Bien préciser les notions d'anticodon et de codon.
- 2 - Au cours de la synthèse d'une chaîne polypeptidique le processus d'élongation place sur le site A du ribosome un ARN de transfert dont l'anticodon est UGA.
Quel est l'acide aminé porté par cet ARN de transfert ? On donne en figure (1) le code génétique.

- 3 - Le polynucléotide suivant :



mis dans un système acellulaire approprié permet la synthèse du peptide suivant qui est libéré des ribosomes :

Méthionyl-Thréonyl-Cystéinyl-Histidinyl-Isoleucine.

- 3.1 - Justifier la composition de ce peptide.
 - 3.2 - Une mutation ayant transformé le G marqué d'une flèche, en C, quel peptide est alors synthétisé et libéré dans le milieu ?
 - 3.3 - On prépare un cystéinyl-ARN de transfert puis on le désulfure catalytiquement par le nickel de Raney en présence d'hydrogène. On obtient un composé X-ARNt.
Donner le nom du composé X.
 - 3.4 - L'un des composés nécessaires à la synthèse du peptide considéré en 3.1 est le cystéinyl-ARNt. Si l'on remplace le cystéinyl-ARNt par le composé X-ARNt, le composé X sera-t-il incorporé dans ce peptide ?
Justifier votre réponse sachant que des expériences ont prouvé que la spécificité anticodon-codon de l'ARNt et la spécificité acide aminé-ARNt sont indépendantes.
- 4 - Pour la séparation de macromolécules on peut utiliser la centrifugation en gradient de saccharose ou la centrifugation en gradient de densité (chlorure de césium). Décrire le principe de l'une de ces centrifugations. (Ne pas donner le principe de la centrifugation en général).

B - LACTATE - LACTICODÉSHYDROGENASE (40 points)

1 - Oxydation complète in vivo

Ecrire l'équation d'oxydation complète du lactate dans la cellule animale.

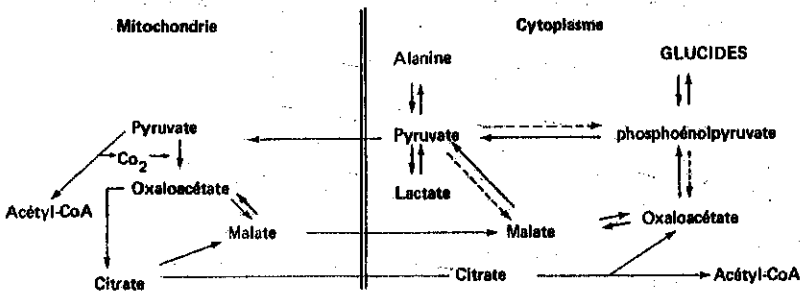
(Remarque : l'équation bilan ne doit pas comprendre la réoxydation des coenzymes réduits).

En déduire le nombre de molécules d'ATP formées lors de l'oxydation complète du lactate in vivo.

2 - Néoglucogénèse

Le lactate est un substrat de la néoglucogénèse. Développer la voie métabolique permettant la transformation d'une molécule de lactate et l'intégration du produit dans le glycogène. Evaluer le nombre de molécules d'ATP nécessaires à cette transformation et à cette intégration.

Remarque : il convient de supposer que c'est le citrate qui traverse la double membrane mitochondriale et qui donne naissance à l'oxaloacétate cytoplasmique (voir schéma ci-dessous).



3 - Bilan

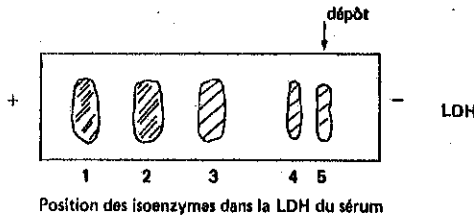
Justifier l'observation physiologique selon laquelle le lactate formé en anaérobiose peut régénérer du glucose pour 4/5, le dernier cinquième étant oxydé pour fournir l'énergie nécessaire.

4 - Lactico-déshydrogénase (LDH) Isoenzymes de la LDH

4.1 - Définir la notion d'isoenzyme.

4.2 - Les isoenzymes de la LDH sont des tétramères. Il y a 2 monomères de base ; l'un de type H et l'autre de type M. Il existe donc 2 isoenzymes homogènes H_4 et M_4 et 3 isoenzymes hybrides M_3H , M_2H_2 et MH_3 .

La digestion trypsique des monomères de base M et H libère dans chaque cas 35 acides aminés. La composition en acides aminés diffère cependant et, notamment, il y a moins de méthionine et d'isoleucine dans le monomère H et trois fois plus d'histidine dans le M. L'étude des propriétés électrophorétiques à pH 8,8 permet de définir la terminologie.



Donner la composition en monomères des différentes isoenzymes de la LDH.

4.3 - Le dosage des isoenzymes de la LDH peut s'effectuer de plusieurs manières :

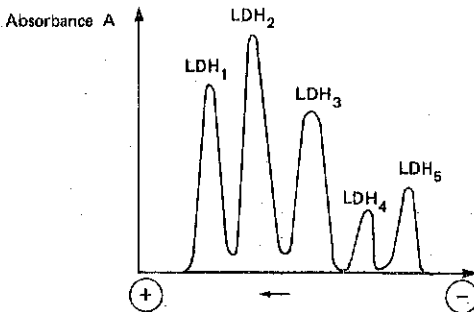
4.3.1 - Une des techniques consiste à faire passer l'échantillon à doser sur une colonne de DEAE-cellulose puis à élué par un gradient de NaCl.

Prévoir l'ordre de sortie de la colonne des différentes isoenzymes.

4.3.2 - La technique la plus courante est la technique électrophorétique, la révélation s'effectuant par un révélateur d'oxydo-réduction (sel de tétrazolium) qui permet d'évaluer le NADH formé.

Dans le cas du sérum normal, on obtient le diagramme schématisé figure 2 (voir page 4). Comment obtient-on ce diagramme ? Quel résultat quantitatif peut-on en tirer ?

Figure 2 : Diagramme d'enregistrement des isoenzymes de la LDH du sérum normal



4.3.3 - Quel est l'intérêt pratique de l'existence de telles isoenzymes ?

Application : commenter les diagrammes d'enregistrement des isoenzymes de la LDH ci-joints (figure 3).

C - CULTURES CONTINUES EN MILIEU LIQUIDE EN VUE DE L'OBTENTION D'UNE BIOMASSE (20 points)

- 1 - Proposer un schéma général du fermenteur en insistant sur :
 - 1.1 - La régulation de l'ouverture des vannes pour l'admission du milieu de culture.
 - 1.2 - Le système d'aération-agitation.
- 2 - Montrer qu'il existe deux facteurs opposés agissant sur la population bactérienne.
- 3 - Dans le cas où le taux de dilution est ajusté de manière à ce qu'il soit égal au taux de croissance maximum, préciser ce que devient la population et s'il existe un facteur limitant.
- 4 - Quel est l'intérêt des cultures continues par rapport aux cultures discontinues pour un germe dont le taux de croissance est élevé ?
- 5 - On fait pousser *Enterobacter cloacae* en culture liquide continue dans un chémostat de 20 dm^3 . Le milieu contient des sels d'ammonium et, comme source de carbone, du glycérol à la concentration de $2,5 \text{ g/dm}^3$.
 - 5.1 - Calculer le rendement en biomasse ρ sachant que d'autres expériences ont montré que 1 dm^3 de milieu donne $1,325$ de poids sec de bactéries.

5.2 - Calculer les vitesses de dilution D_1, D_2, D_3 , quand les vitesses d'entrée de milieu sont de $5,0 - 10,0 - 20,0 \text{ dm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.

5.3 - Calculer la dilution critique D_c et la comparer aux résultats du 5.2. Conclure sur le choix possible des vitesses de dilution.

On donne :
$$D_c = \frac{\mu_m \times S_i}{124 \cdot 10^{-4} + S_i}$$

où S_i représente la concentration du substrat sortant et μ_m le taux de croissance maximum (ici $0,85 \text{ h}^{-1}$).

5.4 - Calculer les concentrations bactériennes C pour les vitesses d'entrée de milieu choisies en 5.3. On précise que la concentration de la population s'exprime en g/dm^3 d'après l'expression :

$$C = \left(S_i - 124 \cdot 10^{-4} \frac{D}{\mu_m - D} \right) \rho$$

5.5 - Calculer les vitesses de sortie des bactéries, dans les conditions précédentes, en $\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{dm}^{-3}$. En déduire la production de biomasse par l'appareil en 1 heure. Conclure.

CODE GENETIQUE

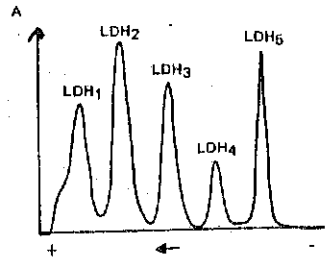
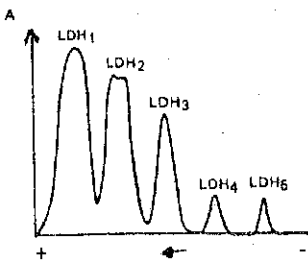
		Seconde lettre				
		U	C	A	G	
Première lettre	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U
		UUC } Leu	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C
		UUA } Leu	UCA } Ser	UAA } fin de chaîne	UGA } fin de chaîne	A
		UUG } Leu	UCG } Ser	UAG } Trp	UGG } Trp	G
	C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U
		CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C
		CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Glu/N	CGA } Arg	A
		CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Glu/N	CGG } Arg	G
	A	AUU } Ileu	ACU } Thr	AAU } Asp	AGU } Ser	U
		AUC } Ileu	ACC } Thr	AAC } Asp	AGC } Ser	C
		AUA } Met ou méthionine	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A
		AUG } Met ou méthionine	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G
	G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp/N	GGU } Gly	U
		GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp/N	GGC } Gly	C
		GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A
		GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G

Figure 1

REPARTITION TISSULAIRE DES ISOENZYMES DE LA LDH (WROBLEWSKI)

Pourcentage de l'activité totale	Répartition Tissulaire					Nature du tissu
50 %	■	■	■	■	■	Sérum normal
50 %	■	■	■	■	■	Thyroïde
50 %	■	■	■	■	■	Myocarde
75 %	■	■	■	■	■	Ganglion lymphatique
100 %	■	■	■	■	■	Glande surrénale
50 %	■	■	■	■	■	Poumon
50 %	■	■	■	■	■	Pancréas
50 %	■	■	■	■	■	Rein
100 %	■	■	■	■	■	Rate
50 %	■	■	■	■	■	Muscle (jambe)
100 %	■	■	■	■	■	Foie
	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅	

TISSUS HUMAINS



Diagrammes d'enregistrement des isoenzymes de la LDH (enregistrements effectués sur des sérums humains)

Figure 3

BIOLOGIE

I - MICROBIOLOGIE (Coef : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix et indiquera en tête de sa copie le numéro du sujet choisi.

PREMIER SUJET : LES VIRUS

- 1 - Les méthodes de culture des virus
- 2 - Les bactériophages : à l'aide de schémas commentés comparer le cycle de multiplication végétative d'un phage et le cycle de lysogénéisation.

DEUXIEME SUJET

Le sol est un grand réservoir de microorganismes.

- 1 - Quels sont les principaux microorganismes qui constituent la flore microbienne du sol ?
- 2 - Montrer comment ces microorganismes participent :
 - d'une part à la lutte contre la pollution organique azotée, carbonée et soufrée,
 - d'autre part, à la fertilisation du sol.
- 3 - A partir d'un échantillon de terre on veut isoler :
 - a) des bactéries cellulolytiques,
 - b) des bactéries productrices d'un antibiotique vis-à-vis d'une souche de staphylocoques.

Proposer une technique pour chacune de ces recherches.

II - PHYSIOLOGIE (Coef : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets suivants au choix et indiquera en tête de sa copie le numéro du sujet choisi.

PREMIER SUJET : LES SURRENALES

1 - Soit trois chiens A, B et C sur lesquels on pratique certaines expériences et observations :

- a) le chien A est bisurrénalectomisé : Il meurt en quelques jours;
- b) le chien B est bisurrénalectomisé, puis traité aussitôt par de l'aldostérone.
Il survit à l'opération, à condition d'éviter :
 - le jeûne qui provoque de l'hypoglycémie pouvant être fatale,
 - toute agression biologique (ou stress);
- c) on constate chez le chien A, avant la mort, comme chez le chien B, une concentration sanguine élevée en corticotrophine (ou ACTH);
- d) le chien C est hypophysectomisé : il survit à cette opération, résiste au stress, mais la zone fasciculée de ses surrénales s'atrophie, et il est sujet à l'hypoglycémie;

A partir de vos connaissances et de l'analyse de ces données :

- 1.1 - Indiquer la nature et l'origine tissulaire précise des diverses hormones sécrétées par les surrénales.
- 1.2 - Quelles sont les causes de la mort du chien A ?
Sur quelles structures de l'organisme agit l'aldostérone et de quelle façon ?
- 1.3 - Quelle(s) hormone(s) est(sont) nécessaire(s) à une bonne résistance au jeûne ? Pourquoi ?
- 1.4 - Citer au moins trois types d'agression biologique (ou stress).
Quelle(s) hormone(s) permette(nt) de lutter contre ces agressions ?
- 1.5 - Quelle est l'origine de la corticotrophine ?
Quel est son rôle dans les sécrétions des surrénales ?
Comment s'effectue sa régulation de sécrétion ?
- 1.6 - Récapituler dans un schéma simple, le rôle des surrénales et leurs relations avec les organes mis en cause.

