

**Annales et éléments de  
corrigé.**

**BTS Bioanalyses et  
contrôles.**

**Sessions 2008 et 2009.**

Éditions UPBM – ÉDILION  
Lycée La Martinière - Duchère  
Avenue Andreï Sakharov  
69338 LYON Cedex 9  
<http://www.upbm.org>

Tous les sujets des annales BioAC ont été collectés et mis en page par Christine Benayoun. Nous tenons à remercier les nombreux professeurs d'enseignement général et technologique qui nous ont fait parvenir les sujets et ont participé aux propositions des corrigés et à leur relecture, ainsi qu'à la mise en forme de l'ouvrage : Claudine Walther, Catherine Abada, Lucile Tiger, Fabien Cézard, André Le Texier, Isabelle Moizan, Annick Carême, Jean Noël Joffin, Sylvain André...

Photos de couverture : (Fabien Cézard et Christine Benayoun)

– Gauche : FPLC ; détermination de la CMI d'un antibiotique en microméthode ; culture différentielle sur milieu sélectif (Mossel).

– Droite : dénombrement des phages (plages de lyse) par la technique de la double-couche ; fibroblastes transfectés par la GFP, en microscopie optique à fluorescence.

ISBN 978-2-910069-57-5



## TABLE DES MATIERES

REGLEMENT D'EXAMEN.....	4
E1-U10 ANGLAIS 2008.....	5
E2-U21 MATHÉMATIQUES 2008.....	6
E2-U22 SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES 2008.....	9
E3-U31 BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008.....	12
E3-U32 MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE 2008.....	22
E3-U33 BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008.....	32
E4-U40 SCIENCES ET TECHNOLOGIES BIOINDUSTRIELLES 2008.....	38
E1-U10 ANGLAIS 2009.....	43
E2-U21 MATHÉMATIQUES 2009.....	44
E2-U22 SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES 2009.....	46
E3-U31 BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009.....	50
E3-U32 MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE 2009.....	58
E3-U33 BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009.....	67
E4-U40 SCIENCES ET TECHNOLOGIES BIOINDUSTRIELLES 2009.....	74
ELEMENTS DE CORRIGE ANGLAIS 2008.....	80
ELEMENTS DE CORRIGE MATHÉMATIQUES 2008.....	81
ELEMENTS DE CORRIGE SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES 2008.....	82
ELEMENTS DE CORRIGE BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008.....	85
ELEMENTS DE CORRIGE MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008.....	90
ELEMENTS DE CORRIGE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008.....	95
ELEMENTS DE CORRIGE STBI 2008.....	97
ELEMENTS DE CORRIGE ANGLAIS 2009.....	99
ELEMENTS DE CORRIGE MATHÉMATIQUES 2009.....	100
ELEMENTS DE CORRIGE SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES 2009.....	102
ELEMENTS DE CORRIGE BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009.....	105
ELEMENTS DE CORRIGE MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009.....	109
ELEMENTS DE CORRIGE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009.....	113
ELEMENTS DE CORRIGE SCIENCES ET TECHNIQUES BIOINDUSTRIELLES 2009.....	116

## REGLEMENT D'EXAMEN

			Voie scolaire, apprentissage, formation professionnelle continue dans les établissements publics ou privés non habilités, enseignement à distance et candidats justifiant de 3 ans d'expérience professionnelle	Formation professionnelle continue dans les établissements publics habilités	
Epreuves	Unités	Coef	Forme	Durée	Forme
<b>E1 Anglais</b>	U10	2	ponctuelle écrite	2h	2 situations d'évaluation
<b>E2 Mathématiques et sciences physiques et chimiques</b>		5	ponctuelle écrite	4h	
Sous-épreuve de mathématiques	U21	2	ponctuelle écrite	2h	2 situations d'évaluation
Sous-épreuve de sciences physiques et chimiques	U22	3	ponctuelle écrite	2h	2 situations d'évaluation
<b>E3 Biochimie, biologie et technologies d'analyse</b>		9	ponctuelle écrite	8h	
Sous-épreuve de biochimie et technologies d'analyse	U31	3	ponctuelle écrite	3h	2 situations d'évaluation
Sous-épreuve de microbiologie et technologies d'analyse	U32	3	ponctuelle écrite	3h	2 situations d'évaluation
Sous-épreuve de biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse	U33	3	ponctuelle écrite	2h	2 situations d'évaluation
<b>E4 Sciences et technologies bioindustrielles</b>	U40	3	ponctuelle écrite	2h	2 situations d'évaluation
<b>E5 Techniques d'analyses et de contrôles et opérations unitaires</b>		10	CCF		
Sous-épreuve : techniques de biochimie	U51	4	ponctuelle pratique		ponctuelle pratique
	U52	4	ponctuelle pratique		ponctuelle pratique
Sous-épreuve : techniques de microbiologie	U53	2	ponctuelle pratique		ponctuelle pratique
Sous-épreuve : techniques de biologie cellulaire et moléculaire					
<b>E6 Soutenance de projet</b>	U60	4	ponctuelle orale	45 min	1 situation d'évaluation
<b>Epreuve facultative : langue vivante étrangère</b>	UF1	1*	ponctuelle orale	20 min	ponctuelle orale

\* Seuls les points au dessus de la moyenne sont pris en compte.

## E1-U10 ANGLAIS 2008

*Durée : 2 heures Coefficient 2  
L'usage de la calculatrice est interdit.  
L'usage d'un dictionnaire bilingue est autorisé*

### Call for 90% cut in carbon emissions

#### ***Leading researchers say government has misled the public over climate change***

Drastic action is needed if Britain is to have any chance of avoiding catastrophic climate change, a ground-breaking environmental report warned last week.

In the first big study of what households, business and government may have to do to cut carbon emissions, the leading climate change research body has revised upwards by 50% the cuts in greenhouse gas emissions that need to be achieved by 2050.

The government-funded Tyndall Centre for Climate Change Research says this is necessary because successive governments have failed to include aviation or shipping emissions in their calculations.

At the moment the government's estimate is that a 60% cut in emissions is needed to avoid a 2C increase in temperatures by 2050. But the authors of the latest study conclude that a 90% cut in emissions is needed. Their data suggests that when aviation and shipping is factored in, UK carbon emissions have not fallen at all since 1990.

The report, commissioned by Friends of the Earth and the Cooperative Bank, severely criticizes successive governments for misleading the public on what has been achieved and what needs to be done. It proposes radical ideas to effect change, predicting that most buildings will have to generate their own electricity, double-decker trains will transport people to work, and planes might not be allowed to take off unless they are nearly full.

But the report says that 90% cuts are achievable if measures are taken within four years to stabilise emissions. Beyond 2010, it says, annual cuts of 9% will be needed for the next 20 years. If not, say the authors, much more drastic cuts will be needed later.

The authors also propose that Britain become the first country in the world to introduce a wide-ranging carbon tax or an emissions trading scheme.

*Adapted from John Vidai, The Guardian Weekly, September 22-28, 2006*

## QUESTIONS

### 1 COMPRÉHENSION (10 points)

1. Faire un compte rendu de l'article en français en mettant en évidence les idées essentielles (environ 130 mots  $\pm$  10 %).
2. Traduire en français de la ligne 9 ('*At the moment ...*') à la ligne 12 ('*...since 1990*').

### 2 EXPRESSION EN ANGLAIS (10 points)

**Answer the following questions in English.**

1. You are a member of Friends of the Earth. Write a short paragraph (70 words  $\pm$  10%) explaining the goals of your organization.
2. What can you personally do to limit pollution in your daily life. Give examples. (130 words  $\pm$  10%).

## E2-U21 MATHÉMATIQUES 2008

*Durée : 2 heures Coefficient 2*

*La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.*

*L'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé.*

*Le formulaire de mathématiques est joint au sujet (NON REPRODUIT ICI).*

### 1 EXERCICE 1 (10 points)

Dans cet exercice on s'intéresse à l'évolution de la température d'une tasse de thé.

*Les deux parties A et B de cet exercice peuvent être traitées de façon indépendante.*

#### 1.1 Résolution d'une équation différentielle

On considère l'équation différentielle (E):  $y' + 0,05 y = 1,05$ , où  $y$  est une fonction de la variable réelle  $t$ , définie et dérivable sur  $[0, +\infty[$ , et  $y'$  la fonction dérivée de  $y$ .

1.1.1 Déterminer les solutions sur  $[0, +\infty[$  de l'équation différentielle ( $E_0$ ):  $y' + 0,05 y = 0$ .

1.1.2 Soit  $h$  la fonction définie sur  $[0, +\infty[$  par  $h(t) = a$ , où  $a$  est un nombre réel.

Déterminer le nombre réel  $a$  pour que la fonction  $h$  soit une solution particulière de l'équation différentielle (E).

1.1.3 En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (K).

1.1.4 Déterminer la solution  $f$  de l'équation différentielle (E) qui prend la valeur 100 pour  $t = 0$ .

#### 1.2 Étude d'une fonction et calcul intégral

Soit  $f$  la fonction définie sur  $[0, +\infty[$  par  $f(t) = 79 e^{-0,05t} + 21$ .

On désigne par  $C$  la courbe représentative de  $f$  dans un repère orthonormal  $(O; \vec{i}, \vec{j})$

La courbe  $C$  est donnée annexe, à rendre avec la copie.

##### 1.2.1

1.2.1.1 Déterminer  $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t)$ .

1.2.1.2 Déduire du 1.2.1.1) que la courbe  $C$  admet une asymptote  $\Delta$  dont on donnera une équation. Tracer la droite  $\Delta$  sur la figure de l'annexe.

1.2.2 Résoudre par le calcul dans  $[0, +\infty[$  l'équation  $f(t) = 21,1$ .

Donner la valeur exacte de la solution, puis une valeur approchée arrondie à  $10^{-1}$ .

##### 1.2.3

1.2.3.1 On désigne par  $f'$  la fonction dérivée de la fonction  $f$

Calculer  $f'(t)$  pour tout  $t$  de  $[0, +\infty[$

1.2.3.2 Établir le tableau de variation de  $f$

1.2.4 Démontrer que la valeur moyenne  $V_m$  de la fonction  $f$  sur  $[0, 120[$  est:

$$V_m = 21 + \frac{79}{6}(1 - e^{-6})$$

#### 1.3 Exploitation des résultats des parties 1.1 et 1.2

Du thé est mis à infuser dans une tasse placée dans une pièce où la température ambiante, supposée constante, est de  $21^\circ\text{C}$ .

Dans ce qui suit,  $t$  est le temps exprimé en minutes.

On admet que la température du thé exprimée en degrés Celsius est  $f(t)$ , où  $f$  est la fonction définie au début de la partie 1.2).

1.3.1 En utilisant le résultat de la question 1.2.2.), donner, à la minute près, l'instant au-delà duquel la température du thé est inférieure à  $21,1^\circ\text{C}$ .

1.3.2 Déterminer graphiquement, à la minute près, l'instant où la température du thé est de  $60^\circ\text{C}$ .

On fera apparaître les constructions utiles sur la figure.

## 2 EXERCICE 2 (10 points) *Les trois parties de cet exercice sont indépendantes*

Un industriel de l'agroalimentaire conditionne du ketchup dans des bouteilles en verre. Dans cet exercice, les résultats approchés sont à arrondir à  $10^{-2}$

### 2.1 Loi normale

On désigne par  $X$  la variable aléatoire qui à chaque bouteille prélevée au hasard dans la production d'une journée associe la masse de sauce, exprimée en grammes, contenue dans cette bouteille.

On suppose que la variable aléatoire  $X$  suit la loi normale de moyenne 570 et d'écart type 4.

Une bouteille n'est commercialisée que si la masse de sauce qu'elle contient est comprise entre 560 grammes et 580 grammes.

2.1.1 Calculer la probabilité qu'une bouteille prélevée au hasard dans la production de la journée soit commercialisée.

2.1.2 Calculer la probabilité que la masse de sauce soit supérieure ou égale à 565 grammes.

### 2.2 Loi binomiale et approximation d'une loi binomiale par une loi de Poisson

2.2.1 Dans un stock important de bouteilles destinées aux livraisons en France, 10% des bouteilles contiennent une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

Les bouteilles sont livrées en France par cartons de 16.

On prélève au hasard 16 bouteilles de ce stock pour vérification. Le stock est assez important pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 16 bouteilles.

On considère la variable aléatoire  $Y$  qui, à tout prélèvement de 16 bouteilles, associe le nombre de bouteilles de ce prélèvement qui contiennent une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

2.2.1.1 Justifier que la variable aléatoire  $Y$  suit une loi binomiale dont on déterminera les paramètres.

2.2.1.2 Calculer la probabilité qu'aucune bouteille de ce prélèvement ne contienne une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

2.2.1.3 Calculer la probabilité que, dans un tel prélèvement, une bouteille au plus, contienne une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

2.2.2 Les bouteilles destinées à l'exportation sont conditionnées par colis de 100.

On prélève au hasard 100 bouteilles pour vérification dans le stock destiné à l'exportation. Le stock est assez important pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 100 bouteilles.

On considère la variable aléatoire  $Z$  qui, à tout prélèvement de 100 bouteilles, associe le nombre de bouteilles de ce prélèvement qui contiennent une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

On admet que la variable aléatoire  $Z$  suit la loi binomiale de paramètres 100 et 0,1.

2.2.2.1 On considère que la loi suivie par  $Z$  peut être approchée par une loi de Poisson. Déterminer le paramètre  $X$  de cette loi de Poisson.

2.2.2.2 On désigne par  $Z_1$  une variable aléatoire suivant la loi de Poisson de paramètre  $X$ , où  $X$  est la valeur obtenue au 2.2.2.1). Calculer  $P(Z_1 \leq 5)$ .

### 2.3 Intervalle de confiance

Dans cette partie, on s'intéresse à la masse de sucre, exprimée en grammes, contenue dans chaque bouteille.

On prélève au hasard et avec remise un échantillon de 25 bouteilles dans un lot important.

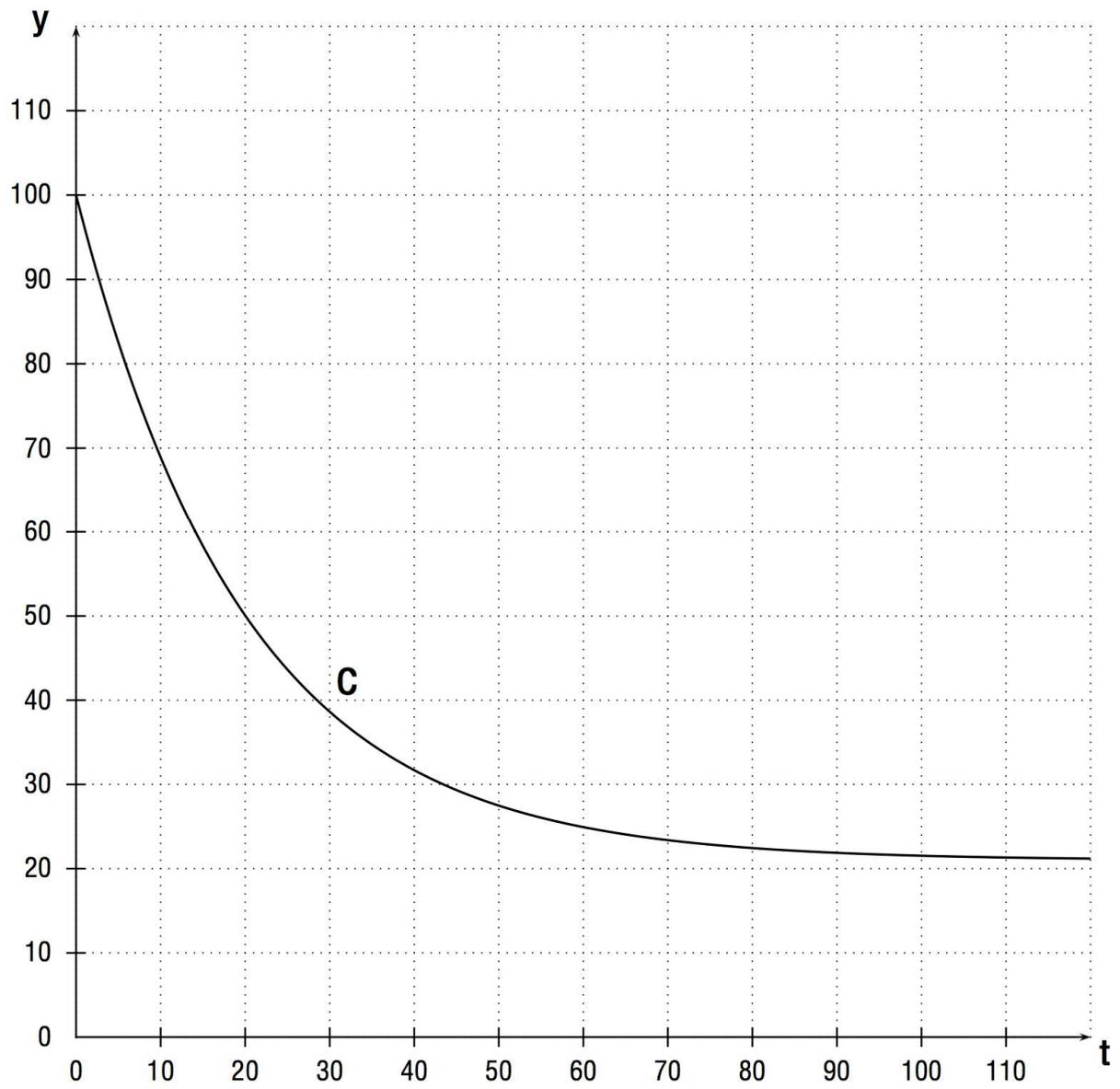
Soit  $\bar{S}$  la variable aléatoire qui, à tout échantillon de 25 bouteilles prélevées au hasard et avec remise dans ce lot, associe la moyenne des masses de sucre contenue dans les bouteilles de cet échantillon.

On suppose que  $\bar{S}$  suit la loi normale de moyenne inconnue  $\mu$  et d'écart type  $\frac{\sigma}{\sqrt{25}}$  avec  $\sigma = 7$ .

Pour l'échantillon prélevé, la moyenne obtenue, arrondie à  $10^{-1}$ , est  $\bar{s} = 137,7$ .

Déterminer un intervalle de confiance centré sur  $\bar{S}$  de la moyenne  $\mu$  des masses de sucre contenu dans chacune des bouteilles de ce lot, avec le coefficient de confiance 95 %.

## ANNEXE À RENDRE AVEC LA COPIE



## E2-U22 SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES 2008

Durée : 2 heures Coefficient 3

### 1 Polarimétrie (14 points)

Le miel provient de la transformation, par les abeilles butineuses, du nectar qu'elles prélèvent sur les fleurs.

Le nectar est une solution aqueuse très concentrée de saccharose, qui sous l'action de l'invertase, donne du glucose et du fructose.