- Chez un animal normal, une injection d'extraits de médullo-surrénales entraîne, momentanément, de l'hyperglycémie et une action sur le rythme cardiaque.

2.1 - Pourquoi hyperglycémie et réactions cardiaques ne durent-elles pas ?

2.2 - Sachant que l'hyperglycémie n'existe plus si l'animal a subi une hépatectomie, indiquer l'origine et le mécanisme de cette hyperglycémie.

2.3 - La figure 1 du document 1 montre l'évolution du potentiel de membrane et des conductances membranaires ioniques spécifiques d'une fibre nodale (nœud de Keith et Flack) dans les conditions normales.

La figure 2 du document 2 montre l'évolution du potentiel de membrane d'une fibre nodale sous l'influence d'extraits de médullo-surrénales.

2.3.1 - A quoi correspond, sur ces graphes :

- la différence de potentiel de - 50 mV
- la différence de potentiel de - 30 mV ?

2.3.2 - Analyser la figure 1 en précisant l'origine ionique des variations de potentiel.

2.3.3 - A partir de la figure 2, indiquer la nature et l'origine précise de la réaction cardiaque observée après injection d'extraits de médullo-surrénales.

2.4 - La figure 3 du document 1 montre la réaction cardiaque obtenue en perfusant un cœur isolé, avec une solution contenant des extraits de médullo-surrénales.

Préciser l'action de ces extraits sur la contraction cardiaque.

2.5 - Sachant qu'une stimulation bulbaire provoque de l'hyperglycémie transitoire, mais qu'une telle stimulation reste sans effet après section des nerfs splanchniques, résumer par un schéma simple les mécanismes mis en jeu.

DEUXIEME SUJET : L'EXCRETION URINAIRE

Anatomie

1.1 - Légender les schémas 1, 2 et 3 du document 2 annexés au sujet sur l'excrétion urinaire, en donnant sur la copie la signification des différents numéros.

1.2 - Réaliser un schéma soigneusement légendé du néphron.

2. Les mécanismes tubulaires

2.1 - L'analyse du liquide recueilli par micro-ponctions dans les capsules de Bowman des corpuscule de Malpighi, montre que ce liquide a la même composition chimique que le plasma sanguin à l'exception des protéines et des lipides qui ne se trouvent pas dans ce liquide.

Décrire les mécanismes intervenant dans la phase de la formation de l'urine se déroulant au niveau des capsules de Bowman.

2.2 - Donner la définition et l'expression mathématique de la clairance (ou coefficient d'épuration d'une substance donnée).

2.3 - L'exploration fonctionnelle des reins d'un sujet vis-à-vis de l'acide para amino hippurique (PAH) a permis d'obtenir les résultats suivants :

- concentration plasmatique $0,02 \text{ mmol.l}^{-1}$
- concentration urinaire 9 mmol.l^{-1}
- diurèse $1,5 \text{ l par 24 heures}$

Calculer la clairance du PAH pour le sujet étudié.

2.4 - L'étude du comportement du rein vis-à-vis du PAH permet de suivre (schéma 4 - document 3)

- l'évolution de la composition en PAH de l'urine primitive (courbe A),
- l'évolution de la composition en PAH de l'urine définitive (courbe B),
- en fonction de la concentration plasmatique en PAH (P).

2.4.1 - Que représente, pour chaque valeur de (P), la différence entre les quantités de PAH de l'urine définitive et de l'urine primitive ?

Tracer l'évolution de cette différence en fonction de P (courbe C).

2.4.2 - Interpréter les différentes courbes A, B et C, en expliquant le comportement du néphron vis-à-vis du PAH.

3. Régulation hormonale

Au cours de la perfusion d'une solution de NaCl hypertonique (à 50 g.l^{-1}), on mesure (schéma 5 document 4) :

- le volume d'urine,
- la pression osmotique du plasma,
- la clairance de l'eau libre,
- la clairance du sodium.

3.1 - Commenter rapidement le tracé des courbes. Après combien de temps peut-on constater une modification des grandeurs mesurées ?

3.2 - Interpréter les résultats précédents en indiquant :

- laquelle des 4 grandeurs mesurées est le facteur déclenchant la modification des autres,
- l'hormone ou les hormones impliquées,
- les éventuels tissus, nerveux ou endocriniens mis en jeu.

Figure 1 : POTENTIELS D'ACTION D'UNE FIBRE NODALE dans les conditions normales et variations des conductances membranaires aux ions.

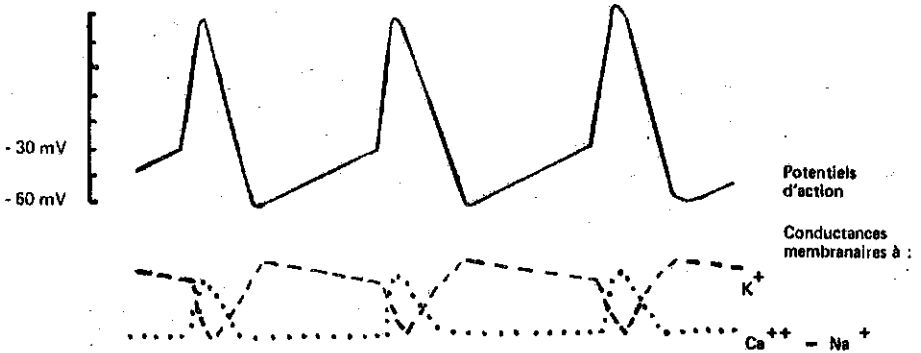
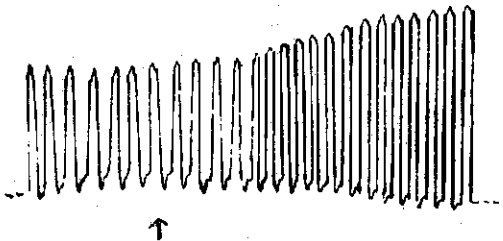


Figure 2 : POTENTIELS D'ACTION D'UNE FIBRE NODALE sous influence d'extraits de médullo-surrénales.

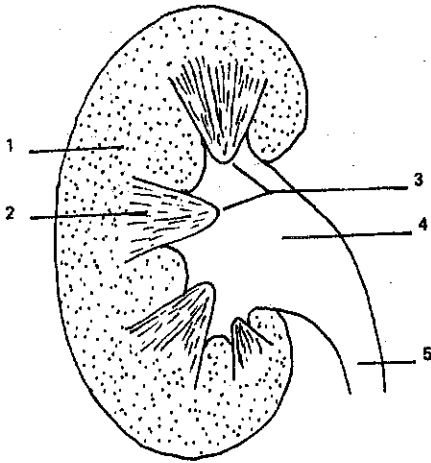


Figure 3 : ENREGISTREMENT DES CONTRACTIONS D'UN CŒUR ISOLE

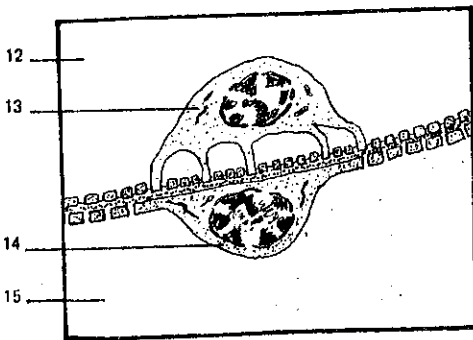
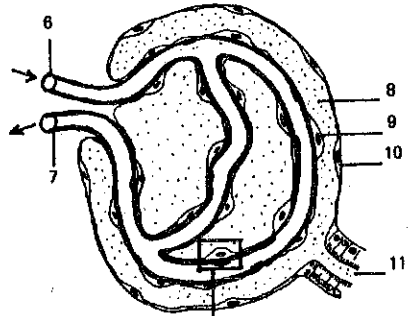


Introduction des extraits de médullo-surrénales

SCHEMA 1 : Coupe frontale de rein



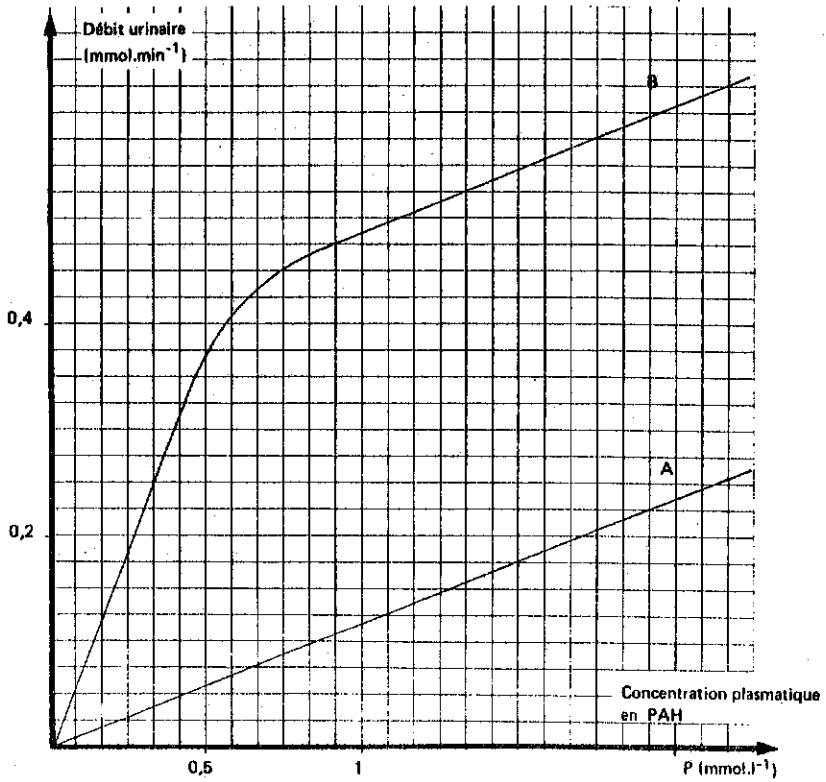
SCHEMA 2 : Représentation simplifiée
d'une coupe de corpuscule de Malpighi



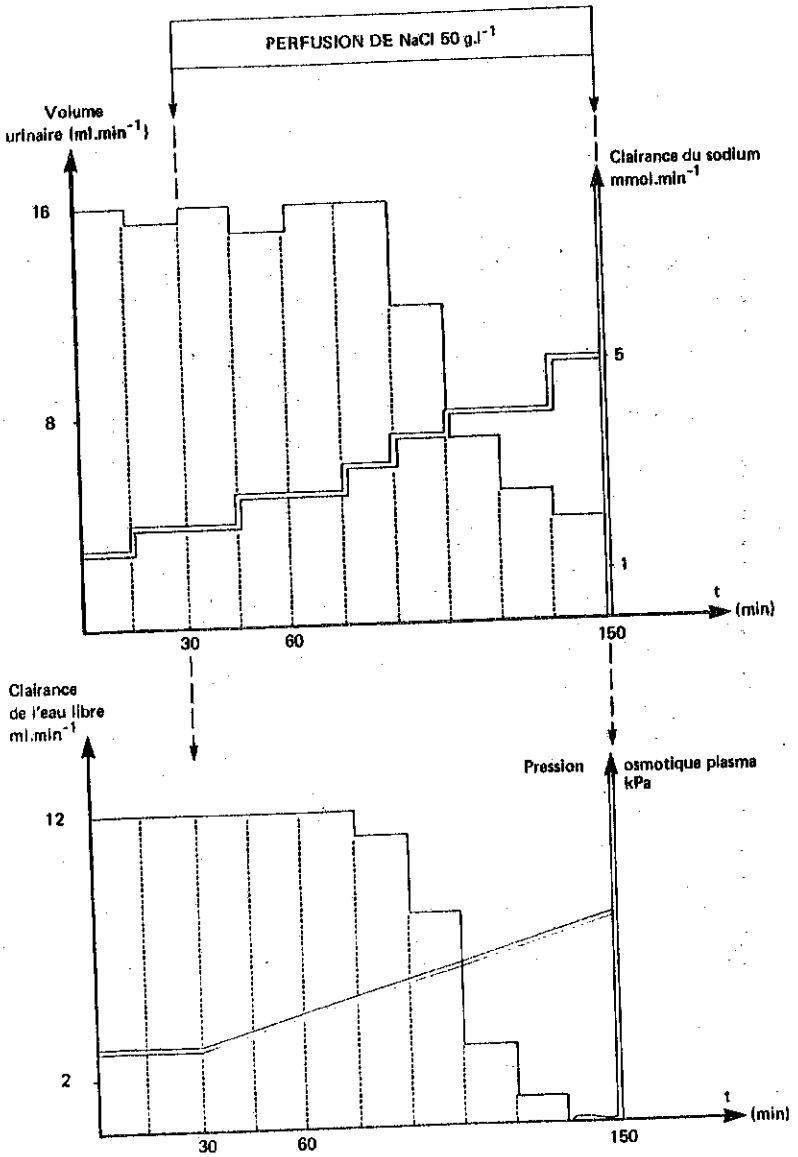
SCHEMA 3 : Vue en microscopie électronique
d'un détail de corpuscule de Malpighi

Document 3

SCHEMA 4



SCHEMA 5



NB : La clairance de l'eau libre est le volume d'eau qu'il faut ajouter (+ V cm³) ou soustraire (- V cm³) au plasma pour le rendre iso-osmotique à l'urine.

PHYSIQUE ET CHIMIE

A. PHYSIQUE

1. QUESTION DE COURS

Le candidat doit traiter l'une des deux questions de cours suivantes :

PREMIÈRE QUESTION : *Compressibilité et liquéfaction des gaz (corps purs)*

1. Principe du tracé d'une isotherme dans le diagramme (P, V) ;
2. Représentation d'un réseau d'isothermes dans le diagramme (P, V) ;
3. Point critique;
4. Pression de vapeur saturante; variation avec la température.

OU

DEUXIÈME QUESTION : *La radioactivité.*

1. Différents types de radioactivité;
2. Décroissance radioactive; période;
3. Principe du compteur à scintillations.

2. PROBLÈME OBLIGATOIRE

On étudie un ensemble optique comprenant un monochromateur à réseau et un prisme différentiel (voir figure jointe).

1. *Le monochromateur :*

L'objectif L_1 , d'un collimateur donne un faisceau parallèle de lumière blanche qui arrive sur un réseau R sous une incidence d'angle i . Le réseau comporte 500 traits par millimètre.

Perpendiculairement à la position initiale du réseau, est disposé l'axe d'un objectif L_2 , d'une fente F_2 , et d'un objectif L_3 . La fente F_2 est placée dans le plan focal de L_2 et de L_3 .

1.1. Rappeler le principe d'un réseau et les relations permettant de déterminer les directions i' des maxima de lumière, pour une longueur d'onde λ . En donner une démonstration simple.

1.2. On utilise ici le spectre d'ordre 2. Seules traversent la fente F_2 les radiations de longueur d'onde $\lambda_1 = 500$ nm. Calculer alors l'angle d'incidence i_0 .

- 2.1. Les deux indices étant égaux à $n = 1,3560$, où se forme l'image de la fente F_2 sur l'écran E? Construire les rayons.
- 2.2. Les deux indices n_1 et n_2 sont différents : $n_1 = 1,3560$ et $n_2 = 1,3720$.
- 2.2.1. Construire les rayons traversant l'ensemble des deux prismes.
- 2.2.2. Calculer les angles de ces rayons avec les normales aux différents dioptries rencontrés.
- 2.2.3. En déduire la distance δ entre l'image de F_2 sur l'écran E et F_1 , le foyer principal de L_4 .

B. CHIMIE

1. CHIMIE GÉNÉRALE

N.B. Les questions 1.1., 2. et 3. peuvent être traitées indépendamment.

Démontrer les relations utilisées pour calculer le pH et vérifier les approximations faites.

Pour l'étude de la courbe de titrage du borate de sodium (NaBO_2) par l'acide chlorhydrique, on dispose d'une solution A de borate de sodium de concentration molaire $c = 0,1 \text{ mol. dm}^{-3}$ et de volume $v = 50 \text{ cm}^3$, et d'une solution B d'acide chlorhydrique de concentration molaire $c' = 0,2 \text{ mol. dm}^{-3}$. On donne pour le couple acide base $\text{HBO}_2/\text{BO}_2^-$ $\text{p}K_A = 9,2$.

- 1.1. Calculer le pH^* de la solution A sachant que le borate de sodium est totalement ionisé en solution ($\text{Na}^+ + \text{BO}_2^-$).
2. 2.1. Calculer la constante d'équilibre de la réaction acido-basique : $\text{BO}_2^- + \text{H}_3\text{O}^+ \rightleftharpoons \text{HBO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
Que peut-on en déduire pour le titrage du borate de sodium par l'acide chlorhydrique?
- 2.2. Calculer le volume v'_e d'acide chlorhydrique versé au point d'équivalence et calculer le pH de la solution correspondante.
- 2.3. Avant le point d'équivalence ($v' < v'_e$), établir la formule sans approximation :

$$\text{pH} = \text{p}K_A + \log \frac{\frac{cv}{v+v'} + [\text{H}_3\text{O}^+] - [\text{OH}^-] - \frac{c'v'}{v+v'}}{\frac{c'v'}{v+v'} + [\text{OH}^-] - [\text{H}_3\text{O}^+]}$$

lorsqu'on verse $v' \text{ cm}^3$ d'acide B dans $v \text{ cm}^3$ de la solution A.

- 2.4. En précisant les approximations utilisées montrer que la formule précédente (2.3.) peut se mettre sous la forme

$$\text{pH} = \text{p}K_A + \log \left(\frac{25}{(v'/\text{cm}^3)} - 1 \right) \quad \text{en prenant } v = 50 \text{ cm}^3$$

Calculer le pH pour les valeurs de v' suivantes (en cm^3) :

2,5 5 12,5 20 22,5

Tracer la courbe $\text{pH} = f(v')$ pour $0 \leq v' \leq v'_e$

- 2.5. Justifier le choix de l'indicateur coloré pour ce titrage parmi :

Hélianthine	: virage de 3,1 à 4,4	rouge à jaune;
Rouge de méthyle	: virage de 4,4 à 6,2	rouge à jaune;
Bleu de bromothymol	: virage de 6,0 à 7,6	jaune à bleu;
Phénolphtaléine	: virage de 8,2 à 10	incoloré à rouge;
Alizarine	: virage de 10 à 12	jaune à rouge.

3. 3.1. Calculer le pH d'une solution C contenant 10^{-2} mole d'acide borique (H_3BO_3) et 10^{-2} mole de borate de sodium (NaBO_2) dans 100 cm^3 de solution; la démonstration n'est pas demandée.

- 3.2. Calculer le volume de soude ($0,1 \text{ mol. dm}^{-3}$) qu'il faut verser dans 100 cm^3 de la solution C pour que le pH augmente de 0,5 unité pH. Que peut-on dire de la solution C? On donne pour le couple $\text{HBO}_2/\text{BO}_2^-$ $\text{p}K_A = 9,2$.

2. CHIMIE ORGANIQUE

On réalise la combustion de 10 cm^3 d'un hydrocarbure A dans 100 cm^3 d'oxygène. Après refroidissement le volume est de 70 cm^3 dont 60 sont absorbés par une solution de soude (volumes mesurés dans les mêmes conditions de température et de pression. Le volume d'eau est négligeable).

- 2.1. Quelle est la formule brute de l'hydrocarbure?
À quelles familles peut-il appartenir?
Il absorbe dans l'ultra-violet pour $\lambda = 0,18 \mu$. Conclusion?
- 2.2. Quelle est sa formule développée, sachant que l'action de l'ozone, puis de l'eau donne un mélange de butanone et d'éthanal?
- 2.3. On fait réagir A avec du brome. Préciser le mécanisme de cette réaction. Donner une représentation en perspective et de Newmann des produits obtenus.
- 2.4. Comment préparer cet hydrocarbure à partir d'éthanol et de tous réactifs minéraux nécessaires?

Figure relative au problème de la partie A. PHYSIQUE

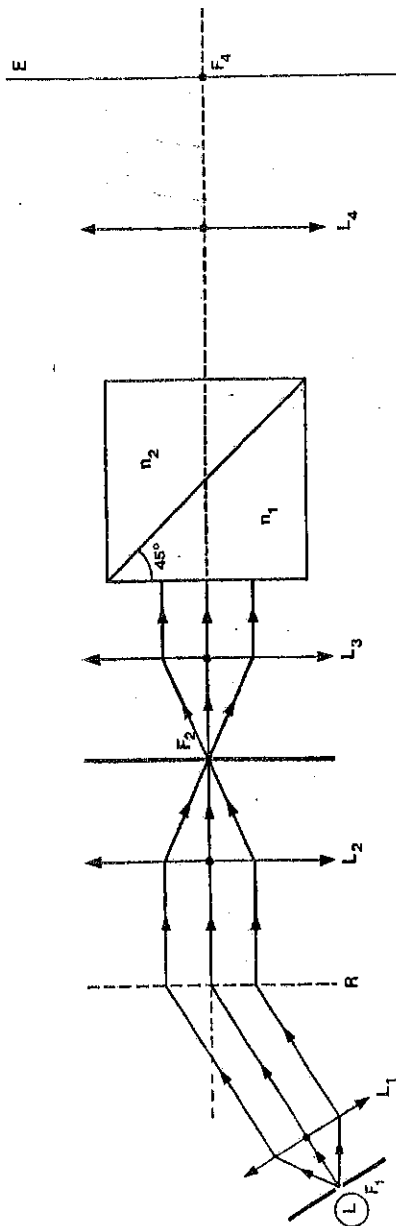


Figure : ensemble optique.

(+ physique + montage)

A - REDACTION PRELIMINAIRE

Documents non autorisés

(Durée : 0 h 30 - Coef. : 1)

1 - Dosage de l'azote total par la méthode de Kjeldahl

- Donner le principe du dosage et les principaux temps du mode opératoire.
- Expression littérale du résultat.

Donnée N = 14

2 - Etude des caractéristiques cinétiques d'une enzyme

Indiquer le principe de la détermination :

- d'une activité enzymatique,
- de la constante de Michaëlis d'une enzyme.

B - MANIPULATION

Documents personnels autorisés

(Durée 5 h 30 - Coef. : 5)

ETUDE DES CARACTERISTIQUES D'UNE ENZYME

Afin d'étudier la production de la β -galactosidase par *Escherichia coli*, on a cultivé ce germe dans un milieu de culture liquide contenant :

- soit un glucide A
- soit un glucide B

en opérant dans des conditions identiques dans les deux cas.

Après diverses opérations d'extraction et purification de l'enzyme :

- pour le milieu de culture contenant A, on obtient $V_A = 5 \text{ cm}^3$ d'extrait enzymatique concentré E_A qu'on dilue ensuite au $\frac{1}{1000}$ (\longrightarrow extrait E_1)
- pour le milieu de culture contenant B, on obtient $V_B = 5 \text{ cm}^3$ d'extrait enzymatique concentré E_B dilué ensuite au $\frac{1}{20}$ (\longrightarrow extrait E_2).

On minéralise, en vue d'un dosage d'azote, l'extrait E_1 : on obtient la solution M_1 .

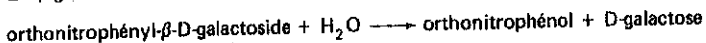
La manipulation comportera :

- 1 - la détermination des activités de E_1 et E_2 ,
- 2 - l'évaluation de la constante de Michaëlis de la β -galactosidase et l'étude des effets cinétiques des glucides A et B,
- 3 - l'identification des glucides A et B par chromatographie en couche mince.

1 - Activité catalytique des extraits E_1 et E_2

1.1 - Principe

La β -galactosidase catalyse, à pH = 7,7 et à 25 °C, la réaction :



La réaction est stoppée par addition de carbonate disodique. L'orthonitrophénol, de couleur jaune-stable, permet un dosage colorimétrique.

1.2 - Gamme d'étalonnage

A partir d'une solution étalon d'orthonitrophénol (ONP) à 3 mmol.dm⁻³, préparer une gamme d'étalonnage de 6 tubes allant de 0 à 3 micromoles par tube. Compléter à 1 cm³ avec de l'eau distillée. Ajouter dans chaque tube :

- 4 cm³ de tampon phosphate pH 7,7, force ionique 0,08 mol.dm⁻³
- 0,5 cm³ de carbonate disodique à 1 mol.dm⁻³.

Lire l'absorbance à 420 nm.

1.3 - Détermination de la vitesse maximum des extraits E_1 et E_2

On utilise une solution d'orthonitrophényl- β -D-galactoside (ONPG) à 25 mmol.dm⁻³ réalisant une concentration finale saturante.

1.3.1 - Dans 5 tubes numérotés de 1 à 5, introduire :

- 0,5 cm³ de solution d'ONPG à 25 mmol.dm⁻³
- 4 cm³ de tampon phosphate pH 7,7.

Préchauffer les tubes à 25 °C. Déclencher la réaction enzymatique dans chaque tube par :

- 0,5 cm³ d'extrait E_1 (il est conseillé d'espacer les additions d'enzyme de 30 s en 30 s).