Le saccharose, le glucose et le fructose sont des substances optiquement actives dont les solutions suivent la loi de Biot.

- 1.1 Donner l'expression de la loi de Biot pour une solution de substance optiquement active dans un solvant inactif. Préciser la signification de chacun de ses termes et son unité.
- 1.2 Le pouvoir rotatoire spécifique du saccharose à 20°C, pour la raie D du sodium, est  $[\alpha]_D^{20} = +0,665 \text{ } ^\circ \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ . Le nectar est-il dextrogyre ou lévogyre ? Justifier la réponse.
- 1.3 On utilise un polarimètre de Laurent pour déterminer le pouvoir rotatoire spécifique du fructose. Des solutions de différentes concentrations sont introduites dans un tube polarimétrique de longueur  $\ell = 20,0 \text{ cm}$ . On mesure leur pouvoir rotatoire  $\alpha_D^{20}$ , et on obtient le tableau de résultats suivant :

Concentration ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ )	0	20	40	60	80	100
$\alpha_D^{20}$ ( $^\circ$ )	0	- 3,68	- 7,42	- 11,07	- 14,68	- 18,43

En effectuant une régression linéaire :

- Montrer que ces solutions vérifient la loi de Biot.
  - Montrer que le pouvoir rotatoire spécifique du fructose est  $[\alpha_F]_D^{20} = -0,920 \text{ } ^\circ \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ .
- 1.4 Le miel étudié est un mélange contenant notamment 441  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  de glucose et 540  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  de fructose
- 1.4.1 Donner l'expression littérale de la loi de Biot pour ce mélange.
- 1.4.2 Calculer le pouvoir rotatoire  $\alpha_D^{20}$  du miel contenu dans un tube polarimétrique de longueur  $\ell = 5,00 \text{ cm}$ , sachant que le pouvoir rotatoire spécifique du glucose est  $[\alpha_G]_D^{20} = +0,527 \text{ } ^\circ \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ . On admettra que la loi de Biot est encore valable à ces concentrations.
- 1.4.3 Conclure sur le caractère dextrogyre ou lévogyre du miel et justifier le terme d' « inversion du saccharose » associé à la transformation du nectar en miel.

### 2 Radioactivité (16 points)

#### Données :

Nombre d'Avogadro :  $N_A = 6,02 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$  ;

Célérité de la lumière dans le vide :  $c = 3,0 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$  ;

Masse molaire du polonium :  $M_{Po} = 210 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  ;

1 Ci (Curie) =  $3,7 \times 10^{10} \text{ Bq}$  ;

1 u =  $1,66 \times 10^{-27} \text{ kg}$ .

Le polonium  ${}^{210}_{84}\text{Po}$  est un radionucléide émetteur  $\alpha$ . Sa désintégration donne naissance à un noyau d'atome de plomb Pb.

- 2.1 Écrire l'équation de cette désintégration en précisant les règles utilisées.
- 2.2 Donner la composition du noyau fils de plomb.
- 2.3 La période ou demi-vie du polonium  $^{210}_{84}\text{Po}$  est de 138,4 jours.
- 2.3.1 Calculer sa période en seconde.
- 2.3.2 Calculer sa constante radioactive  $\lambda$  en  $\text{j}^{-1}$  et en  $\text{s}^{-1}$ .
- 2.4 Un échantillon de polonium  $^{210}_{84}\text{Po}$  a une masse  $m = 2,10$  mg.
- 2.4.1 Déterminer le nombre de noyaux contenus dans cet échantillon.
- 2.4.2 En déduire l'activité de cet échantillon.
- 2.5 Déterminer la durée au bout de laquelle l'activité de cet échantillon devient égale à  $1,0 \mu\text{Ci}$ .
- 2.6 On donne les masses des nucléides correspondant à la désintégration étudiée :  
 $m_{\text{Po}} = 209,9368 \text{ u}$  ;  $m_{\alpha} = 4,0015 \text{ u}$  ;  $m_{\text{Pb}} = 205,9295 \text{ u}$ .
- 2.6.1 Calculer, en unité de masse atomique  $u$ , la perte de masse associée à la désintégration d'un atome de  $^{210}_{84}\text{Po}$ .
- 2.6.2 Montrer que la perte de masse associée à la désintégration d'une mole de  $^{210}_{84}\text{Po}$  est de  $5,8 \times 10^{-6} \text{ kg}$ .
- 2.7 En déduire l'énergie libérée correspondante en joules.

### 3 L'acide lactique dans le lait (15 points)

L'acide lactique, en solution aqueuse, ne réagit pas totalement avec l'eau. C'est pourquoi on le qualifie d'acide faible.

L'acide lactique sera symbolisé dans cet exercice par AH. L'ion lactate, sa base conjuguée par  $\text{A}^-$ .

#### Données :

Constante d'acidité du couple  $\text{AH}/\text{A}^-$  :  $K_A = 10^{-3,9}$  à  $25^\circ\text{C}$  ;

Produit ionique de l'eau :  $K_E = 10^{-14,0}$  à  $25^\circ\text{C}$  ;

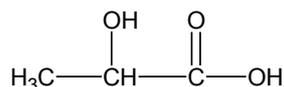
Masse molaire de l'acide lactique :  $M = 90,0 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  ;

- 3.1 On dissout une quantité de matière  $n = 1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol}$  d'acide lactique dans un volume  $V = 100 \text{ mL}$  d'eau distillée sans variation de volume.
- 3.1.1 Calculer la concentration molaire  $C_0$  en acide lactique dans la solution aqueuse ainsi obtenue.
- 3.1.2 Écrire l'équation de la réaction entre l'acide lactique et l'eau.
- 3.1.3 Calculer le pH de la solution obtenue, en justifiant les hypothèses et les approximations faites au cours du calcul.
- 3.2 Le pH moyen d'un lait frais est égal à 6,7.
- 3.2.1 Donner l'expression littérale du rapport  $\frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$  dans le lait frais étudié puis calculer sa valeur.
- 3.2.2 En déduire quelle est, entre  $\text{A}^-$  et AH, l'espèce prédominante présente dans le lait frais étudié. Justifier la réponse.
- 3.3 La teneur en acide lactique d'un lait est un critère de fraîcheur. Si la teneur dépasse  $5,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , le lait caille. Pour un lait frais, cette teneur se situe autour de  $1,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .  
 Après quelques jours de conservation du lait, on veut tester son acidité. Pour cela on procède à un titrage par une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium de concentration molaire  $C = 1,00 \cdot 10^{-1} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .  
 La prise d'essai du lait est  $V' = 20,0 \text{ mL}$  et le volume de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium versé à l'équivalence est  $V_E = 13,1 \text{ mL}$ .

- 3.3.1 Écrire l'équation de la réaction du dosage.
- 3.3.2 Établir l'expression littérale de la concentration molaire  $C'$  en acide lactique dans la prise d'essai. Calculer  $C'$ .
- 3.3.3 En déduire la teneur  $\rho$  (en  $\text{g.L}^{-1}$ ) en acide lactique dans la prise d'essai.
- 3.3.4 Conclure sur l'état de fraîcheur du lait étudié après quelques jours de conservation.

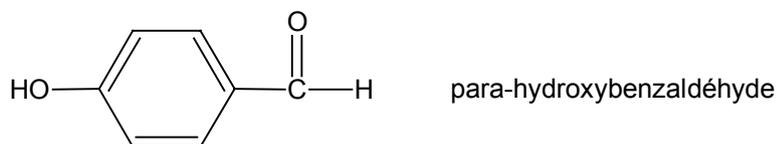
#### 4 Chimie organique : quelques propriétés de l'acide lactique (15 points)

4.1 L'acide lactique peut être représenté par la formule semi-développée suivante :



Il possède un atome de carbone asymétrique et donc peut exister sous forme de deux énantiomères.

- 4.1.1 Donner le nom de l'acide lactique en nomenclature systématique.
- 4.1.2 Reproduire la formule semi-développée de l'acide lactique sur la copie, entourer les fonctions organiques et les nommer. Mettre en évidence le carbone asymétrique.
- 4.1.3 Donner les définitions suivantes :
- atome de carbone asymétrique
  - énantiomères
- 4.1.4 Représenter, selon les conventions de Cram, les deux énantiomères de l'acide lactique en précisant la configuration absolue (R ou S) de l'atome de carbone asymétrique dans chaque énantiomère. On justifiera les règles utilisées.
- 4.2 L'acide lactique constitue une matière première pour la synthèse du para-hydroxybenzoate de propyle. Ce dernier est utilisé comme conservateur dans l'industrie cosmétique. La synthèse du para-hydroxybenzoate de propyle s'articule en trois étapes que l'on se propose d'étudier.
- 4.2.1 Étape 1 : préparation du propan-1-ol  
L'acide lactique est déshydraté puis hydrogéné : on obtient l'acide propanoïque  $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{COOH}$ . L'acide propanoïque est ensuite transformé en propan-1-ol.
- 4.2.1.1 À quelle classe d'alcool appartient le propan-1-ol ?
- 4.2.1.2 Quel type de réaction est mis en jeu lors de la transformation de l'acide propanoïque en propan-1-ol ?
- 4.2.2 Étape 2 : préparation de l'acide para-hydroxybenzoïque  
La fonction aldéhyde du para-hydroxybenzaldéhyde (représenté ci-dessous) est oxydée par le dichromate de potassium en milieu acide (couple  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cr}^{3+}$ ). On obtient l'acide para-hydroxybenzoïque.



- 4.2.2.1 Écrire les deux demi-équations d'oxydoréduction.
- 4.2.2.2 Écrire l'équation de la réaction globale mise en jeu.
- 4.2.3 Étape 3 : réaction entre le propan-1-ol et l'acide para-hydroxybenzoïque  
La réaction du propan-1-ol avec l'acide para-hydroxybenzoïque permet la synthèse du para-hydroxybenzoate de propyle.
- 4.2.3.1 Écrire l'équation de la réaction
- 4.2.3.2 Nommer cette réaction
- 4.2.3.3 Le rendement de la transformation mise en jeu est faible. Proposer une explication.
- 4.2.3.4 Proposer une méthode permettant d'améliorer ce rendement.

## E3-U31 BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008

Durée : 3 heures Coefficient 3  
Calculatrice autorisée.

### L'ALIMENT FONCTIONNEL

Le lien entre alimentation et santé est de plus en plus étudié. A côté des recherches sur les effets négatifs de certains aliments, des programmes de recherche récents étudient les effets bénéfiques et protecteurs de certains constituants alimentaires.

Un aliment sera dit « fonctionnel » s'il renferme un composant pour lequel on dispose de résultats scientifiques démontrant des interactions bénéfiques avec une fonction dans l'organisme.

On se propose d'aborder quelques aspects du dosage ou du rôle de deux composants : la vitamine A et les acides gras polyinsaturés.

### 1 Dosage de la vitamine A dans les aliments. (27 points)

La vitamine A ou rétinol est un alcool cyclique dont la formule est présentée dans le **document 1**. Sa transformation dans l'organisme conduit à des composés ayant des rôles essentiels dans la vision, la différenciation cellulaire et la croissance.

Le **document 2** extrait de la norme française décrit une méthode de dosage de la vitamine A dans les aliments d'origine animale (produits laitiers par exemple) dans lesquels le rétinol est présent essentiellement sous forme d'un ester : le palmitate de rétinol.

#### 1.1 Étapes d'hydrolyse et d'extraction (12 points)

1.1.1 Pourquoi y a-t-il nécessité d'une étape d'hydrolyse ? Écrire l'équation de la réaction avec formules chimiques des réactifs et des produits formés.

**Donnée** : Acide palmitique est aussi appelé acide hexadécanoïque.

1.1.2 L'étiquette du réactif 7 comporte la mention « Corrosif ».

1.1.2.1 Quels sont les risques présentés par un réactif corrosif ?

1.1.2.2 L'institut National de Recherche et de Sécurité mentionne dans ses cahiers documentaires qu'une préparation est considérée comme corrosive quand la somme des concentrations des substances corrosives présentes dépasse 5 % en masse.

Justifier avec précision pourquoi le réactif 7 est corrosif.

Déterminer à partir de quelle concentration molaire une solution d'hydroxyde de potassium est considérée comme corrosive. Comment est dénommé son caractère de dangerosité en dessous de cette concentration ?

**Données** : Masses molaires atomiques : K : 39,1 g.mol<sup>-1</sup>, O : 16 g.mol<sup>-1</sup>, H : 1 g.mol<sup>-1</sup>

1.1.3 L'étape d'hydrolyse est suivie d'une étape d'extraction.

1.1.3.1 À partir du **document 2**, expliquer le principe et les différents temps de cette extraction. Justifier le choix du solvant d'extraction.

1.1.3.2 Quel est le matériel utilisé ? Montrer son intérêt.

#### 1.2 Analyse par chromatographie liquide haute performance (10 points)

1.2.1 Conditions chromatographiques.

1.2.1.1 Donner les caractéristiques du système chromatographique utilisé (**document 2**).

1.2.1.2 Préciser les caractéristiques de polarité de la phase stationnaire, celles de la phase mobile.

1.2.2 Les chromatogrammes obtenus pour l'analyse d'un aliment de type beurre et pour l'étalonnage sont présentés dans le **document 3**.

1.2.2.1 En partant de la relation de base : quantité d'un composé X injecté =  $F_x$ . Aire du pic de X  
avec  $F_x$  = Facteur de réponse du détecteur pour ce composé  
Déterminer la concentration en équivalent rétinol dans la solution extrait injectée.

**Données** : Afin de tenir compte des facteurs de réponse différents pour le *trans*-rétinol et le 13-*cis*-rétinol formé par vieillissement, on utilisera, pour appliquer la relation de base, la somme des aires ( $Aire_{trans} + 0,815 Aire_{cis}$ ). Ce calcul permet d'obtenir le résultat directement en équivalent rétinol par cm<sup>3</sup>.

1.2.2.2 En déduire la teneur en vitamine A de l'aliment testé, exprimée en équivalent rétinol par gramme sachant que la masse d'échantillon de beurre n° 952 testé est de 3,50 g. Rendre le résultat à 5 % près.

1.2.2.3 L'aliment peut-il porter une de ces allégations nutritionnelles sur son étiquette sachant que le fournisseur a le droit d'indiquer :

« Source de ... »	si l'aliment apporte plus de 15 % des apports journaliers recommandés dans 100 g
« Riche en ... »	si l'aliment apporte plus de 2 fois la valeur requise pour « source de ... »

**Données** : Apport journalier recommandé : adolescent et adulte : 0,8 à 1 mg de rétinol.

1.3 Essai d'une nouvelle technique de micro-extraction en phase solide (SPME) (5 points)

L'appareillage utilisé est décrit dans le **document 4**.

1.3.1 Mettre en évidence les avantages que présente cette technique par rapport à la technique classique.

1.3.2 Lister tous les critères qui doivent être pris en compte pour une étude comparative de coût entre la technique d'extraction classique et la technique SPME.

## 2 Importance des acides gras polyinsaturés dans l'alimentation. (33 points)

Les corps gras font partie d'une alimentation saine car ils apportent les acides gras essentiels et fournissent de l'énergie. La supplémentation en acides gras essentiels est extrêmement efficace pour combattre divers troubles car elle permet :

- de réduire l'hypertension artérielle et les risques cardiaques,
- de diminuer les risques d'inflammation,
- d'améliorer les capacités cérébrales,
- de ralentir l'évolution de certains cancers.

2.1 Structure et propriétés des acides gras insaturés (10 points)

2.1.1 Le **document 5** donne les modèles moléculaires de différents acides gras.

2.1.1.1 Les acides oléique, élaïdique,  $\alpha$ -linoléique sont des formes insaturées de l'acide stéarique :

- acide gras saturé (C 18:0) ou acide stéarique,
- acide gras monoinsaturé C18:1,  $\Delta$  9 *cis* (Z) ou acide oléique,
- acide gras monoinsaturé C18:1,  $\Delta$  9 *trans* (E) ou acide élaïdique,
- acide gras polyinsaturé C18: 3,  $\Delta$  9,12,15 *cis* (Z) ou acide  $\alpha$ -linoléique.

Expliquer la notion d'isomérisation *cis-trans* (ou Z-E). Quelle en est la conséquence sur la structure spatiale des acides gras insaturés.

En déduire à quel acide gras correspond chaque modèle moléculaire  $m_1$ ,  $m_2$ ,  $m_3$ , représenté dans le **document 5**.

2.1.1.2 Expliquer le lien entre cette géométrie et la température de fusion de ces acides gras. En déduire les conséquences physiques.

**Données** :  $T_{\text{fusion}}$  de l'acide stéarique et l'acide élaïdique : environ 70°C ;  
 $T_{\text{fusion}}$  de l'acide oléique : 16°C ; de l'acide linoléique : - 5°C.

2.1.2 Les acides gras sont des éléments constitutifs des glycérophospholipides membranaires.

2.1.2.1 Indiquer à partir de quelles molécules de base sont constitués les glycérophospholipides et écrire une formule chimique générale. Donner ses caractères de polarité.

2.1.2.2 Justifier l'importance des acides gras insaturés de configuration *cis* dans la structure et les propriétés de la membrane cellulaire.

## 2.2 Les acides gras polyinsaturés ou acides gras essentiels (12 points)

### 2.2.1 Dosage des acides gras essentiels dans les aliments

Il y a deux familles d'acides gras essentiels qui sont les oméga-6 ( $\omega 6$ ) et les oméga-3 ( $\omega 3$ ) :

- le chef de file des  $\omega 6$  est l'acide linoléique C 18:2  $\Delta$  9,12,
- le chef de file des  $\omega 3$  est l'acide  $\alpha$ -linoléique C 18:3  $\Delta$  9,12,15.

Toutes les doubles liaisons sont de configuration *cis* (Z).

#### 2.2.1.1 Définir la notion d'acides gras essentiels.

Les apports nutritionnels journaliers conseillés sont de 1,5 à 3 g pour l'acide  $\alpha$ -linoléique et de 9 à 17 g pour l'acide linoléique. Le rapport entre les quantités des deux familles  $\omega 6/\omega 3$  doit être préférentiellement de l'ordre de 6.

Le dosage des acides gras dans les huiles alimentaires se fait par méthode chromatographique en phase gazeuse après saponification des triacylglycérols et méthylation des acides gras libérés.

#### 2.2.1.2 Indiquer deux points essentiels qui différencient la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie liquide. Expliquer un des rôles de la température en chromatographie en phase gazeuse.

#### 2.2.1.3 Quel est l'intérêt de l'étape de méthylation des acides gras ?

#### 2.2.1.4 Le chromatogramme du **document 6** correspond à l'analyse d'une huile de soja. À partir de ces résultats, et en admettant que le facteur de réponse du détecteur est identique pour tous les acides gras méthylés, justifier que l'on peut évaluer l'ordre de grandeur du rapport $\omega 6/\omega 3$ . Déterminer sa valeur pour l'huile de soja testée. Conclure.