Après des temps d'hydrolyse respectifs de 3, 5, 10, 20 et 30 min à 25 °C, ajouter dans les tubes 1 à 5 :

- 0,5 cm³ de carbonate disodique à 1 mol.dm⁻³.

Mesurer l'absorbance à 420 nm contre le témoin-enzyme :

- 0,5 cm³ d'ONPG à 25 mmol.dm⁻³,
- 4 cm³ de tampon phosphate pH 7,7,
- 0,5 cm³ de carbonate disodique à 1 mol.dm⁻³,
- 0,5 cm³ d'extrait E_1 .

1.3.2 - Même manipulation. On utilise l'extrait E_2 et on se limite aux temps d'hydrolyse 3, 5, 10 et 15 min.

1.4 - Résultats

- Tracer la courbe de variation de l'absorbance en fonction du nombre de micromoles d'ONP par tube-étalon.
- Présenter, sous forme de tableau, pour les extraits E_1 et E_2 , les quantités d'ONP libérées aux différents temps d'hydrolyse en micromoles par tube.
Tracer, sur la même feuille de papier millimétré, les deux courbes donnant la production d'ONP en micromoles par tube en fonction du temps.
- Calculer l'activité β -galactosidase des extraits E_1 et E_2 en micromoles d'ONPG hydrolysées par minute à 25 °C et pH 7,7 par cm^3 de suspension enzymatique.

Détermination de la constante K_m de la β -galactosidase. Etude des effets cinétiques des glucides A et B.

On utilise :

- comme solution de substrat une solution d'ONPG à $2,5 \text{ mmol.dm}^{-3}$
(= dilution au $\frac{1}{10}$ de la solution d'ONPG précédente)
- comme suspension enzymatique l'extrait E_2 .

2.1 - Détermination de K_m

On étudie l'influence de la concentration en ONPG sur la vitesse enzymatique selon le mode opératoire suivant :

Réactifs	N°									
	1	T ₁	2	T ₂	3	T ₃	4	T ₄	5	T ₅
Solution diluée d'ONPG à $2,5 \text{ mmol.dm}^{-3}$ en cm^3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5
Tampon phosphate pH7,7 en cm^3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Eau distillée en cm^3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	--	--
Préchauffer à 25 °C										
A t = 0 min, extrait E_2 en cm^3	0,5	--	0,5	--	0,5	--	0,5	--	0,5	--
Incuber à 25 °C durant 4 min exactement										
A t = 4 min, Na_2CO_3 à 1 mol.dm^{-3} en cm^3	0,5	--	0,5	--	0,5	--	0,5	--	0,5	--
Avant lecture, ajouter dans les tubes T :										
Na_2CO_3 à 1 mol.dm^{-3} en cm^3	--	0,5	--	0,5	--	0,5	--	0,5	--	0,5
Extrait E_2 en cm^3	--	0,5	--	0,5	--	0,5	--	0,5	--	0,5

Lire à 420 nm contre le témoin correspondant.

2.2 - Effets de A et B

Opérer de façon identique aux tubes 3 et T_3 en remplaçant l'eau distillée par $0,2 \text{ cm}^3$ de solution de glucide A ou B à 50 mmol.dm^{-3} .

2.3 - Résultats

- Présenter, sous forme de tableau, les nombres de micromoles d'ONP libérées pour les différentes concentrations en ONPG réalisées dans le volume réactionnel.
- Déterminer, graphiquement, par la méthode des inverses, la constante de Michaëlis K_m .
- Comparer les quantités d'ONP en présence de A ou B à celle obtenue dans le tube 3. En déduire l'effet cinétique apparent du glucide A et du glucide B.

3 - Dosage de l'azote total de la solution M_1

Le dosage de l'azote total effectué sur la solution M_1 donne une teneur en protéines de $1,85 \text{ g/l}$. En déduire la concentration massique en protéines de l'extrait E_1 sachant que le traitement de E_1 pour obtenir M_1 équivaut à une dilution au $\frac{1}{2}$.

4 - Identification des glucides A et B

4.1 - Matériel

Une plaque CCM de gel de silice ($20 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$) est réactivée par un séjour de 30 min à l'étuve à 100°C .

4.2 - Mode opératoire

- A 2 cm du bas de la couche mince, tracer la ligne de départ. Réaliser le dépôt des solutions étalon et des glucides A et B à l'aide de micropipettes ou de tubes capillaires (dépôt de 2 à 3 mm de diamètre fait en plusieurs fois). On utilise les solutions étalons suivantes :

glucose
galactose
xylose
lactose
saccharose

- Saturer la cuve : verser un volume suffisant de solvant de développement dans le fond de la cuve. Tapisser les parois latérales intérieures de la cuve avec du papier filtre qu'on imprègnera de solvant.

Fermer. Attendre 30 min.

Le solvant de développement a la composition suivante :

n-butanol	4 V
acétone	5 V
eau	1 V

– Développement du chromatogramme : placer la chromatoplaque dans la cuve et développer le chromatogramme. Sortir la plaque lorsque le solvant est à une distance d'environ 15 cm de la ligne de départ.

Sécher 10 à 15 min à 100 °C.

– Révélation du chromatogramme :

On utilise le réactif suivant :

thymol : 5,3 g

alcool à 80 % : 800 cm³

acide sulfurique concentré : 200 cm³

Pulvériser le réactif au thymol sur la plaque jusqu'à humidification uniforme (à pratiquer sous la hotte).

Mettre à l'étuve 15 min à 100 °C.

4.3 - Résultats

Calculer le R_F de chaque glucide et en déduire la nature des glucides A et B.

5 - Conclusions

Calculer :

– l'activité totale des extraits concentrés E_A et E_B , en micromoles d'ONPG hydrolysées par minute,

– l'activité spécifique de l'extrait E_1 ramenée au mg de protéines.

Déduire l'effet éventuel de A ou B sur la synthèse de l'enzyme (on considère que le rendement des traitements de purification est semblable dans les deux cas).

Donnée : $N = 14$

ANALYSES CHIMIQUES

(+ physique + montage)

A - REDACTION PRELIMINAIRE

Documents personnels non autorisés

(Durée : 0 h 30 - Coef. : 1)

1 - Dosage potentiométrique d'une solution d'EDTA disodique (H_2Y^{2-} , $2Na^+$) par une solution de Zn^{2+} de concentration connue

- Les complexes ZnY^{2-} et HgY^{2-} ont pour constantes de dissociation, respectivement $10^{-16,5}$ et $10^{-21,8}$.
- Le couple redox $HgY^{2-}/Hg(l)$ a pour potentiel standard E° .

1.1 - Ecrire l'équation du couple $HgY^{2-}/Hg(l)$.

1.2 - En présence d'une concentration constante en HgY^{2-} , soit C_0 , comment varie le potentiel redox de ce couple en fonction de la concentration en ions Y^{4-} ?

1.3 - A une solution de Zn^{2+} contenant un peu de complexe HgY^{2-} , on ajoute progressivement une solution d'EDTA disodique, en milieu tampon.
Comment varie le potentiel d'une électrode de mercure introduite dans la solution, en fonction du volume d'EDTA ajouté ? On donnera simplement l'allure du graphe en l'expliquant, sans faire de calculs.

1.4 - Pourquoi faut-il que ZnY^{2-} soit un complexe moins stable que HgY^{2-} ?

1.5 - Quelle électrode de référence peut-on utiliser ? Expliquer son principe.

2 - Dosage d'un mélange $Cu^{2+} + Fe^{3+}$ par absorptiométrie

- Les complexes CuY^{2-} et FeY^+ ont pour constantes de dissociation, respectivement, $10^{-18,8}$ et $10^{-25,1}$.
- A 745 nm, seul le complexe CuY^{2-} absorbe.

A une solution contenant des ions Cu^{2+} et Fe^{3+} , on ajoute progressivement de l'EDTA disodique, en milieu tampon. On mesure l'absorbance (densité optique) de la solution en fonction du volume d'EDTA ajouté, à 745 nm.

2.1 - Quelles réactions ont lieu successivement ?

2.2 - Donner l'allure du graphe Absorbance = f (volume d'EDTA).

2.3 - A votre avis, le milieu tampon doit-il être acide ou basique ? Expliquer.

B - MANIPULATION

Documents personnels autorisés

(Durée : 4 h 30 - Coef. : 4)

dosage d'un mélange S de Cu^{2+} et Fe^{3+} par une solution d'EDTA disodique (H_2Y^{2-} , 2 Na⁺) après étalonnage de celle-ci.

Etalonnage de la solution d'EDTA disodique (concentration voisine de $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$).

1.1 - Réalisation d'une solution de Zn^{2+} de concentration connue.

Peser exactement une pastille de zinc (environ 0,3 à 0,4 g) ; la dissoudre dans 15 cm^3 d'acide nitrique (environ à $2,5 \text{ mol.l}^{-1}$) ; porter à ébullition pour chasser les oxydes d'azote.

Refroidir et transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 100 cm^3 .

Masse atomique relative du zinc : $A_r(\text{Zn}) = 65,37$.

1.2 - Dosage potentiométrique de la solution d'EDTA disodique.

A un volume $E = 10,00 \text{ cm}^3$ de la solution de Zn^{2+} , ajouter 40 cm^3 de solution tampon ($\text{pH} = 4,7$) et une goutte de complexe HgY^{2-} (à $0,025 \text{ mol.l}^{-1}$).

Plonger le couple d'électrodes :

- Argent amalgamé
- Calomel saturé en KCl.

Mesurer la différence de potentiel ΔE (millivoltmètre) entre les deux électrodes au fur et à mesure de l'addition de la solution d'EDTA disodique.

Tracer le graphe $\Delta E = f(V_{\text{cm}^3} \text{ d'EDTA})$.

Déterminer le point d'équivalence V_1 de la réaction de complexation de Zn^{2+} par Y^{4-} .

Calculer la concentration C_1 de la solution d'EDTA disodique.

Dosage absorptiométrique de la solution S.

Selon le matériel à sa disposition, on utilisera le mode opératoire A ou le mode opératoire B suivants.

Mode opératoire A Utilisation du spectrophotomètre (type 320 R Constant) avec agitateur magnétique et porte-bécher.

- Dans le bécher spécial, introduire $E = 10,00 \text{ cm}^3$ de la solution S, ajouter 20 cm^3 de solution tampon ($\text{pH} = 2,2$) et 70 cm^3 d'eau déminéralisée.
- Faire le zéro optique sur le témoin réactif (20 cm^3 de solution tampon $\text{pH} 2,2$ et 80 cm^3 d'eau) en réglant la longueur d'onde à 745 nm .
- Placer le bécher dans le compartiment du spectrophotomètre, mettre un barreau magnétique, agiter pendant l'addition de la solution d'EDTA mais arrêter l'agitation pendant la lecture de l'absorbance (A).
- Verser la solution d'EDTA et lire l'absorbance A en fonction du volume V agité. Ne pas toucher au bécher pendant le dosage.
- Tracer le graphe $A = f(V)$ et déterminer les volumes V_2 et V_3 correspondant aux points d'équivalence.
- Calculer les concentrations en ions Fe^{3+} et Cu^{2+} dans la solution S.

OU

Mode opératoire B Utilisation d'un spectrophotomètre classique.

- Mesurer l'absorbance A des solutions réalisées selon le tableau suivant : (les volumes sont en cm^3).

Tube N°	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Solution S	0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Tampon 2,2	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
EDTA	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7
EAU	8,0	6,9	6,8	6,7	6,6	6,5	6,4	6,3	6,2	6,1	6,0	5,9	5,8	5,7	5,6	5,5	5,4	5,3

(Faire le zéro sur le tube N° 0).

- Tracer la courbe $A = f(V_{\text{EDTA}})$.
- Déterminer les volumes V_2 et V_3 des points d'équivalence.
- Calculer les concentrations en ions Fe^{3+} et Cu^{2+} de la solution S.

3 - Faire un compte-rendu de la manipulation (la présentation des résultats sous forme de tableau sera notée).

PREMIER JOUR

Durée : 3 h

PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (50 points)

- 1 - Microbiologie du lait : à partir d'un échantillon de lait A, rechercher et dénombrer les coliformes par la méthode en milieu solide.
- 2 - Microbiologie du sol : rechercher les microorganismes ammonifiants.

DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (50 points)

- 1 - Identification d'une souche bactérienne pure isolée d'un échantillon de lait B, présentée sur milieu solide.
- 2 - Orientation rapide du diagnostic du genre de deux microorganismes isolés du sol.

DEUXIEME JOUR

Durée : 2 h

PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (50 points)

- 1 - Microbiologie du lait : procéder à la lecture des milieux et à l'interprétation des résultats. Conclure.
- 2 - Microbiologie du sol : réaliser une étude macroscopique et microscopique détaillée des cultures obtenues.

DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (50 points)

- 1 - Identification d'une souche bactérienne pure isolée du lait A.
 - Analyser les résultats et effectuer une identification aussi précise que possible.
 - Sachant que les laits A et B proviennent du même lot, dégager les relations qui existent entre les observations réalisées à partir de ces deux échantillons.
- 2 - Après analyse des résultats de l'étude des cultures des microorganismes du sol, procéder à une orientation du diagnostic du genre de la (ou des) bactérie (s).

EPREUVES DE LA SESSION 1984

BIOCHIMIE

1ère PARTIE : LA CHROMATOGRAPHIE PAR ÉCHANGE D'IONS : APPLICATION A L'ÉTUDE D'UN PEPTIDE

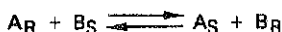
(30 points)

1 - Définitions :

1.1 - Qu'est-ce qu'un échangeur d'ions ? Préciser quelques exemples.

1.2 - Définir la capacité de rétention d'un échangeur d'ions.

1.3 - En symbolisant la réaction d'échange de deux ions monovalents



Les indices R et S signifiant "sur la résine" et "en solution", définir la constante de sélectivité K_A^B (ou constante d'équilibre).

1.4 - Principales étapes d'une chromatographie sur colonne par échange d'ions.

2 - Expérience :

On sépare deux polypeptides A ($pH_i = 6,2$) et B ($pH_i = 7,8$) par chromatographie sur colonne remplie de DEAE cellulose. On travaille initialement à $pH = 9,8$. 1 cm^3 du mélange est déposé en haut de la colonne. On élue par tampon de pH de plus en plus faible et les différentes fractions de l'éluat sont collectées. On mesure l'absorbance à 280 nm de chaque fraction. On a déterminé par ailleurs que 1 cm^3 du mélange initial dilué deux fois a une absorbance de 0,600 dans les mêmes conditions. A et B ont la même absorbance linéique molaire à 280 nm. Les résultats obtenus sont regroupés sur le document A.

2.1 - Expliquer les différents temps de l'expérience chromatographique.

2.2 - Traduire par un graphique l'élution des deux constituants.
Le commenter.

2.3 - Calculer le volume de rétention de A et B.

2.4 - Calculer le pourcentage total de peptides récupérés.

2.5 - Évaluer les pourcentages relatifs de deux constituants en admettant que le rendement de la colonne est le même pour A et B.

Étude du polypeptide A :

— 140 μg de A sont soumis à une hydrolyse acide totale (action de HCl à 6 mol./dm^3 pendant 48 heures à 110°C).

— l'hydrolysate obtenu est dosé sur auto-analyseur et présente la composition suivante en micromoles :

Lys	0,122	Asp	0,127
Ala	0,380	Ser	0,119
Gly	0,124	Val	0,241
Leu	0,119	Tyr	0,118

3.1 - Déterminer la composition en acides aminés de ce polypeptide.

Quelle est sa masse molaire minimale ?

3.2 - Le polypeptide A est soumis à une hydrolyse trypsique qui libère deux peptides :

— Un tétrapeptide basique A_1 contenant de la leucine et donnant par la méthode d'EDMAN la phénylthiohydantoïne dérivant de la sérine puis du glycolle.

— Un peptide A_2 qui peut être scindé par la chymotrypsine en un tétrapeptide acide A_3 donnant le D N P Alanine par la méthode de SANGER et un peptide neutre A_4 .

— Un micromole du tétrapeptide A_3 soumis à l'action de la carboxypeptidase, libère $0,8 \mu\text{mole}$ de tyrosine et $0,6 \mu\text{mole}$ d'alanine dans des conditions expérimentales précises.

— Le peptide neutre A_4 , soumis à une hydrazinolyse, libère de la valine.

Écrire une séquence possible des acides aminés du polypeptide A.

DONNÉES :

— La trypsine catalyse l'hydrolyse des liaisons peptidiques impliquant le carboxyle des acides aminés basiques.

— La chymotrypsine catalyse l'hydrolyse des liaisons peptidiques impliquant le carboxyle des acides aminés aromatiques.

— L'hydrazinolyse entraîne la coupure de toutes les liaisons peptidiques avec transformation des acides aminés en hydrazides à l'exception de l'acide aminé C-terminal.

2ème PARTIE : LES SYSTEMES DE TRANSPORT

(30 points)

Le transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire des cellules animales

1.1 - Localisation dans la cellule animale.

1.2 - Nature et rôle des différents éléments de cette chaîne.

1.3 - Schéma succinct de la chaîne assurant le transfert des électrons du NAD réduit ($E'^0 = 0,32 \text{ volt}$) jusqu'à l'oxygène ($E'^0 = +0,80 \text{ volt}$).

1.4 - Pourquoi l'utilisation d'inhibiteurs du transport d'électrons couplée à des techniques spectrophotométriques sensibles a-t-elle permis d'établir la séquence des couples oxydo-réducteurs ?

1.5 - Application : la chaîne respiratoire d'une bactérie comporte cinq transporteurs d'électrons (a, b, c, d, e). En présence de substrat et d'oxygène, trois inhibiteurs différents (X, Y, Z) bloquent la respiration en donnant les formes soit 100 % oxydées (notées +) soit 100 % réduites (notées -) des transporteurs.

Résultats

Inhibiteurs	a	b	c	d	e
X	+	+	-	+	+
Y	-	-	-	+	+
Z	-	-	-	+	-

Donner l'ordre des transporteurs d'électrons jusqu'à l'oxygène sachant que $E'_{ob} > E'_{oa}$. Justifier la réponse.

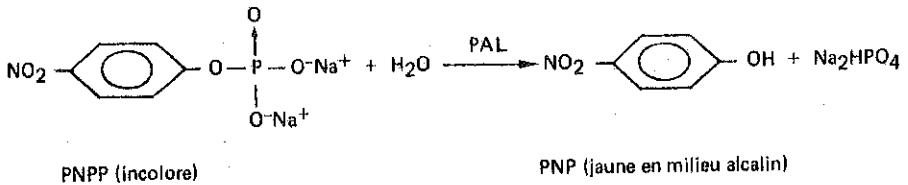
2 - La transport de l'hydrogène et des électrons du NAD réduit hyaloplasmique à la chaîne respiratoire.

Lorsque du NAD réduit pur est ajouté à une suspension de mitochondries de foie intactes, isolées, il n'est pas oxydé alors que ces mitochondries oxydent facilement les substrats dépendant du NAD^+ par exemple le malate, ceci grâce au NAD^+ intramitochondrial.

Or de nombreuses réactions forment NAD réduit dans le dialoplasme et pour que ces réactions se poursuivent en aérobose, les électrons doivent être transférés sur la chaîne respiratoire. Sachant que la membrane mitochondriale n'est pas perméable au NAD^+ , $NADP^+$ et à leurs formes réduites, schématiser ce transfert en mettant en évidence la notion de transporteurs.

3ème PARTIE : ÉTUDE D'UNE PHOSPHATASE ALCALINE PAR UNE MÉTHODE CINÉTIQUE OPTIMISÉE (20 points)

On veut étudier la phosphatase alcaline d'E. Coli. Cette enzyme catalyse l'hydrolyse des esters de l'acide o-phosphorique. La réaction utilisée pour mesurer l'activité de cette enzyme est l'hydrolyse du PNPP (para nitro phényl phosphate, sel disodique) de masse molaire $371,15 \text{ g.mol}^{-1}$. L'un des produits de l'hydrolyse : le PNP (para nitro phénol) est jaune en milieu alcalin et présente un maximum d'absorption à 410 nm. La réaction est effectuée à pH 10



Le coefficient d'extinction molaire du PNP à 410 nm est :

$$\epsilon = 17,5 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$$

1 - Enregistrement d'une courbe $A = f(t)$ (Document B)

A est l'absorbance -- t est le temps

Dans une cuve de spectrophotomètre on délivre :

- tampon pH 10 : 3 cm³
- solution de PNPP à 1,3 g.dm⁻³ : 0,2 cm³
- H₂O : 2,3 cm³
- solution d'enzyme : 0,2 cm³
- température : 37°C
- parcours optique : 1 cm

Enregistrer $A = f(t)$ à $\lambda = 410$ nm (figure 1)

Réglages de l'enregistreur :

- 20 cm = 2 unités d'absorbance
- défilement du papier = 10 mm . min⁻¹

1.1 - Calculer la vitesse initiale de cette réaction en micromoles de PNP formé par minute et par ml d'enzyme. Justifier ce calcul.

1.2 - Par la suite, pour calculer v_1 , au lieu d'enregistrer on utilisera une technique en deux points. Quelle durée d'incubation doit-on choisir sachant que pour ces essais la concentration en enzyme restera constante mais que la concentration en substrat augmentera ou sera la même que plus haut.

Soit t minutes le temps choisi. Justifier ce choix.

2 - Détermination des paramètres cinétiques

On donne le tableau de résultats suivant :

tube n°	0	1	2	3	4	5
tampon (ml)	3	3	3	3	3	3
solution de PNPP à 1,3 g.l ⁻¹ (ml)	0	0,2	0,3	0,5	1	1,5
H ₂ O (ml)	2,5	2,3	2,2	2	1,5	1
enzyme (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Incuber t minutes à 37°C. Bloquer la réaction par une solution d'hydroxyde de sodium.

Na OH (ml)	2	2	2	2	2	2
------------	---	---	---	---	---	---

On lit l'absorbance à $\lambda = 410 \text{ nm}$.

On donne, après lecture de l'absorbance, le résultat sous la forme $\Delta A \cdot \text{min}^{-1}$ c'est-à-dire la variation d'absorbance par minute à $\lambda = 410 \text{ nm}$ dans une cuve de parcours optique $p = 1 \text{ cm}$.

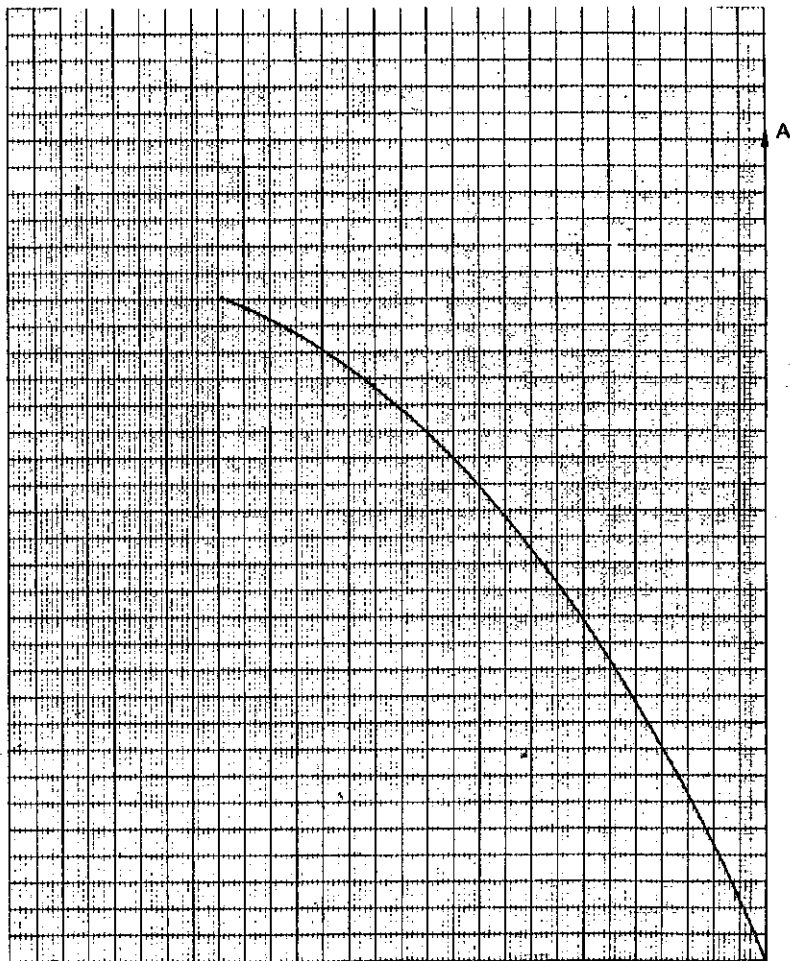
$\Delta A \cdot \text{min}^{-1}$	0	0,147	0,167	0,190	0,212	0,231
----------------------------------	---	-------	-------	-------	-------	-------

- 2.1 - Déterminer graphiquement K_M , constante de Michaelis. L'exprimer en mol.l^{-1} (mole de quoi ? par litre de quoi ?)
- 2.2 - Déterminer graphiquement V_{Max} , vitesse maximale. L'exprimer en micromoles de produit formé par minute et par ml d'extrait enzymatique.
- 2.3 - La courbe $A = f(t)$ enregistrée plus haut permettait-elle de déterminer la V_{Max} ? Justifier votre réponse.