### 2.2.2 Protection des acides gras essentiels et dosage de la vitamine E.

Les acides gras polyinsaturés doivent être protégés de l'oxydation qui conduit à la formation dans les membranes de radicaux libres très toxiques. Les tocophérols, ou Vitamine E, sont des composés lipidiques inclus dans les membranes et ayant un rôle protecteur anti-oxydant. Ceux-ci peuvent être dosés par spectrofluorimétrie.

#### 2.2.2.1 Donner le principe de la spectrofluorimétrie.

#### 2.2.2.2 Déterminer les conditions de mesures à partir des spectres d'absorbance et des spectres de fluorescence donnés dans le **document 7**. Justifier.

## 2.3 Rôle énergétique des acides gras (11 points)

Les acides gras saturés et les acides gras insaturés *trans* interviennent essentiellement en tant que métabolites énergétiques de diverses cellules.

### 2.3.1 Activation des acides gras :

#### 2.3.1.1 Dans quel compartiment cellulaire se produit cette activation ?

#### 2.3.1.2 La réaction est catalysée par une enzyme de la classe des ligases (ou synthétases) et conduit à la formation d'acyl-Coenzyme A.

Écrire l'équation de la réaction en détaillant les groupements réagissant.

Définir ce qu'est une transformation exergonique et expliquer les aspects énergétiques au cours de la réaction écrite.

### 2.3.2 Catabolisme des acyl-Coenzyme A :

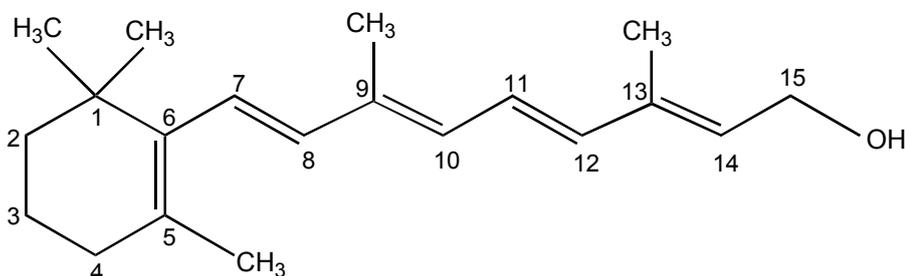
#### 2.3.2.1 Dans quel compartiment cellulaire se produit ce catabolisme ?

#### 2.3.2.2 Compléter le schéma des quatre réactions successives présentées dans le **document 8**.

#### 2.3.2.3 Établir le bilan (avec justifications) de la dégradation complète de l'acide gras saturé à 18 carbones jusqu'au stade éthanoyl-Coenzyme A.

## DOCUMENT 1 : FORMULE DU RETINOL

Le *trans*-rétinol ou Vitamine A1 présente la formule suivante :



Par vieillissement, il peut se former une petite quantité de son isomère, le rétinol *13-cis*.

## DOCUMENT 2 : DOSAGE DE LA VITAMINE A

### 1 - Principe

Hydrolyse à chaud d'une prise d'essai par une solution d'hydroxyde de potassium en milieu éthanolique. Extraction par un solvant approprié. Dosage du rétinol par chromatographie liquide haute performance sur colonne de gel de silice avec détection UV permettant de séparer les formes *trans* et *13-cis* du rétinol.

### 2 - Appareillage

- A.1 Chromatographe liquide haute performance équipé d'un détecteur à UV.
- A.2 Colonne de chromatographie pour CLHP de 300 mm de long et 4 mm de diamètre intérieur, remplie de gel de silice de granulométrie 10  $\mu\text{m}$ .
- A.3 Évaporateur rotatif.
- A.4 Appareil de chauffage de type chauffe ballon.
- A.5 Ballon de 1  $\text{dm}^3$ , à col rodé avec réfrigérant à reflux adaptable.
- A.6 Ampoule à décanter de 500  $\text{cm}^3$ .

et toute verrerie courante de laboratoire.

### 3 - Réactifs

- R.1 Éthanol à 95 % (V/V).
- R.2 Ether de pétrole de point d'ébullition compris entre 40 et 65°C.
- R.3 Heptane.
- R.4 Phase mobile : triméthylpentane - propan-2-ol, mélange 99+1 (V/V).
- R.5 Sulfure de sodium, solution à 0,5  $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  dans le glycérol à 70 % (V/V).
- R.6 Pyrogallol, solution à 200  $\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  dans l'éthanol à 95 % (V/V).
- R.7 Hydroxyde de potassium, solution à 500  $\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ .
- R.8 Ethanoate de *trans*-rétinol, solution étalon à  $(4,96 \pm 0,05) \text{ ER}\cdot\text{cm}^{-3}$ .

**Donnée** : 1 équivalent rétinol = 1 ER correspond à 1  $\mu\text{g}$  de rétinol.

## 4 - Mode opératoire

### 4.1 - Préparation de l'échantillon pour essai :

Homogénéiser si nécessaire les aliments humides à l'aide d'un hachoir.

La détermination doit être effectuée immédiatement après la préparation de l'échantillon pour essai.

### 4.2 - Prise d'essai :

Peser, à 0,01 g près, la masse nécessaire d'échantillon pour essai et les introduire dans le ballon (A.5).

La détermination doit être effectuée immédiatement après la préparation de l'échantillon pour essai.

### 4.3 - Étape non détaillée conduisant à un volume total d'hydrolysate de 200 cm<sup>3</sup> (le solvant de l'hydrolysate est l'éthanol).

### 4.4 - Extraction :

Prélever à la pipette 100 cm<sup>3</sup> d'hydrolysate et les introduire dans l'ampoule à décanter (A.6). Ajouter 80 cm<sup>3</sup> d'eau et 100 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole (R.2). Agiter pendant 1 à 2 minutes et laisser décanter. Soutirer la phase hydro-éthanolique dans une seconde ampoule à décanter et procéder ensuite à deux extractions de cette phase aqueuse, à l'aide, à chaque fois, de 100 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole, en récupérant les phases étherées dans la première ampoule à décanter. Procéder ensuite à un ou plusieurs lavages successifs de la phase étherée avec des fractions de 100 cm<sup>3</sup> d'eau jusqu'à neutralité, vérifiée à la phénolphtaléine. Éliminer les traces d'eau par filtration sur du sulfate de sodium.

Évaporer à sec à l'aide de l'évaporateur rotatif (A.3). Ajouter à la pipette 25 cm<sup>3</sup> d'heptane (R.3).

### 4.5 - Analyse par chromatographie liquide à haute performance :

Régler le débit de la phase mobile à 2 cm<sup>3</sup>.min<sup>-1</sup>.

Injecter dans l'appareil 100 mm<sup>3</sup> de la solution étalon préparée (R.8).

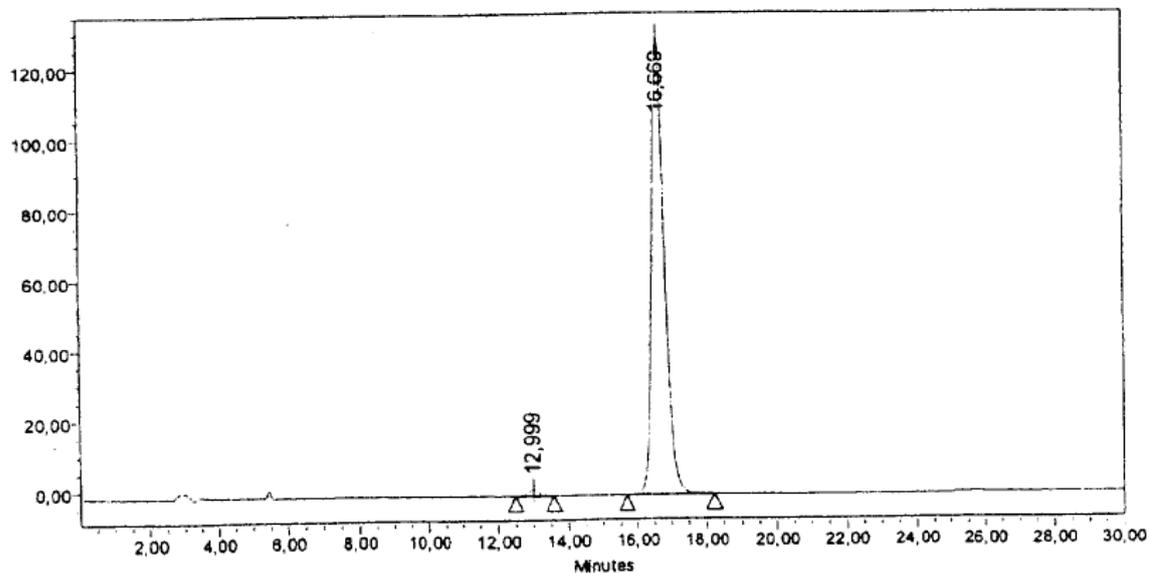
Injecter dans l'appareil un volume identique de la solution essai obtenue en 4.4.

## DOCUMENT 3 : DOSAGE DE LA VITAMINE A

### Chromatogrammes

a - Injection de la solution étalon R.8

unités arbitraires

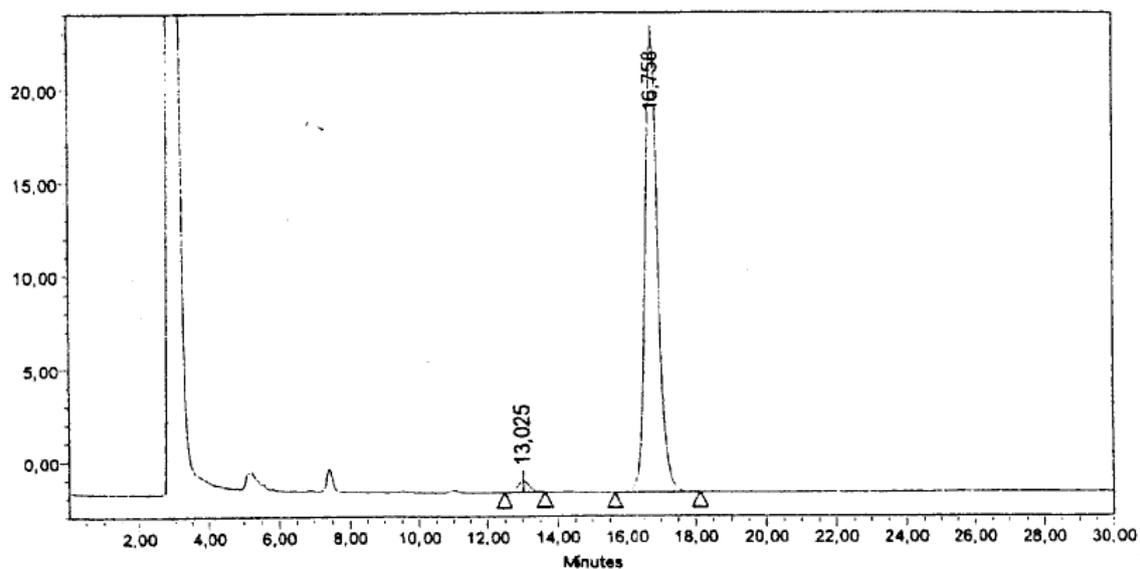


**Table de résultats**

<b>Nom</b>	<b>RT (min)</b>	<b>Aire (unités arbitraires)</b>
<i>13-cis</i> rétinol	12,999	33216
<i>trans</i> -rétinol	16,669	3355187

b - Injection de l'échantillon beurre n° 952

unités arbitraires



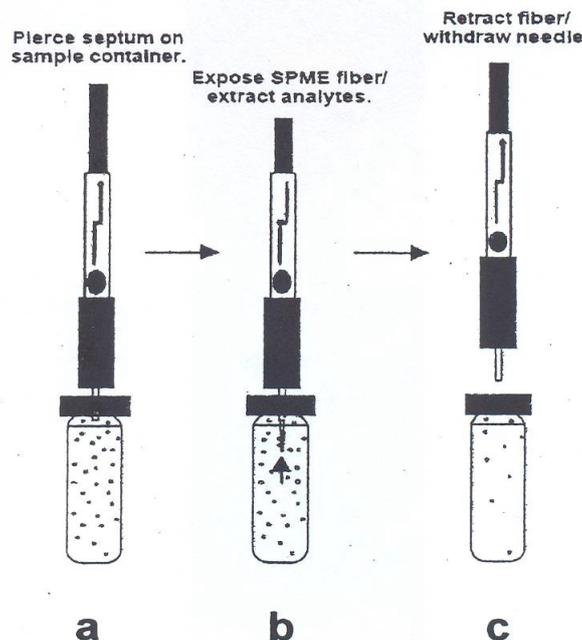
**Table de résultats**

<b>Nom</b>	<b>RT (min)</b>	<b>Aire (unités arbitraires)</b>
	13,025	13800
	16,758	629766

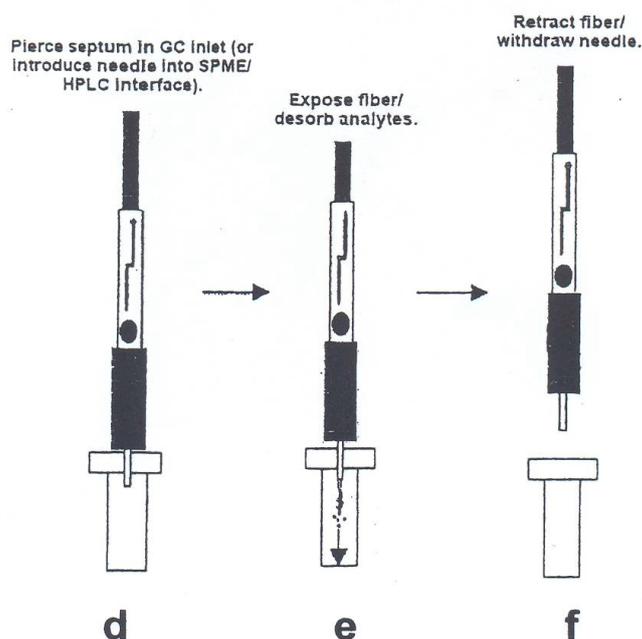
**DOCUMENT 4 :****Technique de micro-extraction en phase solide ou SPME**

L'appareillage d'extraction est une seringue modifiée de la façon suivante : à l'intérieur de l'extrémité de l'aiguille se trouve une courte fibre en silice recouverte d'une phase solide constituée d'un polymère adsorbant, par exemple le polydiméthylsiloxane (PDMS).

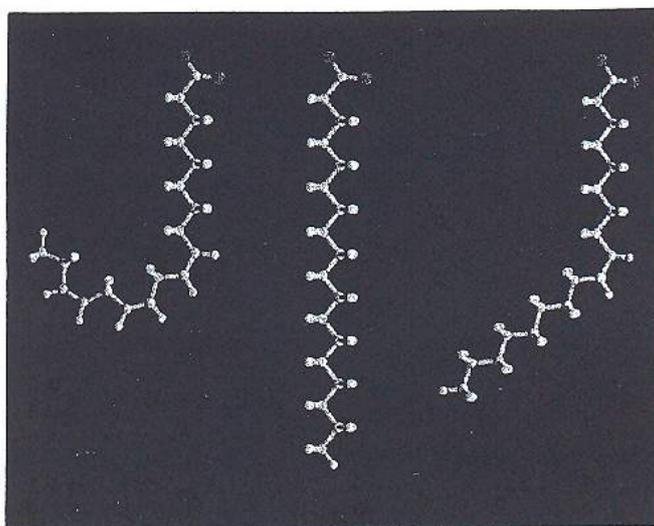
En position d'attente, la fibre est rétractée à l'intérieur de l'aiguille. Lors d'une analyse, l'aiguille permet de percer le septum assurant l'étanchéité du tube contenant l'échantillon **(a)**. La fibre est alors sortie de son aiguille et exposée à l'échantillon **(b)** pendant une durée convenable et sous agitation par ultrasons. Pour retirer la fibre de l'échantillon, elle est à nouveau rétractée dans son aiguille **(c)**.



C'est le plus souvent ensuite une analyse par chromatographie qui est effectuée. Pour une analyse par chromatographie en phase gazeuse, les analytes sont désorbés directement dans l'injecteur chauffé de l'appareil. En revanche, pour une analyse par HPLC, un adaptateur est nécessaire pour extraire les composés de la fibre et les remettre en solution **(d, e, f)**.