DOCUMENT A

FRACTIONS N°	VOLUME EN cm^3 DES FRACTIONS	ABSORBANCE A 280 nm
1	1,5	0,000
2	1,5	0,010
3	1,5	0,290
4	1,5	0,200
5	1,4	0,050
6	1,3	0,000
7	1,2	0,050
8	1,2	0,100
9	1,2	0,050
10	1,2	0,000

DOCUMENT B



temps en minutes

Réglages de l'enregistreur

- 20 cm = 2 unités d'absorbance
- défilement du papier = 10 mm par minute

BIOLOGIE

I — MICROBIOLOGIE (Coef. : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets au choix.

PREMIER SUJET : LES ANTIBIOTIQUES

- 1 - Définition et mode d'action. (4 points)
- 2 - Influence d'un antibiotique sur la croissance bactérienne. (4 points)
- 3 - Production industrielle des antibiotiques : (4 points)
 - 3.1 - Comment peut-on sélectionner des souches productrices d'antibiotique ?
Citer quelques exemples de souches productrices, ainsi que les antibiotiques qu'elles produisent.
 - 3.2 - Expliquer par quelles méthodes on a pu améliorer le rendement des souches productrices.
- 4 - La résistance bactérienne aux antibiotiques. (4 points)
Expliquer comment on a essayé de résoudre le problème de la résistance aux antibiotiques tant au niveau de la fabrication, qu'à celui de la thérapeutique.
- 5 - Titrage d'un antibiotique dans une unité de production : donner le principe de 2 méthodes de titrage. (4 points)

OU

DEUXIEME SUJET : LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE CHEZ LES BACTÉRIES CHIMIOTROPHES

- 1 - Préciser ses divers aspects. (8 points)
- 2 - Montrer l'importance de ce métabolisme pour l'identification bactérienne à l'aide d'exemples empruntés aux travaux pratiques. (12 points)

II – PHYSIOLOGIE (Coef. : 2)

Le candidat traitera l'un des deux sujets au choix.

PREMIER SUJET : LA RESPIRATION

1 - L'automatisme ventilatoire : (2 points) analyse des mouvements respiratoires normaux

2 - Régulation ventilatoire

2.1 - Au cours d'une expérience de circulations céphaliques croisées, sur deux chiens (expérience de Frédéricq), on obtient les spiogrammes reproduits par la figure 1. Sachant que les deux enregistrements sont simultanés, analysez et interprétez l'effet de l'asphyxie temporaire du chien A (3 points).

2.2 - Action des nerfs pneumogastriques (6 points)

2.2.1 - Les effets respiratoires de la vagotomie et des excitations du bout central d'un des vagues sectionnés, sont donnés par la figure 2 (chien ♀, 9 kg, chloralosé et atropiné).

1. section du nerf pneumogastrique droit,
2. section du nerf pneumogastrique gauche,
3. excitation faible du bout central du vague droit,
4. excitation forte du bout central du vague droit.

Analysez et interprétez cet enregistrement. Conclusion ?

2.2.2 - Applications :

2.2.2.1 - Que provoque, chez l'animal, une forte insufflation d'air dans les 2 cas suivants :
 - nerfs X intacts ?
 - double vagotomie ?

2.2.2.2 - Le tracé supérieur de la figure 3 représente le pneumogramme obtenu avant et après section des pneumogastriques chez un chat dont le tronc cérébral a été sectionné. Le tracé inférieur est le début de l'électroneurogramme simultané du nerf phrénique : les potentiels d'action y apparaissent sous forme de petits traits verticaux ; terminez ce dernier tracé en fonction des données du pneumogramme (tracé à reproduire sur la copie).

2.3 - Régulation neuro-humorale (3 points)

2.3.1 - La tête d'un chien A qui n'est plus reliée au tronc que par les nerfs, est maintenue en survie par perfusion à partir d'un chien B, tandis que le tronc de A est maintenu en survie par une anastomose de sa crosse aortique avec la carotide d'un second chien perfuseur C.

2.3.1.1 - A la suite de l'injection d'adrénaline au chien C, on observe un ralentissement de la respiration du chien A, aboutissant à l'apnée : interprétez cette observation.

2.3.1.2 - Que seriez-vous en droit d'attendre à la suite de l'asphyxie du chien C ?

2.3.2 - Pourquoi est-il bon de traiter l'animal à l'atropine préalablement à la mise en évidence de l'effet de la vagotomie ?

3 - Respiration cellulaire (6 points)

3.1 - Quels sont les organites cellulaires responsables de la respiration cellulaire ? A l'aide d'un schéma soigneusement annoté, précisez leur ultrastructure.

3.2 - Rôle de ces organites dans l'oxydation biologique ?

OU

DEUXIEME SUJET :
REPRODUCTION ET TRANSMISSION DES CARACTERES

Madame X a les yeux bleus, son époux a les yeux bruns. Leur premier enfant, un garçon, a les yeux bleus.

Le caractère "yeux bruns" étant dominant sur le caractère "yeux bleus", quelle est la probabilité pour que le deuxième enfant de ce couple ait les yeux bleus ?

Pour répondre à cette question, vous exposerez successivement, en vous aidant de schémas clairs sur lesquels vous ne représenterez que la paire d'autosomes portant le caractère "couleur des yeux" et les hétérochromosomes :

1 - Le mécanisme de formation des gamètes (8 points) :

- phénomènes nucléaires de la méiose,
- phénomènes cytoplasmiques différenciant l'ovogénèse de la spermatogénèse et leur chronologie.

2 - Les aspects cytologiques de la fécondation (5 points).

3 - L'intérêt de ces deux processus (2 points) : méiose et fécondation, dans la conservation des caractères de l'espèce et la détermination du sexe de l'individu.

4 - La probabilité pour que l'enfant des époux X ait les yeux bleus (5 points).

Le caractère "couleur des yeux" est-il obligatoirement porté par un autosome comme l'indique le texte ? Justifiez votre réponse.

reines Naturelles : premier sujet

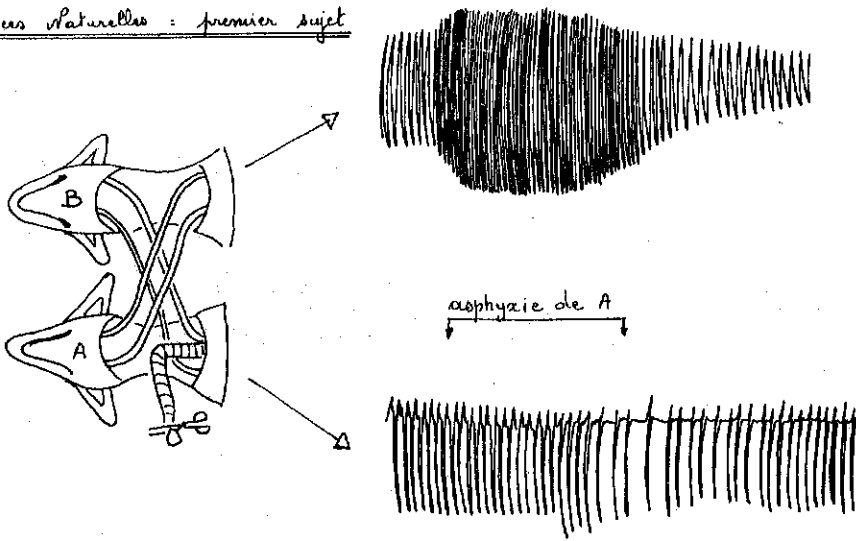


figure 1.

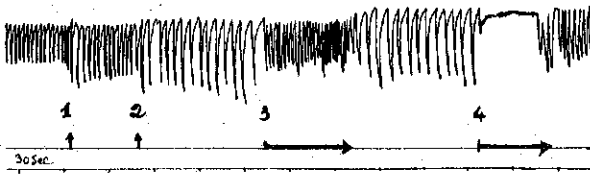


figure 2

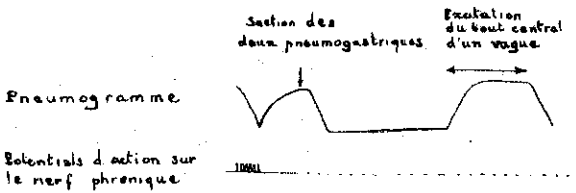


figure 3

PHYSIQUE ET CHIMIE

I – QUESTION DE COURS (8 points)

Le candidat doit obligatoirement traiter l'une des deux questions de cours suivantes, au choix :

1.1 - Polarimétrie

1.1.1 - Énoncer la loi de Biot - Unités.

Préciser l'influence de la température, de la concentration, de la longueur d'onde.

1.1.2 - Additivité de la loi de Biot.

1.1.3 - Schéma du polarimètre de Laurent.

1.1.4 - Expliquer à l'aide de trois schémas :

- la réalisation de l'équipénombre, le tube contenant de l'eau distillée,
- la destruction de l'équipénombre par la solution optiquement active,
- le rétablissement de l'équipénombre.

On y précisera la position des plans de section principale du polariseur et de l'analyseur, la position de l'axe optique de la lame 1/2 onde.

OU

1.2 - Distillation d'un mélange binaire

On donne le diagramme d'équilibre liquide-vapeur d'un mélange d'éthanol et d'éthanal, établi sous pression constante (voir document ci-joint).

1.2.1 - Nommer les deux courbes.

1.2.2 - Donner l'allure de la courbe représentant les variations de la température en fonction du temps avant, pendant et après l'ébullition, des mélanges suivants : 0 % d'éthanal - 100 % d'éthanal - 30 % d'éthanal. On supposera le chauffage régulier et négligeables les pertes de chaleur. Quelle est la composition de la première bulle de vapeur émise par chacun de ces mélanges ?

- 1.2.3 - Préciser le nombre et la nature des phases sous lesquelles se trouve le mélange à 50 % d'éthanol à la température de 30°C, puis 50°C, enfin 70°C.
- 1.2.4 - Un mélange de vapeurs d'éthanol et d'éthanal commence à se condenser à 60°C. Quelle est sa composition ?
- 1.2.5 - Donner le principe de l'opération permettant la séparation des deux constituants de ce mélange binaire.

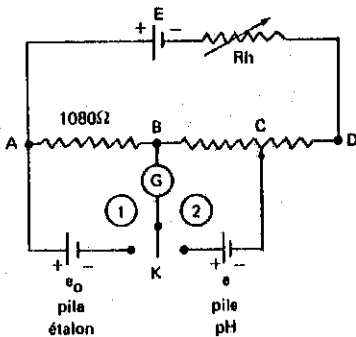
II – EXERCICES OBLIGATOIRES (12 points)

Exercice 1 (5 points)

- a) L'analyse a montré que 1 g de radium ${}_{88}^{226}\text{Ra}$ est en équilibre radioactif avec $6,5 \times 10^{-6}$ g de radon ${}_{86}^{222}\text{Rn}$. La période de demi-vie du radium est 1590 ans. Calculer la période du radon.
- b) L'activité de 1 g de radium est de $3,68 \cdot 10^{10}$ Bq. En déduire une valeur du nombre d'Avogadro.

Exercice 2 (7 points)

Le potentiomètre servant à mesurer la fem e d'une pile pH est constitué de la façon suivante :



E = générateur auxiliaire de fem constante

R_h = rhéostat de réglage

$R_{AB} = 1080 \Omega$

$e_0 = 1,08 \text{ V}$

- a) L'interrupteur K est fermé en (1). On agit sur le rhéostat de réglage pour que le galvanomètre reste au zéro. Dans la suite de l'exercice on ne modifie plus ce réglage. Quelle est l'intensité i du courant dans la résistance R_{AB} ?
- b) L'interrupteur K est fermé en (2). Le galvanomètre reste au zéro pour la position du curseur telle que $R_{BC} = x (\Omega)$. Établir l'expression de la fem e (en mV) en fonction de $x (\Omega)$.

c) La pile pH est constituée d'une électrode au calomel (pôle +) et d'une électrode à hydrogène (pôle -) plongeant dans une solution de pH = 7. L'équilibre du galvanomètre (K en 2) est obtenu pour $x = 648 \Omega$.

1. Rappeler le principe et le fonctionnement d'une électrode à hydrogène.
2. Déterminer le potentiel de l'électrode au calomel par rapport à l'électrode normale à hydrogène.

On prendra
$$\frac{2,3 RT}{F} = 58 \text{ mV}$$

B — CHIMIE (Coefficient 2)

I — CHIMIE GÉNÉRALE (10 points)

Soient les deux couples rédox suivants :



1. Lequel de ces deux couples est le plus réducteur à l'état standard (pH : 7 et T = 298 K).
2. Écrire la réaction globale d'oxydo-réduction entre ces deux couples dans le sens thermodynamiquement favorisé à l'état standard.
3. Calculer la valeur de $\Delta G'_0$ et de K' pour la réaction globale.
4. Calculer la variation d'enthalpie libre à 298 K lorsque les concentrations initiales sont, à pH = 7,

$$[\text{lactate}] = [\text{pyruvate}] = 10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$$

$$\frac{[\text{éthanal}]}{[\text{éthanol}]} = 0,17.$$
5. La variation d'entropie dans les conditions standard étant nulle, quelle sera qualitativement l'effet sur K' d'une élévation de température ?