**DOCUMENT 5 :**  
**Modèles moléculaires d'acides gras**

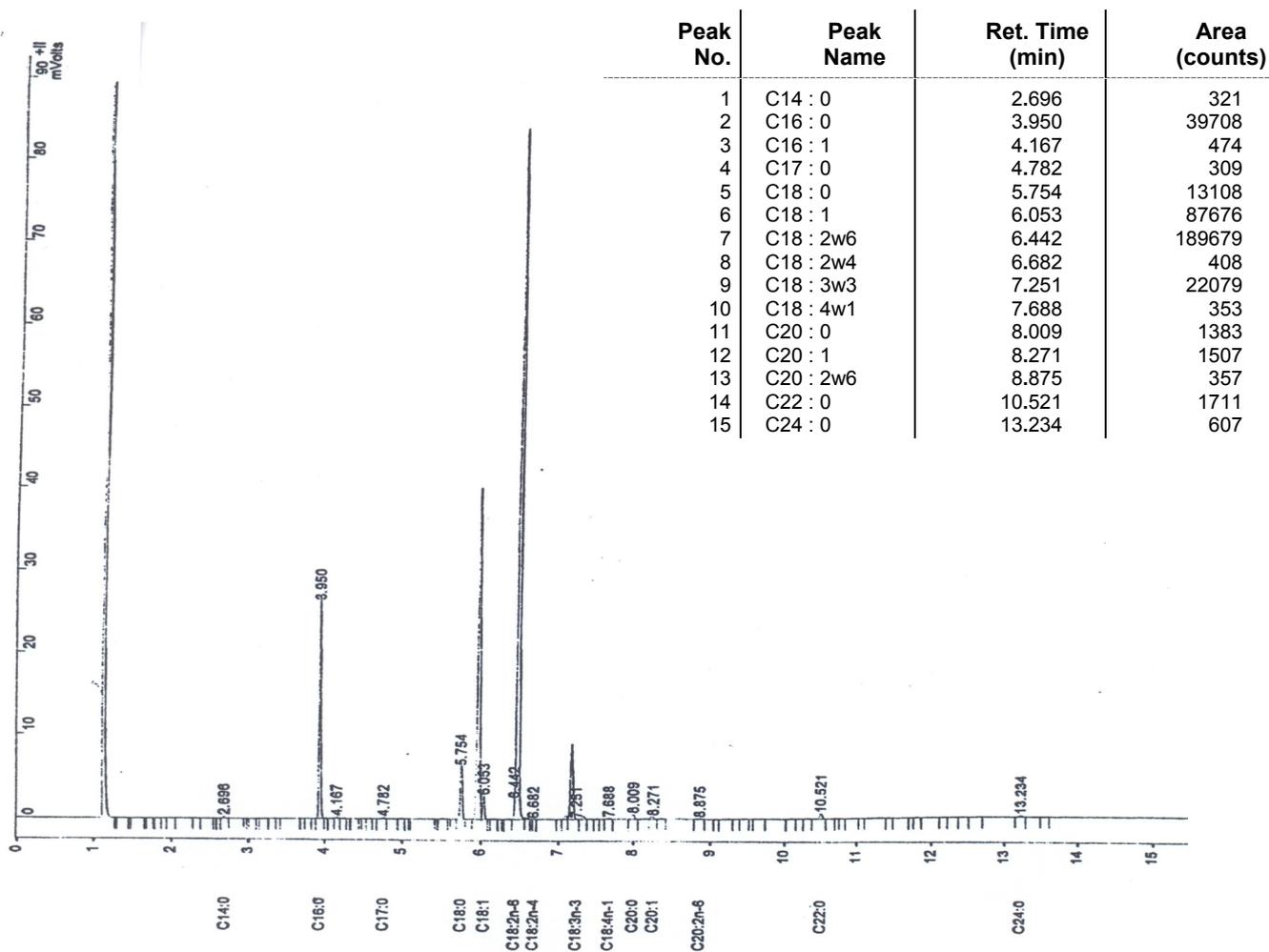


m1

m2

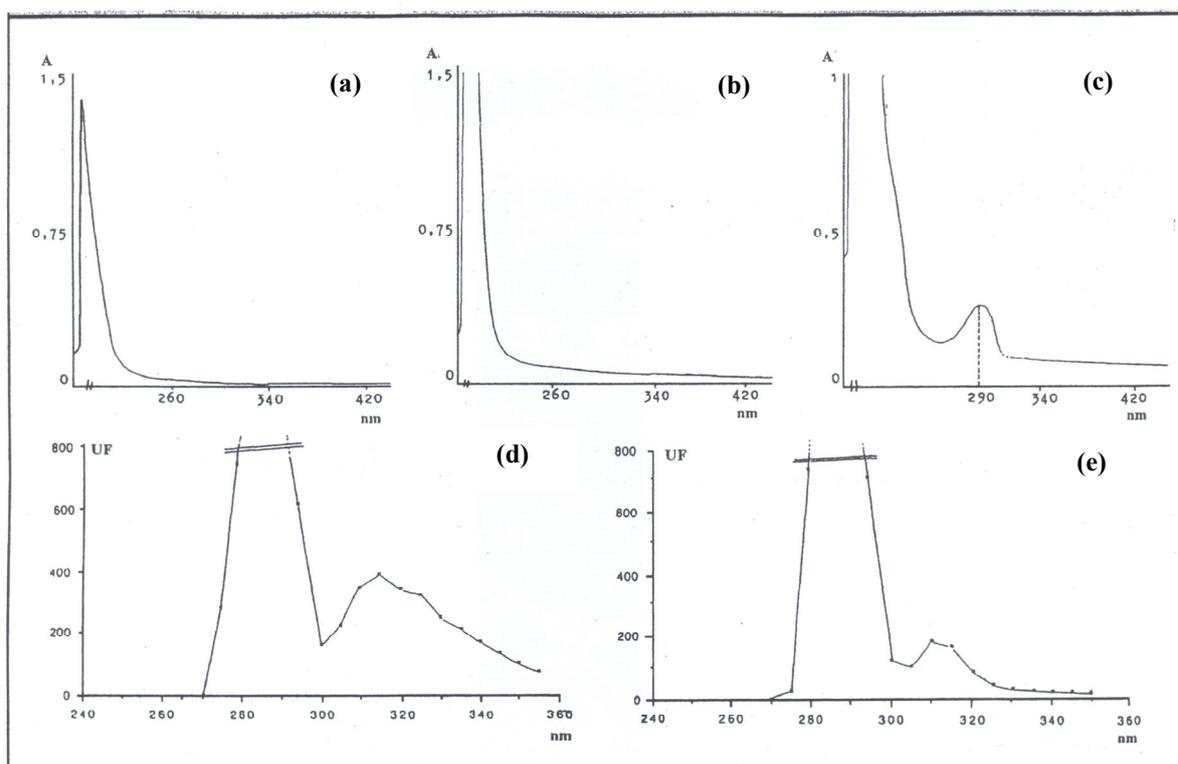
m3

**DOCUMENT 6 :**  
**Chromatogramme en phase gazeuse d'extrait d'huile de soja**



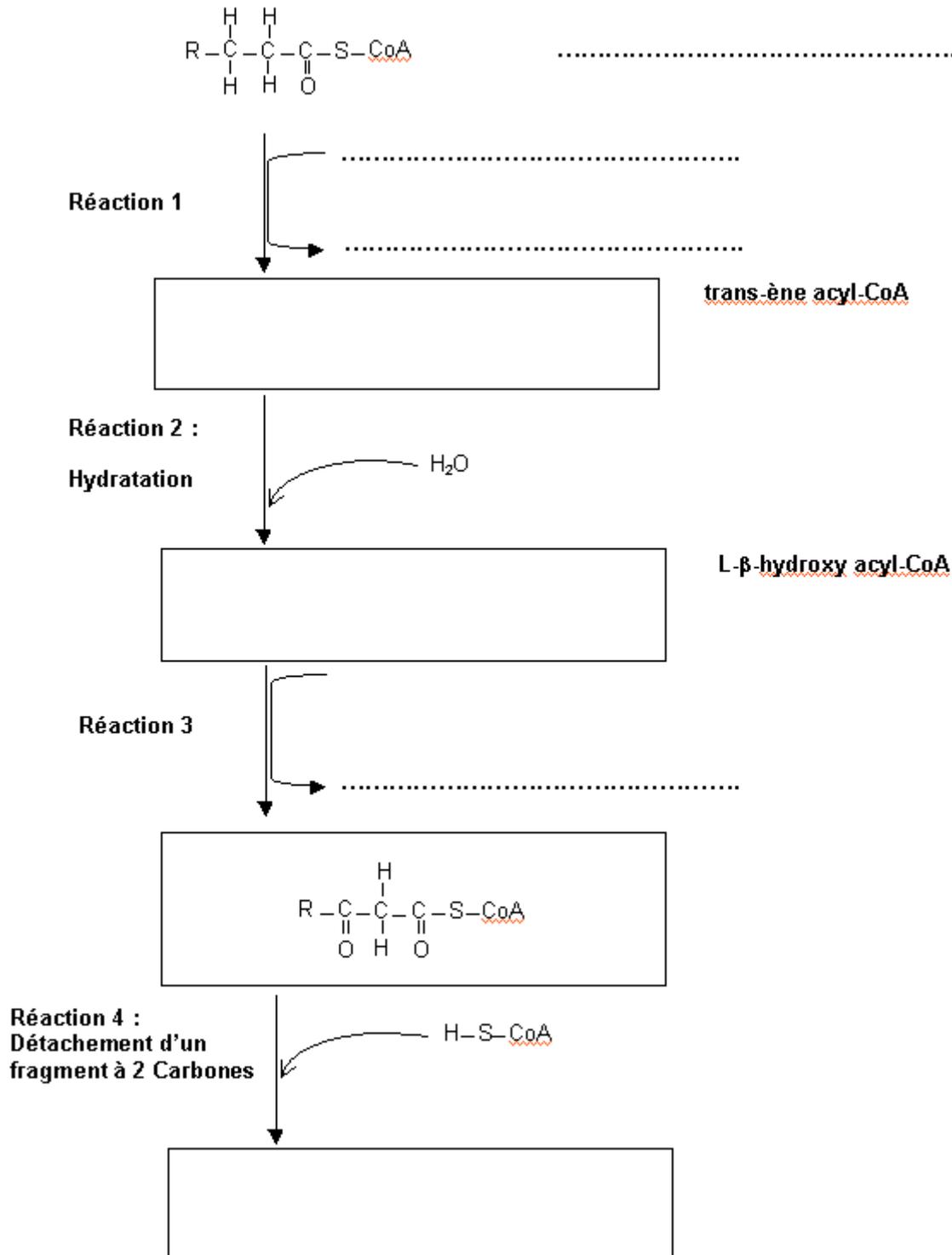
**DOCUMENT 7 :****Informations pour le dosage de la Vitamine E par spectrofluorimétrie**

Spectres d'absorption de l'hexane (a), du blanc réactifs (b), de la vitamine E (c).  
Spectres de fluorescence de la vitamine E (d), de l'hexane (e) obtenus par excitation à la longueur d'onde appropriée.



**DOCUMENT 8 :**  
**A RENDRE AVEC LA COPIE**  
**Une des étapes du catabolisme des acides gras**

Compléter les formules chimiques manquantes et les noms au niveau des pointillés.



## E3-U32 MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE 2008

Durée 3 heures Coefficient 3

CALCULATRICE INTERDITE

Papier millimétré fourni

### Industrie cosmétique et microorganismes

L'industrie cosmétique est confrontée à différents impératifs :

- la réalisation d'émulsions stables entre des composants lipidiques et aqueux au cours de la production de cosmétiques. Certains microorganismes sont capables de produire des substances tensioactives ; ils offrent des voies alternatives aux procédés classiques : on parle alors de biotensioactifs ou de bioémulsifiants.
- l'assurance de l'innocuité des produits distribués selon la réglementation européenne qui impose des critères microbiologiques stricts. L'utilisation de conservateurs est une solution préventive à la contamination du produit.

### 1 Production industrielle d'un bioémulsifiant : l'alsan (41 points)

La souche *Acinetobacter radioresistens* KA53 est capable de produire et de sécréter un exopolysaccharide de surface (EPS) à activité bioémulsifiante appelé « alsan », lorsqu'elle est cultivée sur milieu à l'éthanol en bioréacteur fed-batch.

#### 1.1 Structure bactérienne

Les EPS sont des éléments externes à la paroi bactérienne, composés de nombreuses fibres formant une structure gélifiée.

##### 1.1.1 Citer un rôle physiologique de ces EPS.

##### 1.1.2 Quel est le composant caractéristique de la paroi bactérienne ?

Nommer les différentes molécules qui le composent. Préciser leur agencement.

##### 1.1.3 Le **document 1** présente l'aspect de la souche après coloration à l'encre de Chine.

Analyser le résultat, préciser la nature biochimique de l'élément mis en évidence.

#### 1.2 Systématique bactérienne

La souche KA53 d'*Acinetobacter radioresistens* est une souche isolée du sol. Son identification a été confirmée par analyse phylogénétique : elle est caractérisée par un % GC de 38 % et son ARN 16S présente 99 % d'homologie avec l'ARN 16S des souches de la même espèce.

##### 1.2.1 Peut-on affirmer que deux souches de même GC% appartiennent à la même espèce ? Justifier la réponse.

##### 1.2.2 Depuis les travaux de Karl Woese sur l'ARN 16S, les êtres vivants sont classés en trois grands domaines.

###### 1.2.2.1 Citer les trois domaines définis par Karl Woese.

###### 1.2.2.2 Auquel de ces domaines appartient *Acinetobacter* ?

###### 1.2.2.3 Justifier l'utilisation de l'ARN 16S comme marqueur moléculaire de l'évolution.

##### 1.2.3 Les souches appartenant à une même espèce génomique doivent avoir un $\Delta T_m$ (aussi nommé « stabilité thermique des hybrides ») compris entre 1 et 5°C. Exposer le principe de la détermination du $\Delta T_m$ .

#### 1.3 Procédé de production

##### 1.3.1 La culture industrielle d'une souche microbienne implique de nombreux contrôles à différentes étapes de son utilisation, notamment de vérifier, avant mise en culture, ses caractères morphologiques et physiologiques. Une coloration de Gram et un test enzymatique sont réalisés, puis différents milieux sont ensemencés.

###### 1.3.1.1 Quels sont les caractères permettant d'orienter vers le genre *Acinetobacter* ?

###### 1.3.1.2 Exposer le principe de la recherche des nitrates réductases en précisant le nom et le rôle des réactifs utilisés.

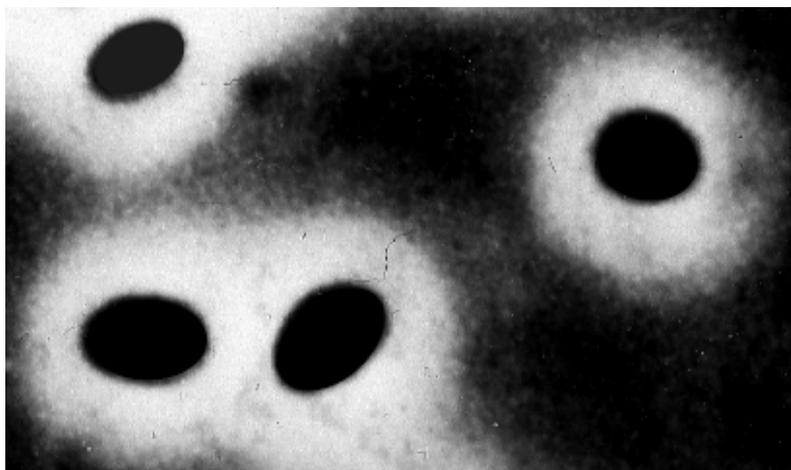
- 1.3.2** La culture d'*Acinetobacter radioresistens* dans le but de produire l'alsan, se fait en bioréacteur 15 L (10 L utiles), en procédé fed-batch, et selon les conditions décrites sur le **document 2**.
- 1.3.2.1 Analyser la composition du milieu de culture fourni sur le **document 3** en précisant le rôle de chaque constituant. Qualifier ce milieu.
- 1.3.2.2 Justifier le choix des valeurs d'agitation et de débit d'air pour cette culture.
- 1.3.2.3 Sur la copie, reporter les numéros 1 à 10 du **document 4** et donner les légendes correspondantes.
- 1.3.3** Les résultats de la croissance bactérienne et de la production du bioémulsifiant alsan au cours du procédé sont présentés dans le **document 2**.
- 1.3.3.1 En choisissant la représentation graphique la plus pertinente, tracer, sur la même feuille de papier millimétré, les courbes suivantes :
- Courbe de croissance d'*Acinetobacter radioresistens*.
  - Évolution de l'activité émulsifiante totale (AET) en fonction du temps.
- 1.3.3.2 Délimiter et nommer, sur le graphique précédent, les différentes phases de la croissance.
- 1.3.3.3 Définir et estimer les paramètres cinétiques de la croissance :  $\mu_{\text{expo}}$  (ou  $Q_{x \text{ expo}}$ ) et G.  
Justifier la démarche et les étapes du raisonnement.  
**Donnée** :  $\ln 2 = 0,7$ .
- 1.3.3.4 Décrire brièvement la courbe de l'évolution de l'activité émulsifiante en fonction du temps.  
Sachant que cette activité est uniquement due à la sécrétion de l'alsan, préciser à quel type de métabolite appartient ce produit. Justifier.
- 1.3.3.5 En fonction des conditions d'alimentation en fed-batch données sur le **document 2**, justifier l'emploi de ce procédé dans cette production.  
Quelle en est alors la contrainte majeure ?
- 1.3.3.6 Déterminer la productivité horaire finale en alsan, exprimée en  $\text{U.h}^{-1}$ .
- 1.3.4** La mise au point de cette production a nécessité des ajustements préalables.
- 1.3.4.1 Notamment, la souche d'intérêt a été cultivée dans ce même milieu à différentes températures.  
Les résultats de cette étude sont présentés dans le **document 5**.  
Analyser le document et justifier la température choisie pour la production.  
Qualifier la souche vis-à-vis de cette température.
- 1.3.4.2 Au cours de la culture, on observe des variations du pH du milieu pouvant avoir des répercussions sur la productivité finale.  
Comment pourrait-on réguler ce paramètre ?  
Détaillez la boucle de régulation mise en jeu.
- 1.3.4.3 L'amélioration des souches permet d'augmenter la productivité.  
Citer une méthode utilisée pour améliorer les souches d'intérêt industriel.

## 2 Prévention des contaminations dans l'industrie cosmétique (19 points)

- 2.1** Contrôles des locaux  
En production cosmétique, des contaminations peuvent survenir au cours de la production.  
Des contrôles réguliers sont donc inscrits dans la démarche HACCP des industries cosmétiques.  
Ces contrôles regroupent les contrôles des ambiances (air) et des surfaces.
- 2.1.1** L'air n'est qu'un milieu de transit pour les microorganismes.  
Justifier ce fait et illustrer par des exemples.
- 2.1.2** Citer une méthode de contrôle de l'atmosphère d'une pièce, ainsi qu'une méthode de contrôle des surfaces.
- 2.2** Rôle des conservateurs dans les cosmétiques  
Dans un produit cosmétique peuvent se développer des microorganismes d'altération ou des microorganismes pathogènes pour le consommateur, apportés lors de la fabrication ou de l'utilisation du produit.

- 2.2.1** Quelles sont les principales sources de contamination des cosmétiques au cours de leur production ?
- 2.2.2** Certains cosmétiques sont des émulsions.  
Expliquer le développement possible d'une flore lipolytique dans un tel produit.  
Quelle pourrait être la conséquence directe du développement d'une telle flore dans ce cosmétique ?
- 2.2.3** Afin d'éviter cette contamination indésirable, des conservateurs sont introduits dans les cosmétiques.  
Quels sont les deux principaux rôles d'un additif conservateur en cosmétique ?
- 2.2.4** Les contrôles des produits cosmétiques se font à différents niveaux de la chaîne de production.  
Le **document 6** est un extrait d'une méthode décrivant les modalités d'un de ces contrôles : un « challenge-test » (test de surinfection ou test de contamination artificielle).
- 2.2.4.1 Quelle est la finalité d'un challenge-test ?
- 2.2.4.2 Préciser l'intérêt d'utiliser un neutralisant dans le diluant du cosmétique et dans la gélose utilisée pour le dénombrement des germes revivifiables après les différents temps de conservation.
- 2.2.4.3 Analyser les résultats présentés sur le **document 6**. Conclure.
- 2.2.5** Le choix et la concentration du conservateur ajouté dans le cosmétique sont fondamentaux. Des tests *in vitro* de détermination de la CMI de certains vis-à-vis de souches bactériennes de référence apportent des éléments de réponse.
- 2.2.5.1 Donner la signification et la définition de la CMI d'un conservateur.
- 2.2.5.2 Le **document 7** présente le protocole et les résultats d'une détermination *in vitro* de la CMI du PHBM (parahydroxybenzoate de méthyle, E218) vis-à-vis de différents contaminants possibles des cosmétiques (*Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus licheniformis*).  
Analyser ces résultats : déterminer la CMI du PHBM vis-à-vis de chacune de ces souche.
- 2.2.5.3 Le **document 8** présente la formulation d'une crème cosmétique hydratante contenant du parahydroxybenzoate de méthyle comme conservateur.  
En analysant la composition de cette crème cosmétique, préciser si le conservateur sera efficace sur chacune des flores précédemment étudiées. Justifier la réponse.

**DOCUMENT 1 :**  
**RESULTAT DE LA COLORATION A L'ENCRE DE CHINE DE LA SOUCHE**  
**ACINETOBACTER RADIORESISTENS KA53**



1

**DOCUMENT 2 :**  
**PRODUCTION DU BIOEMULSIFIANT « ALASAN » EN BIOREACTEUR**  
**FED-BATCH, PAR ACINETOBACTER RADIORESISTENS KA53**

**Conditions de production**

Milieu	à l'éthanol (cf <b><u>document n°3</u></b> )
Volume initial du milieu	4,5 L
Inoculum	0,5 L d'une préculture de 24 h à 30°C en milieu de même composition
Alimentation en milieu	aucune alimentation jusqu'à 30 h ; puis ajout de milieu selon le tableau ci-dessous (colonne « volume de culture »)
Volume final du mélange	10 L
Agitation	500 rpm
Débit d'air	1 VVM (Volume d'air par Volume de milieu et par Minute)
Température	30°C
pH initial	7,0 (non régulé au cours de la fermentation)
Temps de fermentation	100 h

**DOCUMENT 2 :****Suivi opacimétrique de la croissance et évolution de l'activité émulsifiante**

Temps (h)	A <sub>600nm</sub>	Ln A <sub>600nm</sub>	Activité émulsifiante volumique* (U/L)	Volume de culture (L)	Activité émulsifiante totale AET (U)
0	0,01	-4,61	2	5,0	10
8	0,14	-2,00	5	5,0	25
16	1,49	0,40	12	5,0	60
24	9,97	2,30	19	5,0	95
28	14,15	2,65	23	5,0	115
32	18,17	2,90	36	5,5	198
40	21,12	3,05	58	6,1	351
48	22,20	3,10	85	6,6	565
56	22,20	3,10	128	6,6	851
64	24,05	3,18	135	7,4	1001
72	25,28	3,23	194	9,1	1762
88	29,96	3,40	240	8,9	2138
100	34,12	3,53	271	10,0	2710

\* Activité émulsifiante volumique : elle est mesurée au cours de la réalisation d'une émulsion hydrocarbures-eau, par un photomètre de Klett-Summerson. Une unité d'activité émulsifiante par L (U/L) est définie comme la quantité de bioémulsifiant qui permet d'atteindre 100 unités Klett dans le mélange testé.

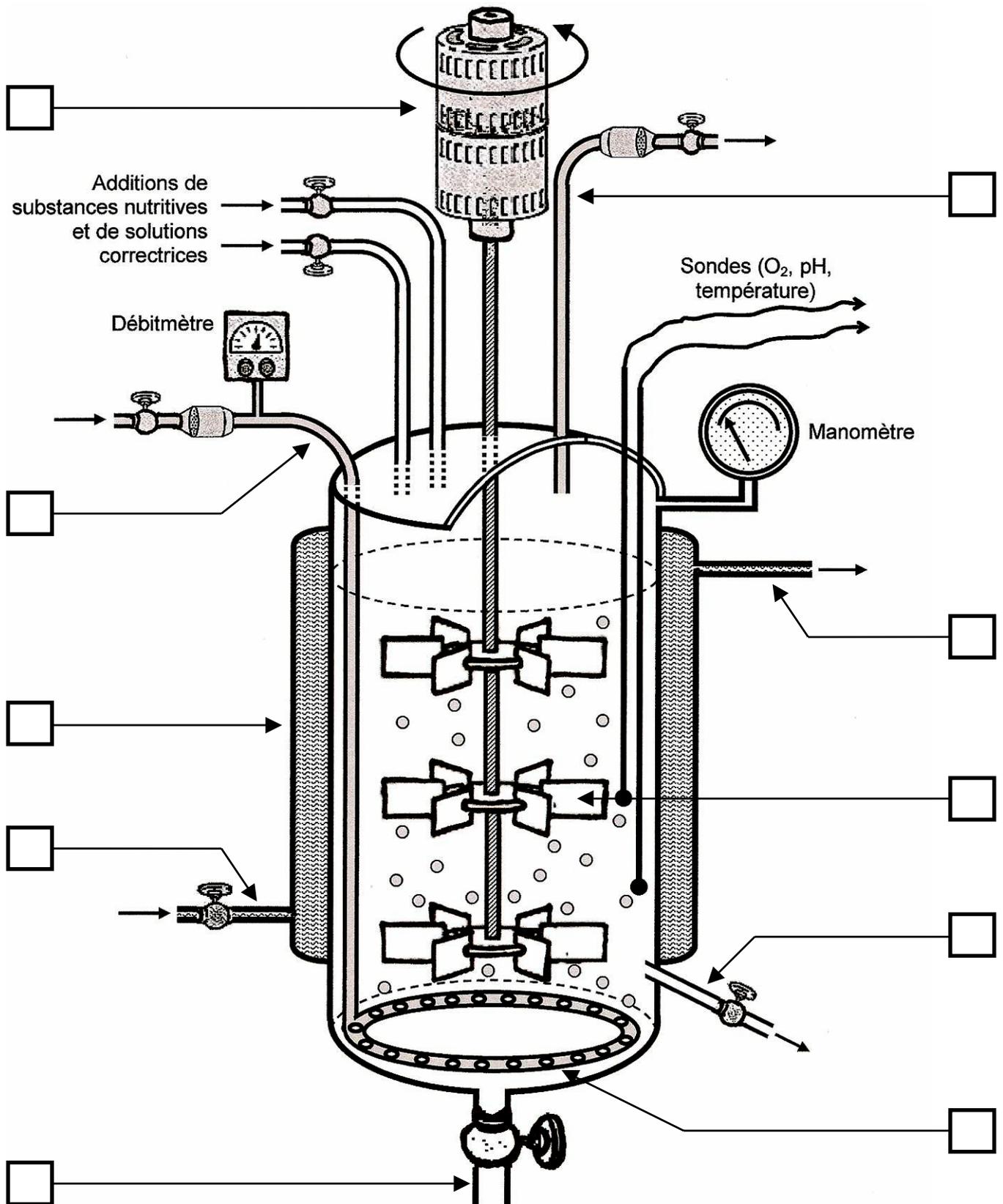
Adapté de « *Alasan, a new Bioemulsifier from Acinetobacter radioresistens* », S.Navon-venezza, *applied and Environmental Microbiology*, Sep 1995, p 3240-3244.

**DOCUMENT 3 :****COMPOSITION DU MILIEU POUR LA CULTURE FED-BATCH  
D'ACINETOBACTER RADIORESISTENS KA53**

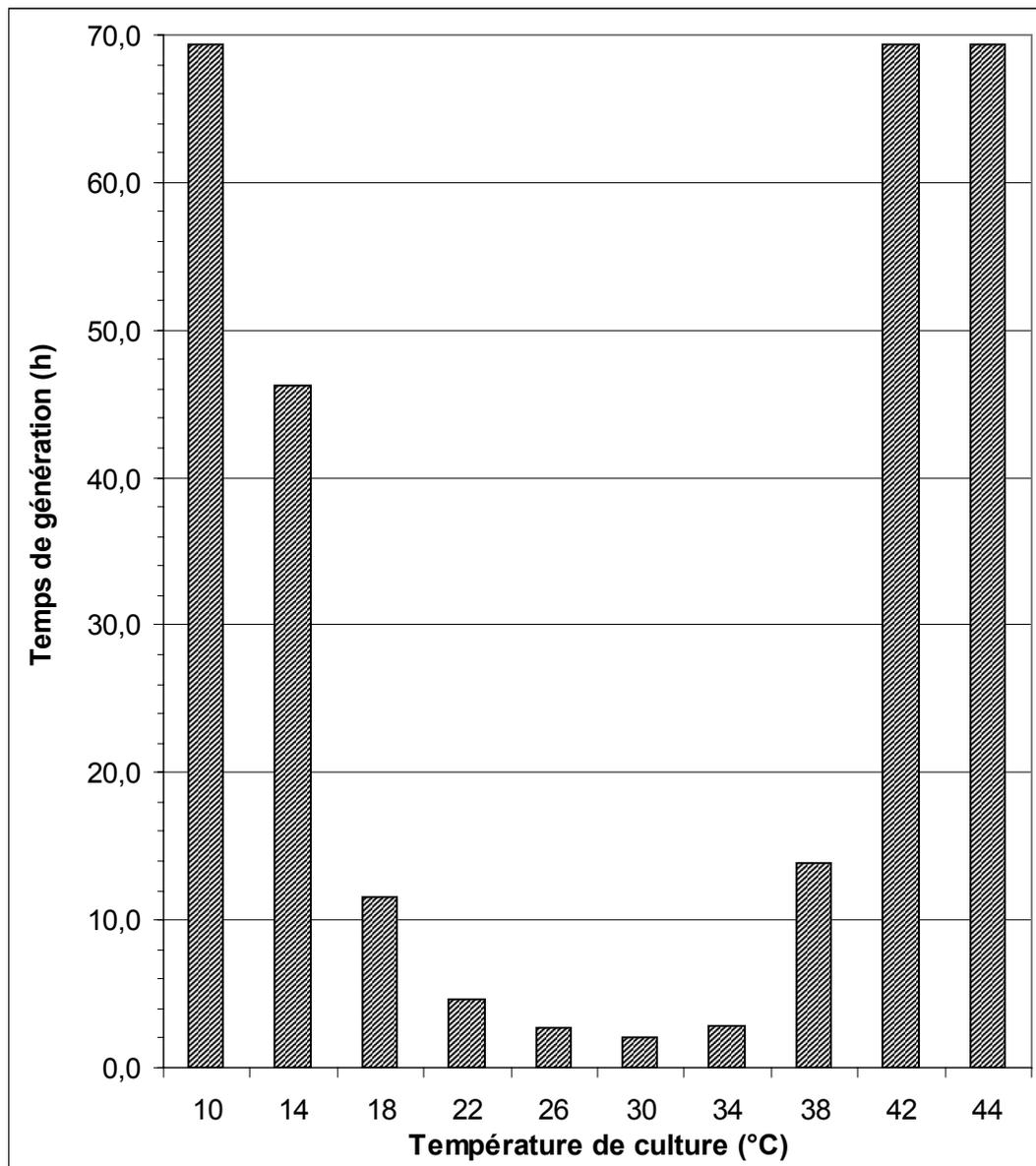
Constituants	Quantité
Éthanol	5,0 mL
Urée	1,8 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	13,7 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	7,3 g
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	0,4 g
Solution ionique*	1,0 mL
H <sub>2</sub> O désionisée	qsp 1 L

\* La solution ionique comprend, pour 10 mL, les éléments suivants :  
CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O (3,68 mg), CuSO<sub>4</sub>, 5 H<sub>2</sub>O (6,24 mg), FeSO<sub>2</sub>, 7 H<sub>2</sub>O (6,04 mg), MnSO<sub>4</sub>, 4 H<sub>2</sub>O (5,94 mg), ZnSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O (4,22 mg), CoCl<sub>2</sub>, 6 H<sub>2</sub>O (7,88 mg), Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> (6,96 mg)

**DOCUMENT 4 :**  
**SCHEMA D'UN BIOREACTEUR 15 L**



**DOCUMENT 5 :**  
**VARIATION DU TEMPS DE GENERATION D'ACINETOBACTER**  
**RADIORESISTENS KA53 A DIFFERENTES TEMPERATURES**



**DOCUMENT 6 :****CONTROLE IN SITU D'UN PRODUIT COSMETIQUE - CHALLENGE TEST****Principe général de la méthode**

Le challenge-test consiste en la contamination artificielle du produit cosmétique par un inoculum déterminé de microorganismes tests, et au suivi de l'évolution de la population viable dans le produit contaminé par dénombrement des germes revivifiables dans des échantillons prélevés à intervalles de temps donnés.

Les microorganismes tests doivent représenter les organismes contaminants les plus vraisemblables durant l'utilisation et doivent être choisis parmi les bactéries Gram positives et Gram négatives, les levures et les moisissures. Pour les préparations à application locale, comme les cosmétiques, quatre microorganismes tests sont préconisés : *Pseudomonas aeruginosa* CIP 82.118 (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* CIP 4.83 (ATCC 6538), *Candida albicans* CIP 48.72 (ATCC 10231) et *Aspergillus niger* CIP 1431.83 (ATCC 16404).

Pour chaque microorganisme, un récipient de produit à examiner estensemencé afin d'obtenir un inoculum de  $10^5$  à  $10^6$  germes viables par mL ou par g de préparation. Le volume de l'inoculum introduit ne doit pas dépasser 1% du volume du produit.

Le produit est ensuite maintenu à 20-25°C et des dénombrements sont réalisés après 2, 7, 14 et 28 jours de conservation. Pour ces dénombrements, il faut utiliser un diluant et des géloses permettant la neutralisation du système de conservation.

**Critères d'acceptation**

Pour les préparations à application locale, les critères recommandés d'efficacité du conservateur sont donnés dans le tableau ci-dessous en termes de réductions logarithmiques du nombre de microorganismes viables par rapport à la valeur obtenue pour l'inoculum de départ.

	Réduction logarithmique			
	2 jours	7 jours	14 jours	28 jours
Bactéries	2 log	3 log	P.A.U. <sup>(1)</sup>	P.A.U.
Fungi	ND <sup>(2)</sup>	ND	2 log	P.A.U.

<sup>(1)</sup> P.A.U. = pas d'augmentation ultérieure

<sup>(2)</sup> ND = non déterminé

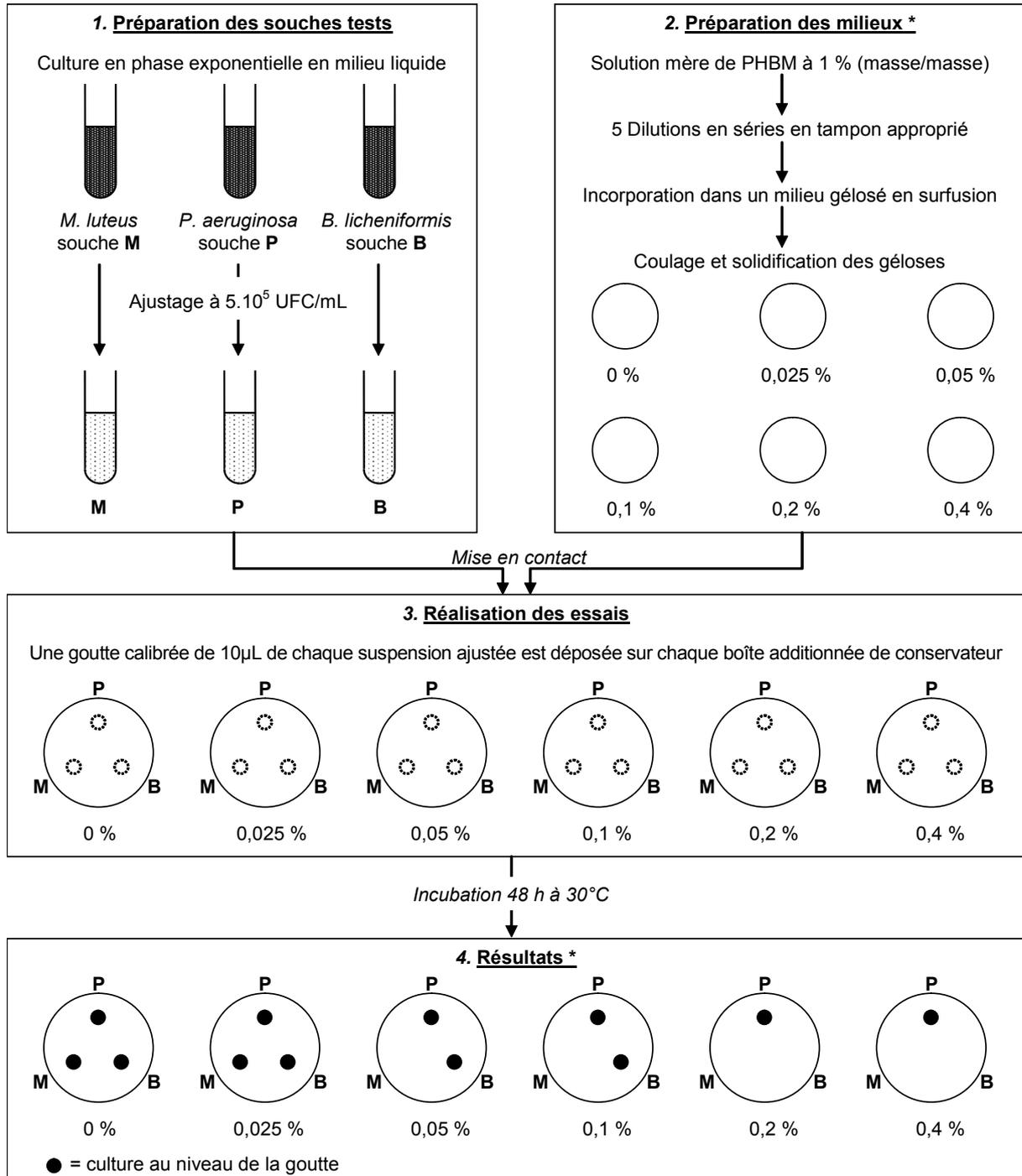
**Résultats**

Souches tests	Résultats des dénombrements des germes revivifiables (UFC/g)				
	J <sub>0</sub> <sup>(3)</sup>	J <sub>2</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>28</sub>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$8,0 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^3$	$6,0 \cdot 10^2$	$5,8 \cdot 10^2$	$9,7 \cdot 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$8,0 \cdot 10^5$	$3,2 \cdot 10^3$	$4,7 \cdot 10^2$	$4,5 \cdot 10^2$	$4,5 \cdot 10^2$
<i>Candida albicans</i>	$8,0 \cdot 10^5$	ND	ND	$7,8 \cdot 10^2$	$5,1 \cdot 10^1$
<i>Aspergillus niger</i>	$8,0 \cdot 10^5$	ND	ND	$5,3 \cdot 10^2$	$3,8 \cdot 10^1$

<sup>(3)</sup> J<sub>0</sub> = jour d'initiation du challenge-test (dénombrement de l'inoculum de départ)

**DOCUMENT 7 :****DÉTERMINATION *IN VITRO* DE LA CMI DU PHBM VIS-À-VIS DE DIFFÉRENTES SOUCHES BACTÉRIENNES CONTAMINANTES**

Méthode de dilution du conservateur en milieu solide



\* les concentrations de PHBM données sont des concentrations finales dans la gélose (en masse/masse)

## DOCUMENT 8 : FORMULATION D'UNE CRÈME COSMÉTIQUE

Pour un lot de formulation de 500 g

	Composants	Quantité (g)
<b>PHASE LIPOPHILE</b>	Cutina MD	55,0
	Eumulgade F	15,0
	Eutanol G	40,0
	Huile de maïs	35,0
	Huile de vaseline	25,0
	Lanoléine	15,0
<b>PHASE HYDROPHILE</b>	Propylène-glycol	5,0
	Végétol lierre	5,0
	Essence de lavande	2,5
	PHBM (E218)	1,0
	Eau distillée	301,5 (qsp 500 g)

**Remarque :** une fois l'émulsion réalisée et stabilisée, l'ensemble des composants se répartit de façon homogène dans le produit final.