N.B. : $E_1^{\circ'}$ et $E_2^{\circ'}$ représentent les potentiels normaux apparents.

Données : $F \approx 9,650.10^4 \text{ C}$.

$R \approx 8,36 \text{ J. mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$

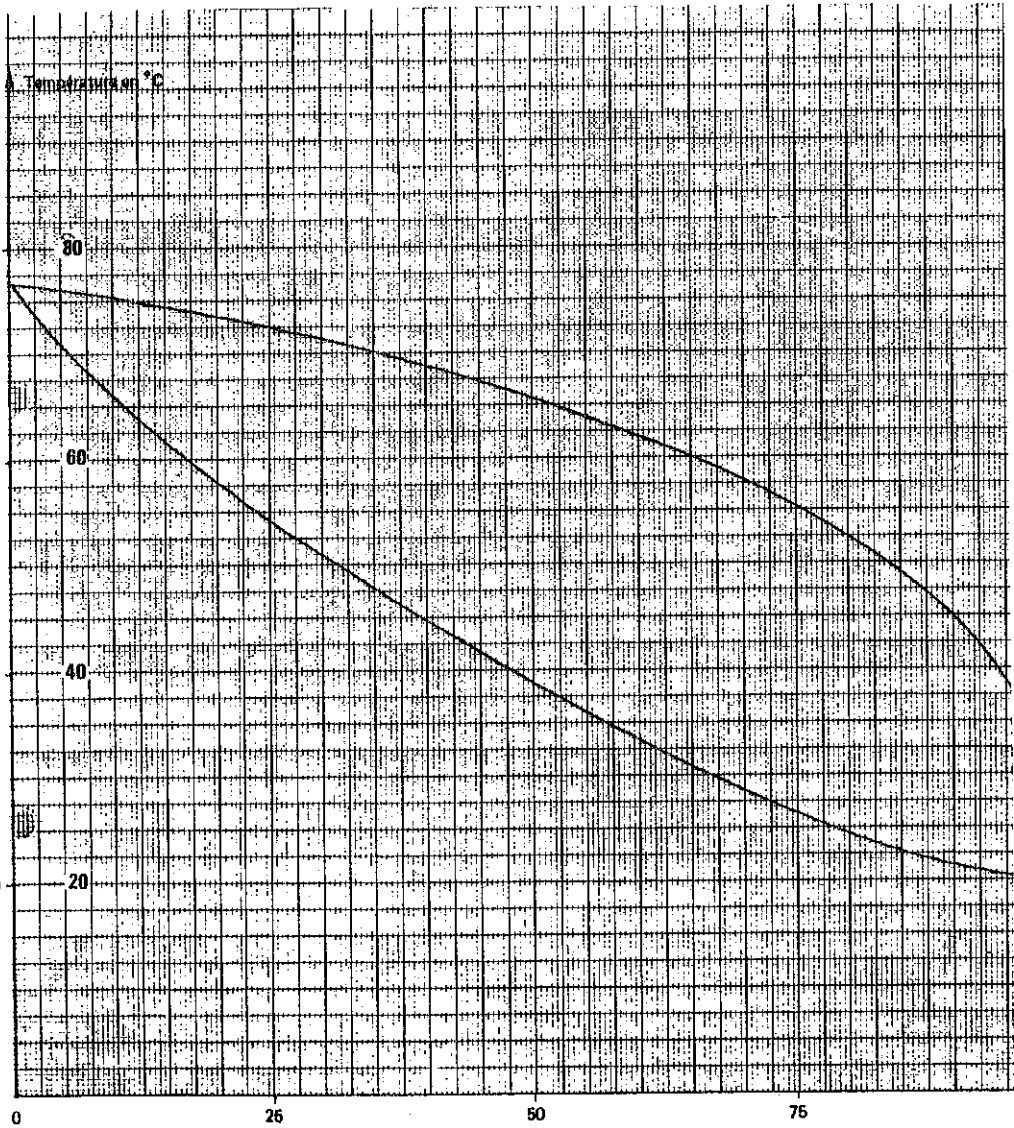
II – CHIMIE ORGANIQUE (10 points)

On fait réagir, en présence de chlorure d'aluminium, le monochlorométhane sur le benzène. Donner le mécanisme de la réaction. Quel est le produit A obtenu ?

On réalise la série de transformations :

- Mononitration de A par action d'acide nitrique fumant en présence d'acide sulfurique concentré. Donner le mécanisme de la mononitration et justifier l'obtention de deux isomères B et B'.
- Réduction de B et B' conduisant respectivement à C et C'. Donner un agent de réduction.
- Diazotation de C et C'. Préciser les conditions de réaction.
Les sels de diazonium sont décomposés par chauffage en milieu sulfurique pour donner deux composés D et D'.
- Oxydation de D et D' par action de KMnO_4 concentré après avoir temporairement protégé la fonction la plus facilement oxydable. Préciser comment.
Ils se forment respectivement E et E' ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$) qui en solution ont un $\text{pH} < 7$.
Donner les formules développées des différents composés formés.
- Expliquer pourquoi il existe un écart important entre les températures de fusion de E et E' (153°C et 214°C) après avoir attribué à chacun d'eux la valeur qui lui est propre.

DOCUMENT



FRANÇAIS

L'OBJECTIF DE L'EFFORT SCIENTIFIQUE

L'objectif premier de l'effort scientifique n'est pas, contrairement à une croyance largement répandue, l'efficacité dans l'action sur l'univers qui nous entoure, mais la cohérence dans notre représentation de cet univers : c'est avant tout une recherche de lucidité.

Pour illustrer le divorce entre la science telle qu'elle est vue par nos contemporains (et utilisée comme caution par certains) et la science telle qu'elle est vécue (ou devrait être vécue) par ceux qui la pratiquent, imaginons que nous posions autour de nous la question : «Quels ont été les principaux progrès de la science au XX^e siècle ?»

Beaucoup évoqueraient immédiatement l'invention de procédés nouveaux, ou de substances nouvelles tels que la pénicilline qui a permis de sauver tant de vies humaines, ou l'utilisation militaire de l'énergie nucléaire, qui a permis d'en supprimer tant. Ces découvertes ont donné à l'homme le *moyen d'agir* (pour le pire comme pour le meilleur, certes, mais c'est là, pense-t-on, la responsabilité des hommes politiques, non des savants).

D'autres citeraient la théorie de la relativité ou la double hélice de l'ADN. Grâce à Einstein, nous comprenons mieux la structure de l'espace-temps dans lequel nous évoluons ; grâce à Crick et Watson, nous voyons comment les fonctions de fabrication des protéines et de reproduction des informations biologiques, nécessaires au maintien et à la transmission de la vie, sont assurées. Ces découvertes nous ont donné le *moyen de comprendre*.

Mais la réponse de bien des scientifiques concernerait de tous autres apports, qui ne nous permettent ni de mieux comprendre le monde réel ni d'agir plus efficacement sur lui, mais de mieux formuler nos interrogations à son propos. L'attitude de l'homme de science n'est nullement celle d'un propriétaire terrien qui, acquérant une nouvelle parcelle, en apprécie le sol, imagine la meilleure façon de la cultiver et rêve aux récoltes à venir ; au contraire, lorsqu'un nouveau terrain lui échoit, il se précipite à ses frontières et n'est plus obsédé que par une question : que cachent les murs qui le bornent, comment aller au-delà ? Les progrès scientifiques les plus décisifs sont ceux qui nous donnent le *moyen de mieux interroger*.

Il se trouve que notre siècle a été, dans ce domaine, particulièrement fécond. Mais les apports conceptuels les plus nouveaux ont été camouflés par l'accumulation des succès de la technologie, qui se fait souvent passer pour la science. L'émerveillement, le saisissement, provoqués par les pouvoirs nouveaux que l'homme a pu se donner grâce à un nouveau savoir-faire, nous empêchent de prendre conscience des révolutions conceptuelles qui se sont simultanément produites. Un retard considérable peut ainsi apparaître entre la mise au point d'une notion par les scientifiques et sa diffusion dans l'opinion.

Un cas particulièrement net est celui de notre compréhension des organismes vivants dits «sexués». Il a fallu attendre les premières années du XX^e siècle pour que la découverte faite par Mendel dès 1865 soit enfin comprise : l'individu, sous son apparence unitaire, insécable, est en fait un être à double commande, dont chaque caractère élémentaire est sous la dépendance non d'un, mais de deux facteurs. Cette «duplicité» est si contraire au sens commun qu'elle n'a pu être acceptée par la communauté scientifique qu'au bout d'un demi-siècle et qu'elle n'est pas encore vraiment acceptée par l'opinion. Pour illustrer cette incompréhension profonde du processus central de la transmission de la vie, la conception d'un enfant, il suffit d'évoquer les livres d'éducation sexuelle qui expliquent à nos enfants : «Pour que tu naisses, ton papa a déposé une graine dans le ventre de ta maman» ; l'intention est bonne, l'assentiment est général ; pourtant, l'erreur est totale, car cette phrase nie la symétrie des rôles des deux parents en donnant à l'un la fonction active du semeur, à l'autre la fonction passive du terrain. Le mécanisme réel par lequel chaque parent transmet la moitié des informations biologiques qu'il avait reçues lui-même défie notre imagination, et les mots mêmes que nous employons sont à l'opposé de la vérité.

Albert JACQUARD

Au péril de la science

(Editions du Seuil pp. 12-13-14)

QUESTIONS

- 1 - Résumez le texte en une quinzaine de lignes.
- 2 - Expliquez les mots ou expressions soulignés :
 - cohérence
 - apports conceptuels.
- 3 - Commentez la formule : «Les progrès scientifiques les plus décisifs sont ceux qui nous donnent le moyen de mieux interroger.»

(Développement composé, d'une quarantaine de lignes).

Barème de notation

Question 1	8 points
Question 2	2 points
Question 3	10 points

ANALYSES BIOCHIMIQUES (+physique + montage)

187

A – RÉDACTION PRÉLIMINAIRE

(Durée : 30 min - Coef. : 1)

Documents non autorisés

1 - Dosage du glucose par la glucose-oxydase :

- Principe.
- Conditions opératoires.
- Intérêt et limites de cette méthode.

2 - Le coenzyme NAD^+ :

- Caractéristiques spectrophotométriques de ses deux formes.
- Application à partir d'un exemple, au dosage d'un substrat.

B – MANIPULATION

(Durée : 5 h 30 - Coef. : 5)

Documents personnels autorisés

DÉTERMINATION D'UN RAPPORT P/O

On veut établir le rapport P/O d'une suspension mitochondriale.

Définition :

$$P/O = \frac{\text{nombre de moles d'atomes de P consommés pour former de l'ATP}}{\text{nombre de moles d'atomes d'oxygène consommés}}$$

Le milieu réactionnel de départ (suspension X) contient :

- du glucose
- des phosphates minéraux
- du succinate
- de l'ADP
- et la suspension mitochondriale.

Après addition des mitochondries dans ce milieu, il y a respiration. L'ADP étant limitant, la respiration s'arrête quand il n'y a plus d'ADP.

Il y a consommation de $0,125 \mu\text{mol O}_2$ par mg de protéines mitochondriales.

Le milieu réactionnel final (suspension Y) contient :

- du glucose
- des phosphates minéraux
- du succinate
- de l'ATP
- divers métabolites
- et la suspension mitochondriale

En centrifugeant la suspension X et Y on obtient respectivement la solution A et la solution B.

La solution C provient de la minéralisation de la suspension X.

On dose successivement :

- le phosphore minéral
- le phosphore d'origine nucléotidique
- l'ATP
- le glucose
- l'azote mitochondrial.

1 - Dosage colorimétrique du phosphore minéral et du phosphore d'origine nucléotidique (méthode de Briggs)

1.1 - Détermination du phosphore minéral des solutions A et B.

1.1.1 - Dans un tube à essai, introduire :

- | | |
|--|--------------------|
| - solution A | 1 cm ³ |
| - Réactif sulfomolybdique | 1 cm ³ |
| - Solution d'hydroquinone à 10 g.dm ⁻³ | 1 cm ³ |
| - Solution de sulfite de sodium à 200 g.dm ⁻³ | 1 cm ³ |
| - Eau distillée | compléter à |
| | 15 cm ³ |

Laisser 20 min à l'obscurité. Mesurer l'absorbance au spectrophotomètre à 700 nm en réglant le zéro de l'appareil à l'aide d'un témoin réactifs.

1.1.2 - Même dosage sur 1 cm³ de solution B.

1.2 - Détermination du phosphore d'origine nucléotidique de la solution B.

Un traitement au bain-marie bouillant, 7 min, en milieu acide, hydrolyse l'ATP. On dose le phosphore total de la solution B après cette hydrolyse.

Dans un tube à essai, introduire :

- 5 cm³ de solution B
- 5 cm³ de solution d'acide sulfurique à 1 mol.dm⁻³

Mettre 7 min exactement au bain-marie bouillant. Refroidir. Transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 25 cm³. Compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée. Effectuer le dosage sur 5 cm³ d'hydrolysats.

1.3 - Étalonnage

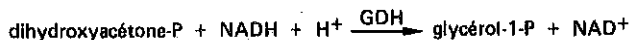
A partir d'une solution mère de phosphate renfermant 2,722 g de K₂HPO₄ anhydre par dm³, préparer une gamme d'étalonnage correspondant à des concentrations en phosphore allant de 0 à 4 μmoles de phosphore par tube.

- Établir un tableau détaillé donnant :
 - la composition de la gamme d'étalonnage,
 - la composition des tubes-essais,
 - les absorbances.
- Déduire graphiquement les concentrations molaires
 - en phosphore minéral des solutions A et B
 - en phosphore d'origine nucléotidique de la solution B.

2 - Dosage de l'ATP de la solution B

2.1 - Principe du dosage

L'ATP est dosé en point final grâce à la séquence des réactions suivantes :



2.2 - Réactifs

On dispose de 3 réactifs :

- réactif 1 : tampon
glycérate-3-P
- réactif 2 : NADH
- réactif 3 : suspension d'enzymes :
PGK : phosphoglycérate-kinase
GAPDH : glycéraldéhyde-3-P déshydrogénase
TIM : triose-phosphate isomérase
GDH : glycérol-phosphate déshydrogénase

2.3 - Mode opératoire

Opérer directement dans les cuves de spectrophotométrie.

On dispose d'une solution étalon à $1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ d'ATP.

Introduire dans une cuve :	Étalon	Dosage
Solution 1	2,00 cm ³	2,00 cm ³
Solution 2	0,20 cm ³	0,20 cm ³
Étalon dilué au 1/3	0,20 cm ³	—
Solution B diluée au 1/4	—	0,20 cm ³
Mélanger avec un petit agitateur. Lire l'absorbance A ₁ à 340 nm contre l'air.		
Suspension 3	0,020 cm ³	0,020 cm ³
Mélanger. Lire après 10 min l'absorbance A ₂ .		

2.4 - Résultats

Calculer la concentration molaire en ATP de la solution B.

3 - Dosage enzymatique du glucose des solutions A et B

3.1 - Réactifs

On procède par la méthode à la glucose-oxydase. On dispose de :

- une solution 1 : standard glucose à 2 mmol.dm^{-3}
- une solution 2 : tampon/enzymes/chromogène (POISON). (utiliser des propipettes)

3.2 - Mode opératoire

Diluer les solutions A et B au 1/10.

Introduire dans des tubes à essai :

	Témoin	Standard	Essai A	Essai B
Eau distillée	0,2 cm ³	—	—	—
Solution 1	—	0,2 cm ³	—	—
Solution A au 1/10	—	—	0,2 cm ³	—
Solution B au 1/10	—	—	—	0,2 cm ³
Solution 2 (POISON)	5,0 cm ³	5,0 cm ³	5,0 cm ³	5,0 cm ³

Mélanger et laisser reposer à l'abri de la lumière solaire directe. Après 25 à 50 min, lire l'absorbance des essais et l'absorbance du standard contre le témoin à 610 nm.

3.3 - Résultats

Calculer les concentrations molaires en glucose des solutions A et B.

Indiquer si leur différence est significative ($\geq 5\%$).

4 - Dosage de l'azote de la solution C

La solution C est une minéralisat des protéines mitochondriales de la suspension X. La minéralisation équivaut à une dilution au 1/2 par rapport à la suspension X.

4.1 - Mode opératoire

Introduire dans un appareil de Parnas et Wagner 10 cm³ de solution C. Ajouter 10 à 15 cm³ de lessive de soude décarbonatée et quelques gouttes de phénolphtaléine.

Distiller un volume d'environ 10 cm³. On recueille le distillat dans 10 cm³ de solution d'acide sulfurique environ $0,01 \text{ mol.dm}^{-3}$, avec quelques gouttes de rouge de méthyle.

Doser par une solution d'hydroxyde de sodium exactement $0,02 \text{ mol.dm}^{-3}$.

Réaliser un témoin.

4.2 - Résultats

Calculer la concentration massique en azote de la solution C.

En déduire la concentration en protéines de la suspension X (sachant que celles-ci contiennent 16 % d'azote).

5 - Conclusion

Compléter le tableau de résultat ci-joint.

DONNÉES : K = 39,1
 P = 31
 O = 16
 N = 14
 H = 1

CONCENTRATIONS MOLAIRES VOLUMIQUES	SOLUTION A (centrifugation de X)	SOLUTION B (centrifugation de Y)
1 : Phosphore minéral		
2 : Phosphore d'origine nucléotidique		
3 : ATP		
4 : Glucose		

N.B. - A et B ont même composition que X et Y hormis les protéines mitochondriales.

- Comparer (1) et (3)
- Comparer (2) et (3)

Conclusions

- Solution X → Concentration massique en protéines = g.dm⁻³

- Rapport P/O = (Justifier le calcul)

- Le glucose est-il consommé ici ? Etait-ce prévisible ?

ANALYSES CHIMIQUES

(+ physique + montage)

A - RÉDACTION PRÉLIMINAIRE

Documents non autorisés

(Durée : 0 h 30 - Coef. : 1)

DOSAGE POTENTIOMÉTRIQUE D'UNE SOLUTION D'IONS Cl^- PAR UNE SOLUTION ÉTALONNÉE DE NITRATE D'ARGENT

1 - Principe (10 points)

- 1.1 - Exposer le principe général de ce dosage.
- 1.2 - Justifier le choix des électrodes à utiliser.
- 1.3 - Effectuer un schéma, détaillé au niveau des électrodes, du montage à réaliser.

2 - Résultats (10 points)

- 2.1 - Donner l'allure de la courbe $E = f(v)$ et commenter ses différentes parties.
- 2.2 - Exprimer la concentration molaire en ions Cl^- .
- 2.3 - Expliquer comment, à partir de la courbe $E = f(v)$, on pourrait effectuer une vérification expérimentale du produit de solubilité du chlorure d'argent. On précisera les données indispensables permettant cette vérification.
- 2.4 - Quelle serait l'allure de la courbe $E = f(v)$ dans le cas d'un mélange d'ions iodure et d'ions chlorure ?

Produits de solubilité à 25°C

$$K_s(\text{AgCl}) = 2 \cdot 10^{-10}$$

$$K_s(\text{AgI}) = 8 \cdot 10^{-17}$$

B - MANIPULATION

Documents personnels autorisés

(Durée : 4 h 30 - Coef. : 4)

DOSAGE D'UNE SOLUTION(S) CONTENANT NH_4Cl , KCl , K^+ , CaCl_2 , $2\text{H}_2\text{O}$

1 - Dosage conductimétrique des ions NH_4^+ de (S) par une solution d'hydroxyde de sodium à environ $0,4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

- 1.1 - Étalonage de la solution d'hydroxyde de sodium à environ $0,4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ par pesée d'hydrogénéphthalate de potassium (noté KHA).

Choisir l'indicateur coloré convenable.

Deux pesées sont exigées.

1.2 - Dosage de (S)

A une prise d'essai de (S) de 10 cm^3 ajouter au moins 150 cm^3 d'eau distillée, davantage si cela permet une meilleure utilisation de l'échelle du conductimètre (un essai préliminaire rapide est conseillé).

Doser par la solution d'hydroxyde de sodium contenue dans une microburette de 5 cm^3 .

Tracer sur papier millimétré la courbe $\frac{1}{R} = f(v)$.

Deux essais sont obligatoires.

2 - Dosage potentiométrique des ions halogénures de (S) par une solution de nitrate d'argent à environ $0,07 \text{ mol.dm}^{-3}$

Monter le potentiomètre avec les électrodes convenables (électrode de référence au sulfate mercurieux).

Prise d'essai de (S) : 5 cm^3 .

Doser par la solution de nitrate d'argent à environ $0,07 \text{ mol.dm}^{-3}$ (concentration molaire exacte indiquée sur le flacon).

Tracer la courbe $E = f(v)$.

3 - Dosage complexométrique de (S) par une solution d'EDTA à environ $0,01 \text{ mol.dm}^{-3}$

3.1 - Étalonnage de la solution d'EDTA à environ $0,01 \text{ mol.dm}^{-3}$ par une solution étalon (E) d'ions Ca^{2+} à exactement $0,012 \text{ mol.dm}^{-3}$.

Prise d'essai de solution (E) : 10 cm^3 .

Ajouter 50 cm^3 d'eau distillée, ajuster à $\text{pH} = 12,5$ par addition d'une solution d'hydroxyde de sodium à environ 2 mol.dm^{-3} .

Titrer par la solution d'EDTA en présence de réactif de Patton et Reeder (en très faible quantité) jusqu'au virage au bleu de l'indicateur. Effectuer plusieurs essais.

Soit v_E le volume retenu pour ce dosage.

3.2 - Dosage de (S)

Prise d'essai de (S) : 10 cm^3 .

Opérer dans les mêmes conditions qu'au 3.1.

Soit v_S le volume retenu pour ce dosage.

4 - Compte-rendu et résultats

4.1 - Compte-rendu

4.1.1 - Donner la relation littérale utilisée pour le calcul de C_{NaOH} puis de $C_{\text{NH}_4^+}(\text{S})$ en mol.dm^{-3} .

Commenter l'allure de la courbe $\frac{1}{R} = f(v)$.

4.1.2 - Déterminer les points équivalents par la méthode des tangentes.

4.1.3 - Expression littérale de $C_{\text{Ca}^{2+}}(\text{S})$ en mol.dm^{-3} en fonction de v_E , v_S et de la concentration molaire en ions Ca^{2+} de la solution étalon (E).

4.2 - Résultats

4.2.1 - Rassembler les résultats en un tableau dans lequel figureront les pesées effectuées, les prises d'essai, les volumes aux points équivalents des différents dosages, les résultats des concentrations molaires (en mol.dm^{-3}) des ions NH_4^+ , I^- , Cl^- et Ca^{2+} de la solution (S).

4.2.2 - En déduire la concentration molaire (en mol.dm^{-3}), puis la concentration massique (en g.dm^{-3}) en NH_4Cl , KCl , KI et $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ de la solution (S).

Données

Conductivité molaire ionique à 25°C (en $S.m^2.mol^{-1}$)

$$NH_4^+ \text{ ---- } 73.10^{-4}$$

$$Na^+ \text{ ---- } 50.10^{-4}$$

$$H_{aq}^+ \text{ ---- } 350.10^{-4}$$

$$OH^- \text{ ---- } 198.10^{-4}$$

Produit de solubilité à 25°C

$$K_s(AgCl) = 2.10^{-10}$$

$$K_s(AgI) = 8.10^{-17}$$

Masse molaire (en $g.mol^{-1}$)

$$KHA \text{ } 204,23$$

$$NH_4Cl \text{ } 53,49$$

$$KCl \text{ } 74,56$$

$$KI \text{ } 166,01$$

$$CaCl_2, 2H_2O \text{ } 147,02$$

PREMIER JOUR Durée : 3 h

PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (60 points)

1 - Recherche et dénombrement des coliformes et des *Escherichia coli* dans différents échantillons d'eau

1.1 - Dans une eau d'alimentation.

Technique des membranes filtrantes.

1.2 - Dans une eau de baignade :

Recherche en milieu liquide.

Le test présomptif a été préparé : 5 tubes de bouillon lactosé double concentration avec chacun 10 cm³ d'eau à analyser et 2 tubes du même milieu à simple concentration avec respectivement 1 cm³ et 0,5 cm³ d'eau à analyser ont été mis à incuber 48 heures à 30°C.

A partir de ce test :

- Indiquer et interpréter les résultats.
- Préparer le test de Mackenzie (demander les milieux nécessaires).
- Faire un isolement sur gélose EMB.

2 - Réalisation d'un antibiogramme sur un germe pathogène isolé

Méthode de diffusion en milieu solide.

DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (40 points)

Identification à partir de l'étude de ses caractères morphologiques et biochimiques, d'un germe isolé d'un plat cuisiné.

Justification des milieux demandés.

DEUXIEME JOUR Durée : 2 h

PREMIERE PARTIE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (60 points)

1 - Recherche et dénombrement des coliformes et des *E. coli* dans différents échantillons d'eau

1.1 - Dans une eau d'alimentation

Technique des membranes filtrantes.

Résultats et interprétation.

1.2 - Dans une eau de baignade

Recherche en milieu liquide.

- Résultats et interprétation du test de Mackenzie.
- Conclusion générale.
- Observations macroscopiques et microscopiques des colonies isolées sur EMB.
Interprétation.

Que faudrait-il faire pour compléter cette étude ?

2 - Lecture de l'antibiogramme et expression des résultats

DEUXIEME PARTIE : MICROBIOLOGIE SYSTEMATIQUE (40 points)

Identification du germe isolé d'un plat cuisiné, à compléter si nécessaire par d'autres tests.