### Le PHBM (parahydroxybenzoate de méthyle)

Le PHBM (parahydroxybenzoate de méthyle, appelé aussi méthyl-paraben) est un conservateur couramment utilisé en cosmétique, et faisant partie des « parabens ».

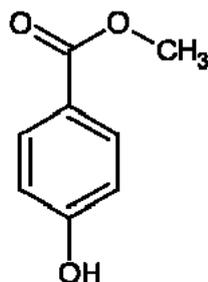
Sa codification européenne, parmi les additifs, est « E218 ».

Les parabens sont un groupe d'agents chimiques largement utilisés comme conservateurs dans les industries cosmétique et pharmaceutique. Ces composés, et les sels qui en dérivent, sont principalement utilisés pour leur propriété antibactérienne et antifongique.

On les retrouve dans des shampooings, des crèmes hydratantes, des gels lavant ou nettoyant, du dentifrice, et même certains médicaments.

Tous les parabens utilisés dans les produits commerciaux sont produits par synthèse chimique, bien que certains soient identiques à ceux trouvés dans la nature (comme le PHBM naturellement produit par l'airelle).

Formule : C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>



## E3-U33 BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008

Durée : 3 heures Coefficient 3  
Calculatrice autorisée

### L'ATRAZINE

L'atrazine ( $C_8H_{14}ClN_5$ ) est un herbicide utilisé pour détruire les mauvaises herbes dans les champs et toute la végétation dans les secteurs non cultivés. L'atrazine contamine le milieu aquatique par l'intermédiaire des eaux de ruissellement. C'est pourquoi il est nécessaire :

- d'évaluer les éventuels effets toxiques de cet herbicide sur l'Homme et la faune,
- de mesurer régulièrement son taux dans les eaux de surface et souterraines.

#### 1 Étude de l'action cytotoxique de l'atrazine. (22 points)

Afin d'étudier la cytotoxicité de l'atrazine, on se propose de mesurer les effets de l'exposition de faibles concentrations de l'herbicide sur la prolifération en culture *in vitro* d'une lignée cellulaire de cellules adhérentes (cellules d'ovaire d'hamster chinois : CHO K1) par le test au MTT présenté dans le **document 1**.

- 1.1 Donner le principe du test MTT.  
La lignée cellulaire utilisée est une lignée continue. Parmi les lignées continues, on distingue les lignées tumorale et transformée.
- 1.2 Définir le terme « lignée cellulaire ». Présenter les propriétés des cellules d'une lignée continue.  
Le protocole d'étude de la cytotoxicité de l'atrazine est présenté dans le **document 2**.
- 1.3 A partir des données du document 2 :
  - déterminer la dilution de la suspension cellulaire « S » en justifiant les calculs ;
  - donner la composition du témoin négatif à réaliser et préciser son rôle.
- 1.4 Quelle est l'action de la trypsine ? Pourquoi cette solution de trypsine contient-elle de l'EDTA ? Justifier vos réponses.  
Les résultats du test figurent dans le **document 3**.
- 1.5 Interpréter ces résultats.
- 1.6 Présenter les devenir de l'atrazine dans l'organisme humain sachant que cet herbicide est un xénobiotique soluble en milieu aqueux.

#### 2 Étude de l'action de l'atrazine sur le cycle cellulaire. (9 points)

Un certain nombre de données permettent d'envisager que l'atrazine a une action sur le cycle cellulaire. Le cycle cellulaire est composé de quatre phases : G1, S, G2 et M. Le fonctionnement des cellules en prolifération est basé sur l'existence de protéines appelées cyclines.

- 2.1 Préciser le mécanisme d'action des cyclines dans la régulation du cycle cellulaire.

Il est possible que l'atrazine agisse sur le complexe cdk1/cycline B appelé MPF. Le MPF provoque, entre autres, la condensation de la chromatine et la réorganisation des protéines du cytosquelette.

- 2.2 À partir de ces données, déterminer la phase du cycle cellulaire initiée par le MPF.  
Les expériences de mesure d'apoptose de cellules exposées à de faibles quantités d'atrazine ne montrent ni de fragmentation d'ADN ni d'augmentation de l'activité des caspases.
- 2.3 Expliquer le mécanisme de l'apoptose. Comment différencie-t-on les phénomènes d'apoptose et de nécrose ?

### 3 Étude de l'action de l'atrazine sur le métabolisme des stéroïdes. (13 points)

Des études menées chez les animaux ont montré que l'administration d'atrazine entraînait des déséquilibres hormonaux en exerçant ses effets sur le métabolisme des œstrogènes. Les œstrogènes sont des hormones stéroïdes. Les récepteurs des œstrogènes font partie de la superfamille des récepteurs nucléaires.

- 3.1 Définir une hormone.
- 3.2 Expliquer le mode d'action général d'une hormone stéroïde sur une cellule cible.  
Une enzyme clé dans la synthèse des œstrogènes est la cytochrome P450 aromatasase (CYP19). L'activité de l'aromatase est influencée par l'atrazine chez certaines cellules cultivées *in vitro*. Le **document 4** représente les résultats obtenus pour la lignée cellulaire surrénalienne humaine H295R.
- 3.3 Commenter les résultats.  
Des études récentes montrent que l'atrazine module *in vitro* la transcription du gène de l'aromatase.
- 3.4 D'après cette donnée et l'analyse du document 4, préciser si cette modulation correspond à une activation ou à une inhibition de la transcription.
- 3.5 Proposer un mécanisme possible permettant d'expliquer l'influence de l'atrazine sur la transcription du gène de l'aromatase.

### 4 Dosage de l'atrazine dans une eau potable. (16 points)

On se propose de doser l'atrazine dans un échantillon d'eau potable.

La fiche technique du dosage de l'atrazine est reproduite dans le **document 5**.

- 4.1 Expliquer l'intérêt des quatre étapes de ce test à l'aide de schémas légendés.
- 4.2 En déduire le nom de la méthode utilisée.
- 4.3 Préciser la composition et les rôles du témoin conjugué.

Le **document 6** fournit les résultats obtenus pour la gamme d'étalonnage et l'essai testé en double. Les deux essais ont été réalisés sur l'échantillon d'eau potable non dilué.

- 4.4 Déterminer le coefficient de corrélation et l'équation de la droite de régression linéaire  
$$\% B / B_0 = f(\log([\text{atrazine}] \text{ en } \mu\text{g.L}^{-1})).$$
  
En déduire la concentration en atrazine dans l'échantillon d'eau.
- 4.5 Interpréter le résultat obtenu pour cette eau potable sachant que la concentration maximale acceptable pour l'atrazine dans l'eau potable est de  $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

## **DOCUMENT 1 : EVALUATION DE LA PROLIFERATION CELLULAIRE. METHODE AU MTT.**

### **Présentation :**

Méthode Colorimétrie en microplaques.

Utilisation Évaluation de la viabilité cellulaire, de la prolifération et de la cytotoxicité.

Échantillons Cellules en culture adhérentes ou en suspension.

Principe Incubation des cellules avec MTT (bromure de (3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium) suivie d'une solubilisation de produit coloré et de sa mesure spectrophotométrique.

Durée 5 à 28 h.

**Contenu du coffret :** MTT et solution de solubilisation.

### **Principe et technique :**

Le coffret permet de mesurer l'activité métabolique des cellules viables. Le test basé sur l'utilisation de substances non radioactives, peut être entièrement réalisé sur microplaques.

Le principe du test repose sur la réduction du sel de tétrazolium MTT par les cellules viables. La réaction produit un sel de formazan bleu insoluble dans l'eau qui doit être solubilisé avant mesure.

La technique nécessite de cultiver les cellules en microplaques (96 puits) puis de les incuber en présence d'une solution de MTT pendant environ 4 heures.

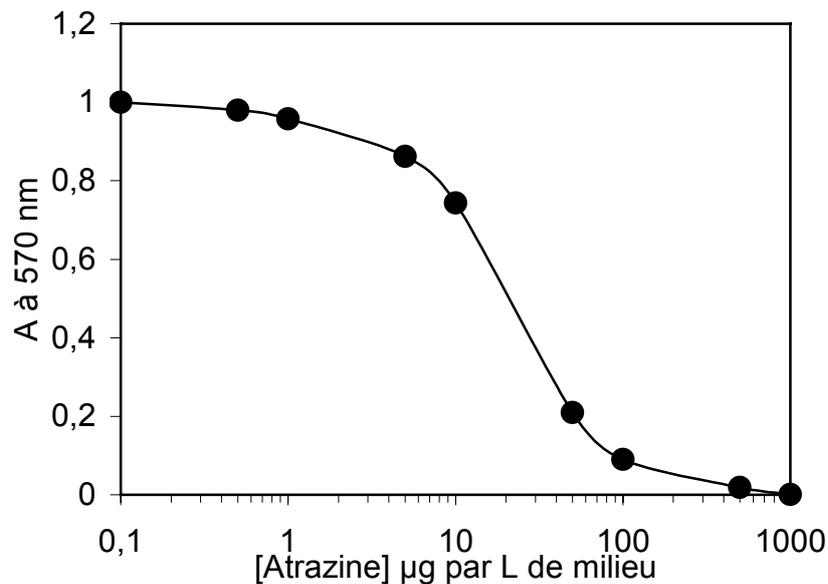
Pendant la période d'incubation, les cellules viables transforment le MTT en un colorant insoluble : le formazan. Le formazan doit être solubilisé dans la microplaque avant d'être mesuré à l'aide d'un lecteur de microplaques.

L'absorbance mesurée est directement proportionnelle au nombre de cellules.

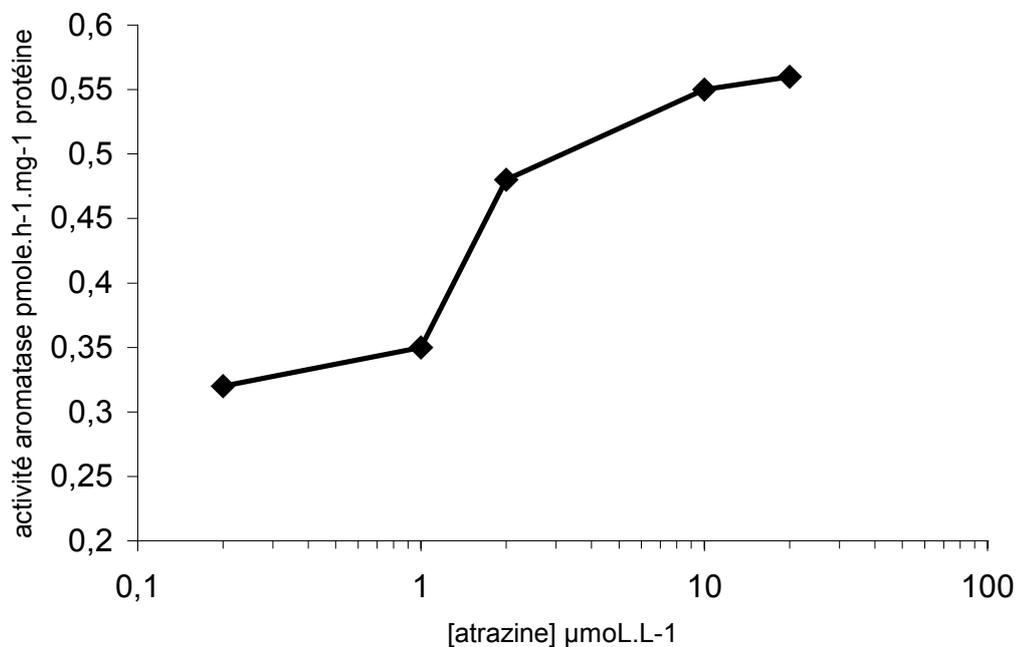
***D'après Roche Applied science.***

## **DOCUMENT 2 : PROTOCOLE DE CYTOTOXICITE**

- Éliminer par retournement le milieu de culture usagé.
- Rincer la surface du tapis cellulaire avec 5 mL de PBS. Éliminer par retournement.
- Inonder la surface du tapis cellulaire avec 1 mL de trypsine-EDTA. Incuber à 37°C pendant 2 minutes environ.
- Arrêter l'action de la trypsine-EDTA avec 3 mL de milieu DMEM complet. On obtient la suspension « S ».
- Une numération en hématimètre permet de déterminer la concentration cellulaire de la suspension « S » :  $1,5 \cdot 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup>.
- Prévoir la dilution de la suspension « S » à réaliser sachant qu'il faut ensemercer chaque puits avec 50 µL de suspension diluée, que chaque puits doit contenir 45 000 cellules par cm<sup>2</sup> et qu'un puits a une surface de 0,33 cm<sup>2</sup>.
- Ensemercer chacun des 10 puits de la microplaque 96 puits à fonds plats avec 50 µL de suspension « S » diluée.
- Préparer une gamme de 9 solutions d'atrazine en milieu DMEM complet à partir de la solution mère à 2 mg.L<sup>-1</sup>. Ajouter 50 µL de chaque solution étalon d'atrazine (0,2 à 2000 µg.L<sup>-1</sup>) dans les puits 2 à 10.
- Réaliser un témoin négatif dans le puits n°1.
- Incuber 72 h à 37°C en atmosphère saturée en eau et à 5 % de CO<sub>2</sub>.
- Évaluer le taux de prolifération cellulaire dans chacun des 10 puits par la méthode au MTT :
  - Ajouter 50 µL de solution de MTT dans chacun des 10 puits ;
  - Incuber 4 h à 37°C ;
  - Ajouter 50 µL de tampon de solubilisation ;
  - Laisser reposer 18 h à température ambiante (dissolution des cristaux) ;
  - Lire l'absorbance au lecteur de microplaque à 570 nm.

**DOCUMENT 3 : ETUDE DE L'ACTION CYTOTOXIQUE DE L'ATRAZINE**

(A du témoin négatif à 570 nm = 1,005)

**DOCUMENT 4 : ETUDE DE L'INFLUENCE DE L'ATRAZINE SUR L'EXPRESSION DE L'AROMATASE**

D'après J. Thomas Sanderson et coll. (2000). 2-chloro-s-triazine herbicides induce aromatase (CYP19) activity in H295R human adrenocortical carcinoma cells: a novel mechanism for estrogenicity. 54:121-127

## DOCUMENT 5 : PROTOCOLE DU DOSAGE DE L'ATRAZINE

1. Microtiter plates are coated with 100  $\mu\text{L}$ /well of sheep anti-atrazine antibody polyclonal diluted in coating buffer (40 mmol/L sodium carbonate, pH 9.6). When stored at 4°C, these plates are stable for at least two weeks.
2. Prior to use, plates are washed five times with washing solution (7 mmol/L phosphate buffered saline, pH 7.6, containing 0.85 g/L sodium chloride and 0.05% v/v Tween 20). Then the plates are incubated for 25 min with 200  $\mu\text{L}$ /well of 3% w/v bovine serum albumin supplemented phosphate-buffered saline (PBS, 80 mmol/L sodium phosphate, pH 7.6).
3. After washing the plates with washing solution, 100  $\mu\text{L}$  of standard or sample (diluted in PBS) are added to the wells. 50  $\mu\text{L}$  of the tracer (atrazine-HRP conjugate) are added to each well and incubated for 10 min. (HRP is the enzyme : horseradish peroxidase).
4. The plates are washed five times with washing solution, and 100  $\mu\text{L}$  of ready-to-use enzyme substrate solution (TMB : 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) are added. The enzyme reaction is stopped by adding 100  $\mu\text{L}$  of 5% v/v H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, and the absorbance at 450 nm is measured on a microtiter plate reader.

D'après : Winklmaier, M. *et coll.* (1997). Development of a highly sensitive enzyme-immunoassay for the determination of triazine herbicides. *Frenesius J Anal Chem* 358:614-622

## DOCUMENT 6 : RESULTATS DU DOSAGE DE L'ATRAZINE DANS UNE EAU POTABLE

	Et 1	Et 2	Et 3	Et 4	Et 5	Et 6	Essai 1	Essai 2
[Atrazine] $\mu\text{g.L}^{-1}$	100	10	1	0,1	0,01	0		
$A_{450 \text{ nm}}$	0,090	0,222	0,345	0,448	0,572	0,610	0,370	0,369
$\log ([\text{atrazine}] \text{ en } \mu\text{g.L}^{-1})$	2	1	0	- 1	- 2			
% B / B <sub>0</sub>	0	25,4	49,0	68,8	92,7	100	53,8	53,7

Les absorbances des solutions des puits étalons (Et 1 à Et 6) et essais 1 et 2 ont été mesurées contre le témoin conjugué.

Les deux essais 1 et 2 ont été réalisés sur l'échantillon d'eau non dilué.

Les valeurs obtenues sont normalisées sur une échelle de 0 à 100 par la conversion des absorbances en % B / B<sub>0</sub> :

$$\% B / B_0 = 100 \times (A - A_{\text{Et } 1}) / (A_{\text{Et } 6} - A_{\text{Et } 1})$$

Avec  $A_{\text{Et } 1}$  : absorbance de la solution du puits Et 1 ;  
 $A_{\text{Et } 6}$  : absorbance de la solution du puits Et 6.

## E4-U40 SCIENCES ET TECHNOLOGIES BIOINDUSTRIELLES 2008

Durée : 2 heures Coefficient 3  
Calculatrice autorisée

### FABRICATION DU « SAUCISSON DE LYON »

Le procédé de fabrication du «saucisson de Lyon» par une entreprise certifiée est présenté dans le document 1.

#### 1 Le procédé de fabrication. (24 points)

- 1.1 Pour chaque étape numérotée de 1 à 6, proposer un appareil susceptible de réaliser l'opération attendue.
- 1.2 Préciser les paramètres physiques qui seront contrôlés lors de ce procédé.
- 1.3 Dans une démarche qualité, l'entreprise sera tenue de consigner régulièrement les résultats de la qualification de ses appareillages.
  - 1.3.1 Qualifier ce type de contrôle.
  - 1.3.2 Dans le cadre de l'étape 3, quels peuvent être les critères de performance évalués ?
- 1.4 Le produit est amené progressivement à 21°C au cours de l'étuvage (étape 10).
  - 1.4.1 Le document 2 présente l'évolution du pH au cours de cette étape.
    - 1.4.1.1 Quels sont les agents responsables de cette évolution ?
    - 1.4.1.2 Décrire les phénomènes biologiques et biochimiques se déroulant durant les phases 1 et 2.
  - 1.4.2 Dans le but de garantir la salubrité et la qualité de ses produits, l'entreprise a développé une démarche HACCP.
    - 1.4.2.1 Donner la signification du sigle HACCP et sa traduction française.
    - 1.4.2.2 Le document 3 est un modèle HACCP relatif à l'étuvage (étape 10).
      - Un exemple de danger est présenté dans la première colonne du tableau. La définition du danger figure dans la norme XP V01-002. Quels peuvent être les éléments évoqués dans cette définition ?
      - Une limite critique est une valeur qui sépare un produit «conforme» d'un produit «non conforme». Illustrer cette affirmation à partir de la donnée de la deuxième colonne du tableau.
- 1.5 Dans le procédé de fabrication du saucisson les étapes d'affinage et de séchage peuvent se dérouler dans le même séchoir. Le mode de séchage adopté par l'entreprise met en œuvre la convection.
  - 1.5.1 Donner la définition du séchage.
  - 1.5.2 En quoi consiste un séchage par convection ? Citer un autre mode de séchage.
  - 1.5.3 La température du séchoir est maintenue à 12°C. Le séchage se fait par cycles successifs. Un cycle comprend deux étapes : une ventilation (d'environ 20 min) suivie d'une étape de repos (d'environ 40 min). Le séchage d'un saucisson sec de 100 g dure plusieurs semaines.
    - 1.5.3.1 Justifier le choix de la température et de la durée du séchage.
    - 1.5.3.2 Un saucisson sec de 100 g présente une teneur en eau de 35 % (masse d'eau / masse de produit fini). Au cours du procédé de fabrication, la mûlée perd 1/3 de son poids.

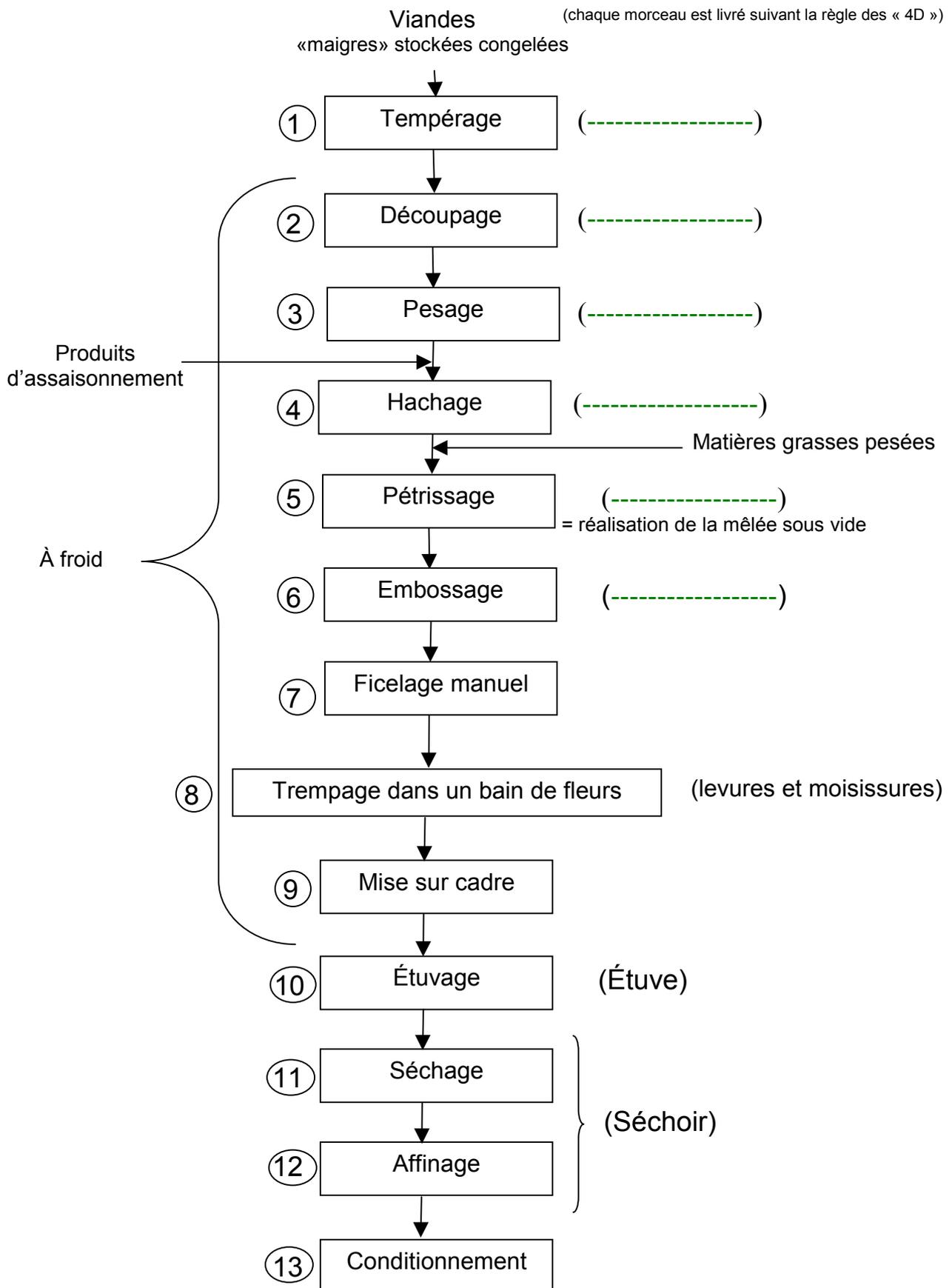
En admettant qu'il n'y a que des pertes d'eau, calculer, en pourcentage, la teneur en eau de la mûlée.

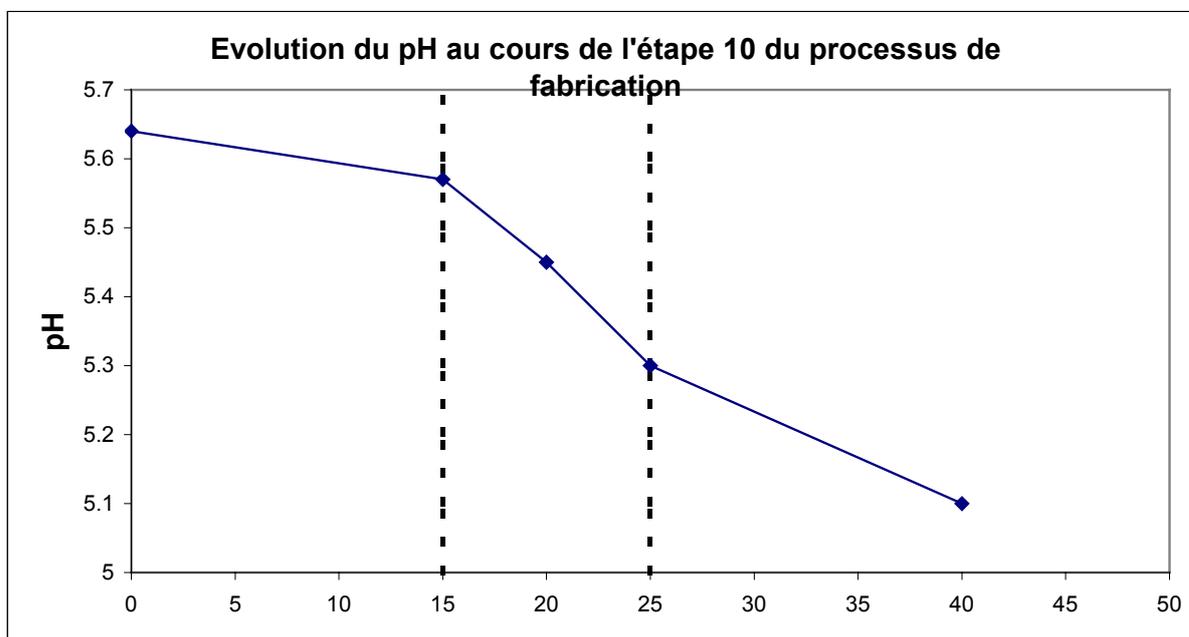
## 2 Matières premières et contrôles des produits. (36 points)

- 2.1** Les viandes utilisées en charcuterie sont livrées suivant la règle des «4D» qui rappelle les 4 principales opérations d'élimination d'éléments de la carcasse après l'abattage. Quels sont ces éléments ?
- 2.2** La viande est le produit de maturation du muscle.
- 2.2.1** Quelle est la principale réaction biochimique se déroulant lors de la maturation de la viande ?
- 2.2.2** La tendreté de la viande dépend de cette réaction et de la composition biochimique du muscle. La structure du collagène (composition en acides aminés, structure spatiale) est présentée dans le document 4.
- Expliquer pourquoi, plus le rapport collagène/protéines spécifiques du muscle est grand et moins la viande est tendre.
  - La viande de veau est plus tendre que la viande de bœuf. Proposer une explication.
- 2.3** L'assaisonnement des saucissons s'effectue par ajout d'additifs : sel, nitrates, sucres (glucose, saccharose ou lactose), épices (poivre, ail, paprika...), agents anti-oxygène...
- 2.3.1** Donner la définition d'un additif alimentaire.
- 2.3.2** Le sel est ajouté à raison de 30 g/kg de mûlée. Outre son rôle gustatif, expliquer l'importance du sel dans la fabrication du saucisson.
- 2.3.3** Les nitrates sont incorporés à raison de 0,5 g de nitrate de sodium par kg de mûlée. Ils sont réduits en nitrites.
- 2.3.3.1** Présenter les rôles des nitrites.
- 2.3.3.2** Le document 5 présente le bilan d'analyses effectuées par les laboratoires de la DGCCRF en 1999.
- Donner la signification des sigles NF, EN et DGCCRF.
  - Définir le seuil de quantification d'une méthode.
  - Retrouver dans ce document le taux maximal de nitrates admis dans le produit fini.
  - Malgré la réduction des nitrates en nitrites, la concentration en nitrates évolue peu. Expliquer ?
- 2.4** L'objectif d'une qualité de produit commercialisé impose, en plus de contrôles sur le produit fini, de nombreux contrôles en cours de fabrication.
- 2.4.1** Pour satisfaire le client, le produit fini doit répondre à des exigences. Dans quel document sont-elles spécifiées ?
- 2.4.2** Quels sont les avantages, pour l'entreprise, des contrôles en cours de fabrication ?
- 2.4.3** Dans le cadre de cette fabrication, on contrôle notamment la teneur en matières grasses par une technique de spectrométrie en proche infrarouge.
- 2.4.3.1** Où peuvent se situer des contrôles de ce type dans le diagramme de fabrication du document 1 ?
- 2.4.3.2** Quel est l'intérêt, dans une fabrication industrielle, de choisir ce type de technique par rapport aux techniques classiques d'analyses des lipides ?
- 2.4.3.3** Certains analyseurs infrarouge mis sur le marché ont une précision qui avoisine les 0,5 %.
- Définir la précision.
  - Par quelle démarche et quels calculs cette valeur a-t-elle été obtenue ?
- 2.4.3.4** Certaines entreprises de salaison ne font pas cette analyse tout en garantissant une teneur en matières grasses sur le produit fini.
- Expliquer en quoi les relations avec les fournisseurs de viandes «maigres» sont alors déterminantes.

## DOCUMENT 1 : PROCÉDE DE FABRICATION DU SAUCISSON DE LYON

### A COMPLETER ET A RENDRE AVEC LA COPIE



**DOCUMENT 2 :****DOCUMENT 3 : UN EXEMPLE DE PLAN HACCP (ETAPE 10)**

Description de danger	Limite critique	Procédures de surveillance	Procédures de rectification	Procédures de vérification	Dossiers HACCP
Une croissance possible d'agents pathogènes	pH descendu à 5,3 pour une montée en température de 3°C/heure	Un employé désigné - enregistre la mesure du pH à la fin de l'étape 10, - calcule le rapport degrés / heure et - compare avec les procédures pré-établies	Si le pH de 5,3 n'est pas atteint dans les 3°C/heure, le lot est retenu pour évaluation par le contrôle qualité (CQ).	Le CQ vérifie 5 fois par mois le pH et les degrés/heure	- Registre pH - Registre °C/heure

## DOCUMENT 4 : STRUCTURE ET COMPOSITION DU COLLAGÈNE

c
b
a

Les chaînes peptidiques constituant le tropocollagène ont une composition très inhabituelle en acides aminés. Elles sont riches en glycine (35 %), alanine (12 %) et en proline ou hydroxyproline (20 %). Certains résidus de lysine peuvent être transformés et contribuer à un pontage très solide.

$$\begin{array}{ccc}
 \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ | \quad | \quad || \\ -\text{N}-\text{C}-\text{C}- \\ | \quad | \\ (\text{CH}_2)_4 \\ +\text{NH}_3 \\ \text{Lysine} \end{array} & \xrightarrow[\text{E.C. 1.4.1.18}]{\text{Lysyl-aminoxydase}} & \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ | \quad | \quad || \\ -\text{N}-\text{C}-\text{C}- \\ | \quad | \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \text{CHO} \\ \text{Allylysine} \end{array} \\
 & & \begin{array}{l} \swarrow + \text{allysine} \quad \searrow + \text{lysine} \\ \begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{C}- \\ | \\ (\text{CH}_2)_3 \\ | \\ \text{CH} \\ | \\ \text{C}-\text{CHO} \\ | \\ (\text{CH}_2)_2 \\ | \\ \text{H} \\ \text{formation d'aldol} \end{array} & \begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{C}- \\ | \\ (\text{CH}_2)_4 \\ | \\ \text{NH} \\ | \\ (\text{CH}_2)_4 \\ | \\ \text{H} \\ \text{formation de lysinonorleucine} \end{array} \end{array}
 \end{array}$$

**Structure du collagène**  
a : fibrilles de collagène  
b : molécule de tropocollagène  
c : agrandissement de la molécule de tropocollagène

**Structure de la lysine et de l'allylysine et formation de liaisons intercaténares au sein du collagène.**

### Document 5 : LABORATOIRES DE LA DGCCRF BILAN 1999 Nitrates et nitrites dans les produits carnés

#### Contexte

Plusieurs directives communautaires réglementant l'utilisation des additifs dans les denrées alimentaires ont été transposées en droit national par l'arrêté du 2 Octobre 1997. La teneur résiduelle dans les produits carnés a fait l'objet d'une évaluation après l'application de ce texte.

#### Méthodologie

95 échantillons de produits carnés de tous types ont été analysés.

La méthode utilisée pour le dosage des nitrites est la norme NF V 04-409 (méthode de référence). La méthode utilisée pour le dosage des nitrates est la prénorme EN V 12014-4 (méthode CLHP). Les seuils de quantification sont :

- pour les nitrites : 5 mg/kg (valeur exprimée en NaNO<sub>2</sub>) ;
- pour les nitrates : 10 mg/kg (valeur exprimée en NaNO<sub>3</sub>).

#### Résultats

Les quantités maximales résiduelles sont fixées par l'arrêté du 2 Octobre 1997 :

##### Pour les nitrites de potassium (E 249) et de sodium (E 250)

- dans les produits de charcuterie et de salaison non cuits, séchés : 50 mg /kg (valeur exprimée en NaNO<sub>2</sub>) ;
- dans les autres produits de salaison et charcuterie, produits de viande en conserve, foies gras, foies gras entiers et blocs de foie gras : 100 mg /kg (valeur exprimée en NaNO<sub>2</sub>) ;
- dans le bacon traité en salaison : 175 mg /kg (valeur exprimée en NaNO<sub>2</sub>).

##### Pour les nitrates de potassium (E 251) et de sodium (E 252)

- dans les produits de charcuterie et de salaison et les produits de viande en conserve : 250 mg /kg (valeur exprimée en NaNO<sub>3</sub>).

## E1-U10 ANGLAIS 2009

*Durée : 2 heures Coefficient 2  
L'usage de la calculatrice est interdit.  
L'usage d'un dictionnaire bilingue est autorisé*

### The world's wild places are falling silent

For decades, the chief threat to the world's wildlife was habitat destruction. Whether it was from impoverished locals burning a forest to raise cattle or a multinational denuding a tree-covered Malaysian hillside, wildlife was dying because species were being driven from their homes. Yes, poachers killed tigers and other trophy animals and subsistence hunters took monkeys for bushmeat to put on their tables, but they were not a primary danger.

That has changed. "Hunting, especially in Central and West Africa, is much more serious than we imagined," says Russel Mittermeier, president of Conservation International. "It's huge," with the result that hunting now constitutes the pre-eminent threat to some species. That threat has been escalating over the past decades largely because the opening of forests to logging and mining means that roads connect once impenetrable places to towns. "It's easier to get to where wildlife is and then to have access to markets," says conservation biologist Elizabeth Bennett of the Wildlife Conservation Society. Economic forces are also at play. Thanks to globalization, meat, fur, skins and other animal parts "are sold on an increasingly massive scale across the world," she says. Smoked monkey carcasses travel from Ghana to New York and London, while gourmets in Hanoi and Guangzhou feast on turtles and pangolins from Indonesia. There is a thriving market for bushmeat among immigrants in Paris, New York, Montreal, Chicago and other points in the African diaspora, with an estimated 13,000 pounds of bushmeat - much of it primates - arriving every month in seven European and North American cities alone. "Hunting and trade have already resulted in widespread local extinctions in Asia and West Africa," says Bennett. "The world's wild places are falling silent."

The problem now is that hunting, even of supposedly protected animals, is a global multimillion-dollar business. Eating bushmeat "is now a status symbol," says Thomas Brooks of Conservation International. "It's not a subsistence issue. It's not a poverty issue. It's considered supersexy to eat bushmeat."

However the situation is not hopeless. With governments and conservationists recognizing the extinction threat posed by logging, mining and hunting, they are taking steps to ensure that animals do not come out along with the wood and minerals. In one collaboration, the government of Congo and the WCS work with a Swiss company, Congolaise Industrielle des Bois, to ensure that employees and their families hunt only for their own needs; the company also makes sure that bushmeat does not get stowed away on logging trucks as illegal hunters try to take their haul to market.

*Abridged and adapted from Sharon Begley, 'Africa', Newsweek, August 6, 2007*

## QUESTIONS

### 1 Compréhension (10 points)

- 1.1 Faire un compte rendu de l'article en français en mettant en évidence les idées essentielles (environ 120 mots, ± 10%).
- 1.2 Traduire en français le texte de la ligne 16 ("There is a thriving market... " à la ligne 21 ("...are falling silent. ").

### 2 Expression en anglais (10 points)

Answer the following questions in English.

- 2.1 What sorts of threats is the world's wildlife facing nowadays and why? (120 words, ± 10%)
- 2.2 Are there any solutions to the problem of the extinction of animal species? (100 words, ± 10%)

## E2-U21 MATHÉMATIQUES 2009

*Durée : 2 heures Coefficient 2*

*La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.*

*L'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé.*

*Le formulaire de mathématiques est joint au sujet (NON REPRODUIT ICI).*

### 1 EXERCICE 1 (9 points)

*Les deux parties de cet exercice sont indépendantes.*

Un industriel fabrique des tuyaux en PVC destinés à l'évacuation des eaux sanitaires des habitations.

#### 1.1 Loi binomiale et approximation d'une loi binomiale par une loi de Poisson

Dans cette partie, les résultats approchés sont à arrondir à  $10^{-3}$ .

##### 1.1.1 On s'intéresse à une livraison importante de tuyaux en PVC pour un grand groupe du secteur de la construction.

On note E l'événement « un tuyau prélevé au hasard dans la livraison est défectueux ».

On suppose que  $P(E) = 0,015$ .

On prélève au hasard 20 tuyaux dans la livraison pour vérification. La livraison est assez importante pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 20 tuyaux.

On considère la variable aléatoire X qui, à tout prélèvement ainsi défini, associe le nombre de tuyaux défectueux de ce prélèvement.

##### 1.1.1.1 Justifier que la variable aléatoire X suit une loi binomiale dont on déterminera les paramètres.

##### 1.1.1.2 Calculer la probabilité que, dans un tel prélèvement, aucun des tuyaux ne soit défectueux.

##### 1.1.1.3 Calculer la probabilité que, dans un tel prélèvement, deux tuyaux au plus soient défectueux.

##### 1.1.2 Les tuyaux sont expédiés dans les dépôts régionaux par lots de 200.

On prélève au hasard 200 tuyaux pour vérification dans un stock important. Le stock est assez important pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 200 tuyaux.

On considère la variable aléatoire Y qui, à tout prélèvement de 200 tuyaux, associe le nombre de tuyaux de ce prélèvement qui sont défectueux.

On admet que la variable aléatoire Y suit la loi binomiale de paramètres 200 et 0,015.

##### 1.1.2.1 On considère que la loi de Y peut être approchée par une loi de Poisson. Déterminer le paramètre $\lambda$ de cette loi de Poisson.

##### 1.1.2.2 On désigne par Z une variable aléatoire suivant la loi de Poisson de paramètre $\lambda$ où $\lambda$ a la valeur obtenue au 1.1.1.1.

Calculer  $P(Z \leq 4)$

#### 1.2 Loi normale

Dans cette partie, les résultats approchés sont à arrondir à  $10^{-2}$ .

Dans cette partie on s'intéresse au diamètre extérieur des tuyaux, exprimé en millimètres.

On note  $D_1$  la variable aléatoire qui, à tout tuyau prélevé au hasard dans la production d'une journée, associe son diamètre extérieur. On suppose que la variable aléatoire  $D_1$  suit la loi normale de moyenne 40 et d'écart type 0,2. Un tuyau ne peut être commercialisé que lorsque son diamètre extérieur est compris entre 39,6 mm et 40,4 mm.

##### 1.2.1 Calculer la probabilité qu'un tuyau prélevé au hasard dans la production de la journée soit commercialisable.

L'entreprise désire améliorer la qualité de la fabrication des tuyaux : il est envisagé de modifier le réglage des machines produisant les tuyaux. On note  $D_2$  la variable aléatoire qui, à chaque tuyau prélevé au hasard dans la production journalière future, associera son diamètre. On suppose que la variable aléatoire  $D_2$  suit une loi normale de moyenne 40 et d'écart type  $\sigma$ .

##### 1.2.2 Déterminer $\sigma$ pour que la probabilité qu'un tuyau prélevé au hasard dans la production journalière future puisse être commercialisable soit égale à 0,99.

## 2 EXERCICE 2 (11 points)

Les deux parties de cet exercice peuvent être traitées de façon indépendante.

### 2.1 Résolution d'une équation différentielle

On considère l'équation différentielle (E) :  $2y' + y = 8 e^{-0,5t}$  où  $y$  est une fonction de la variable réelle  $t$ , définie et dérivable sur  $[0, +\infty[$ , et  $y'$  la fonction dérivée de  $y$ .

2.1.1 Déterminer les solutions sur  $[0, +\infty[$  de l'équation différentielle ( $E_0$ ) :  $2y' + y = 0$ .

2.1.2 Soit  $h$  la fonction définie sur  $[0, +\infty[$  par  $h(t) = 4t e^{-0,5t}$

Démontrer que la fonction  $h$  est une solution particulière de l'équation différentielle (E).

2.1.3 En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).

2.1.4 Déterminer la solution  $f$  de l'équation différentielle (E) qui vérifie la condition initiale  $f(0) = 1$ .

### 2.2 Étude d'une fonction et calcul intégral

Soit  $f$  la fonction définie sur  $[0, 15]$  par  $f(t) = (4t + 1) e^{-0,5t}$ .

On désigne par  $C$  la courbe représentative de  $f$  dans un repère orthogonal  $(O; \vec{i}, \vec{j})$

Unités graphiques: 1 cm sur l'axe des abscisses, 4 cm sur l'axe des ordonnées.

2.2.1 On désigne par  $f'$  la fonction dérivée de la fonction  $f$ .

On admet que, pour tout nombre réel  $t$  de  $[0, 15]$ ,  $f'(t) = (3,5 - 2t) e^{-0,5t}$ .

Ce résultat n'a pas à être démontré

2.2.1.1 Étudier le signe de  $f'(t)$  sur  $[0, 15]$ .

2.2.1.2 Établir alors le tableau de variation de  $f$

2.2.2 Tracer la courbe  $C$  sur une feuille de papier millimétré.

2.2.3 Soit  $F$  la fonction définie sur  $[0, 15]$  par :  $F(t) = (-18 - 8t) e^{-0,5t}$

2.2.3.1 Démontrer que la fonction  $F$  est une primitive de la fonction  $f$  sur  $[0, 15]$ .

2.2.3.2 On note  $I = \int_0^{11} f(t) dt$ . Démontrer que  $I = 18 - 106 e^{-5,5}$ .

### 2.3 Application des parties 2.1 et 2.2

Dans une usine, on se propose de tester un nouveau modèle de hotte aspirante pour les laboratoires.

Avant de lancer la fabrication en série, on a réalisé l'expérience suivante avec un prototype: dans un local clos de volume  $500 \text{ m}^3$ , équipé du prototype de hotte aspirante, on diffuse du dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) à débit constant.

Dans ce qui suit,  $t$  est le temps exprimé en minutes.

À l'instant  $t_0$ , la hotte est mise en marche. Les mesures réalisées permettent d'admettre qu'au bout de  $t$  minutes de fonctionnement de la hotte, avec  $0 \leq t \leq 15$ , le volume de dioxyde de carbone, exprimé en  $\text{m}^3$ , contenu dans le local est  $f(t)$ , où  $f$  est la fonction définie dans la partie 2.2.

2.3.1 Déterminer le volume de dioxyde de carbone, en  $\text{m}^3$ , présent dans le local au moment de la mise en marche de la hotte aspirante.

2.3.2 L'atmosphère « ordinaire » contient 0,035 % de dioxyde de carbone, ce qui correspond pour le local où a été réalisé l'expérience à un volume de  $0,175 \text{ m}^3$  de dioxyde de carbone.

À l'aide d'une lecture graphique sur la figure réalisée à la question 2.2.2., déterminer au bout de combien de temps de fonctionnement de la hotte aspirante l'atmosphère dans le local clos contenait un volume de dioxyde de carbone inférieur ou égal à  $0,175 \text{ m}^3$ .

2.3.3 Calculer le volume moyen  $V_m$  de dioxyde de carbone présent dans le local pendant les 11 premières minutes de fonctionnement de la hotte aspirante. Donner la valeur exacte de  $V_m$ , puis la valeur approchée de  $V_m$  arrondie à  $10^{-1}$ .

La formule donnant la valeur moyenne d'une fonction est dans le formulaire ci-joint.

## E2-U22 SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES 2009

Durée : 2 heures Coefficient 3

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.

Conformément aux dispositions de la circulaire n° 99-018 du 01/02/1999, l'usage de la calculatrice est autorisé.

### 1 SPECTROSCOPIE DE L'ATOME DE LITHIUM (15 points)

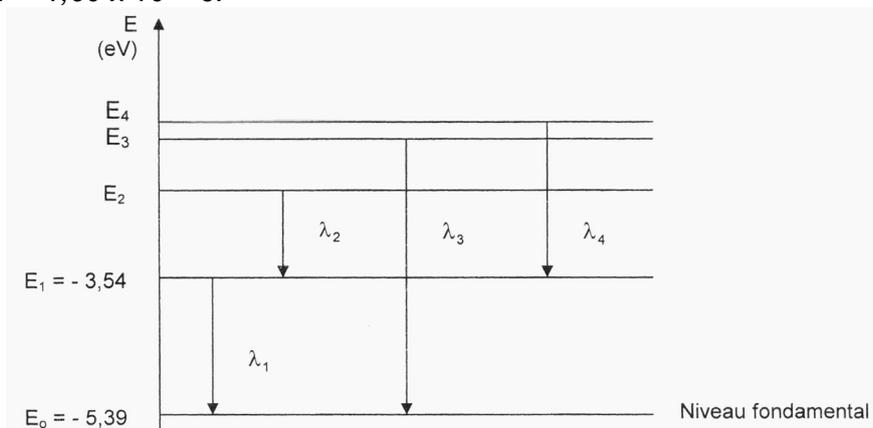
Le spectre d'un atome peut être considéré comme sa carte d'identité; il permet en effet de connaître des informations telles que les différents niveaux d'énergie atomiques. La figure ci-dessous représente le diagramme très simplifié des niveaux d'énergie de l'atome de lithium Li et quatre transitions entre ces niveaux.

#### Données

Célérité de la lumière dans le vide:  $c = 3,00 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$

Constante de Planck:  $h = 6,63 \times 10^{-34} \text{ J.s}$ .

$1 \text{ eV} = 1,60 \times 10^{-19} \text{ J}$ .



Les longueurs d'onde associées à ces transitions sont :

$\lambda_1 \quad \lambda_2 = 812 \text{ nm} \quad \lambda_3 = 323 \text{ nm} \quad \lambda_4 = 610 \text{ nm}$ .

- 1.1 À quels domaines de radiations correspondent les longueurs d'onde  $\lambda_2$ ,  $\lambda_3$ ,  $\lambda_4$ ?
- 1.2 Ces quatre transitions correspondent-elles à l'émission ou à l'absorption de photons? Justifier la réponse.
- 1.3 Calculer en eV les énergies  $W_1$ ,  $W_2$ ,  $W_3$ ,  $W_4$  des photons correspondants.
- 1.4 En déduire les énergies  $E_2$ ,  $E_3$ , et  $E_4$  des trois niveaux supérieurs du diagramme et la longueur d'onde  $\lambda_1$ .
- 1.5 Un photon d'énergie  $W = 3,00 \text{ eV}$  peut-il être absorbé par l'atome de lithium dans son état fondamental? Justifier la réponse.
- 1.6
  - 1.6.1 Déterminer la valeur de l'énergie d'ionisation de l'atome de lithium à partir de l'état fondamental.
  - 1.6.2 Un photon d'énergie  $W = 6,00 \text{ eV}$  peut-il ioniser l'atome de lithium pris à l'état fondamental? Justifier la réponse. Si oui, quelle est la valeur de l'énergie cinétique de l'électron éjecté?
- 1.7 Quel appareil permet d'observer la partie visible du spectre d'une lampe à vapeur de lithium?

### 2 MICROSCOPE (15 points)

Inventé au XVII<sup>ème</sup> siècle, le microscope est un système optique très répandu dans les laboratoires.

Le modèle utilisé par un expérimentateur est constitué d'un objectif et d'un oculaire assimilés à des lentilles minces, respectivement  $L_1$  et  $L_2$ , de centres optiques  $O_1$  et  $O_2$ .

Les distances focales de l'objectif et de l'oculaire sont respectivement

$$f'_1 = \overline{O_1F'_1} = 4,00 \text{ mm} \text{ et } f'_2 = \overline{O_2F'_2} = 4,00 \text{ cm}$$

L'intervalle optique entre les deux lentilles, noté  $\Delta$ , est la distance qui sépare le foyer image  $F'_1$  de l'objectif du foyer objet  $F_2$  de l'oculaire :  $\Delta = \overline{F'_1F_2} = 16,0 \text{ cm}$ .

Un expérimentateur ayant une vue normale (vision distincte entre l'infini et la distance minimale de vision distincte  $d_m = 25,0$  cm) observe à travers le microscope l'image finale A'B' perpendiculaire à l'axe optique donnée par l'instrument d'optique d'un objet AB. Ce dernier de longueur  $2,0$   $\mu\text{m}$  est placé perpendiculairement à l'axe optique à  $4,10$  mm devant l'objectif (le pied A de l'objet et le pied A' de l'image sont situés sur l'axe optique).

Formule de conjugaison de la lentille mince  $L_1$  de centre optique  $O_1$ , de distance focale  $f'_1 = \overline{O_1F'_1}$ , par laquelle un objet ponctuel A sur l'axe optique admet une image ponctuelle A1 sur l'axe optique :

$$\frac{1}{\overline{O_1A_1}} - \frac{1}{\overline{O_1A}} = \frac{1}{\overline{O_1F'_1}}$$

Grandissement pour l'image  $A_1B_1$  perpendiculaire à l'axe optique de l'objet AB perpendiculaire à l'axe optique :

$$\gamma_1 = \frac{\overline{A_1B_1}}{\overline{AB}} = \frac{\overline{O_1A_1}}{\overline{O_1A}}$$

Deux grandeurs caractéristiques du microscope:  $P_i = \frac{\Delta}{f'_1 \times f'_2}$  et  $G_c = P_i \times d_m$

## 2.1 Vision sans accommodation

- 2.1.1 Démontrer par le calcul que l'image intermédiaire A1B1 est dans le plan focal objet de l'oculaire.
  - 2.1.2 Déterminer sa taille.
  - 2.1.3 Citer 3 caractéristiques de l'image intermédiaire A1B1.
  - 2.1.4 Déterminer sans aucun calcul la position de l'image finale A'B'.
  - 2.1.5 Justifier que l'observateur ayant une vue normale, n'accommode pas en regardant l'image finale donnée par le microscope.
  - 2.1.6 Faire un schéma clair du microscope pour cette observation en faisant apparaître les images  $A_1B_1$  et A'B' (un schéma de principe, sans échelle, est attendu).
- ## 2.2 Calculs de quatre grandeurs caractéristiques du microscope:
- 2.2.1 Définir les grandeurs  $P_i$  et  $G_c$  et calculer leurs valeurs.
  - 2.2.2 Deux nombres sont gravés sur l'objectif, dont l'un est l'ouverture numérique. Indiquer à quelle grandeur correspond l'autre nombre. Déterminer sa valeur.
  - 2.2.3 Un seul nombre est gravé sur l'oculaire. Indiquer à quelle grandeur correspond ce nombre. Déterminer sa valeur.
- ## 2.3 On démontre que pour un objectif de 6,00 mm de diamètre, son image donnée par l'oculaire est à 4,98 cm du centre optique de l'oculaire et possède un diamètre de 1,5 mm environ.
- 2.3.1 Indiquer le nom usuel donné à cette image de l'objectif par l'oculaire.
  - 2.3.2 L'expérimentateur se place environ à 5 cm de l'oculaire. La pupille dilatée de l'oeil a un diamètre approximatif de 8 mm. Justifier le fait que l'observation soit effectuée dans des conditions optimales de luminosité.

## 3 CINÉTIQUE D'UNE SUBSTITUTION NUCLÉOPHILE (15 points)

On traite le (2R)-2-chlorobutane par les ions hydroxyde  $\text{HO}^-$ , en maintenant la température constante. Dans ces conditions, ce dérivé chloré, noté R - Cl, subit une substitution nucléophile dont l'équation de la réaction est la suivante :



On se propose de vérifier qu'il s'agit d'un mécanisme d'ordre 2 (SN2).

Pour cela, on introduit dans un vase réactionnel un mélange équimolaire d'une solution contenant le dérivé chloré R - Cl et d'une solution contenant les ions hydroxyde  $\text{HO}^-$  tel que  $[\text{R} - \text{Cl}]_0 = [\text{HO}^-]_0 = C_0 = 0,500 \text{ mol.L}^{-1}$ .

La cinétique de cette réaction est suivie en déterminant la concentration [R - Cl] en dérivé chloré restant dans le mélange réactionnel en fonction du temps le mélange liquide garde un volume constant.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous

t (min)	0	10	20	30	60	120
[R - Cl] (mol.L <sup>-1</sup> )	0,500	0,357	0,277	0,227	0,147	0,086

3.1 Donner l'expression de la vitesse de la réaction en fonction de la dérivée par rapport au temps de la concentration molaire [R - Cl].

3.2

3.2.1 Donner l'expression de la vitesse de la réaction en fonction des concentrations [R-Cl] et [HO<sup>-</sup>] en supposant une cinétique d'ordre 1 par rapport au dérivé chloré R - Cl et d'ordre 1 par rapport aux ions HO<sup>-</sup> (ordre global 2), k étant la constante de vitesse de la réaction.

3.2.2 Montrer qu'on a alors la relation :  $\frac{1}{[R-Cl]} = kt + \frac{1}{C_0}$

3.3 En utilisant les données expérimentales du tableau, vérifier par la méthode de votre choix (graphique ou régression linéaire) que la réaction obéit à un mécanisme d'ordre global 2.

3.4 Déterminer par la méthode de votre choix (graphique ou régression linéaire) la valeur de la constante de vitesse k de la réaction.

3.5 Citer 2 facteurs cinétiques influençant la vitesse d'une réaction chimique.

3.6

3.6.1 Définir le temps de demi-réaction noté  $t_{1/2}$ .

3.6.2 À l'aide de la relation donnée à la question 2.2, donner l'expression littérale de  $t_{1/2}$ .

3.6.3 Calculer  $t_{1/2}$ .

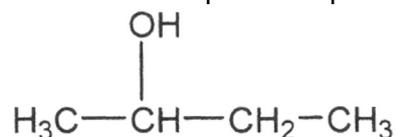
3.6.4 Comment évolue  $t_{1/2}$  si on augmente la température de la réaction ? Justifier la réponse.

## 4 CHIMIE ORGANIQUE (15 points)

Les alcools étant largement utilisés comme intermédiaires de synthèse (industrie des polymères, industrie pharmaceutique...), il paraît pertinent de s'intéresser à la réactivité chimique de l'un d'entre eux, le composé A. Employés aussi comme solvants dans l'industrie et dans la vie courante, les alcools présentent une toxicité connue aujourd'hui, ce qui entraîne des précautions particulières d'utilisation.

4.1 Structure moléculaire de A

La molécule de composé A a pour formule semi-développée :



(A)

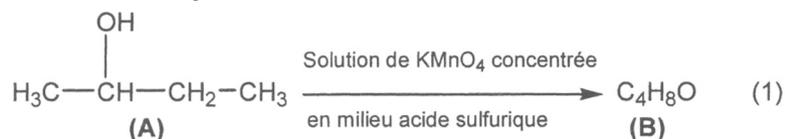
4.1.1 Citer le nom du groupe caractéristique présent dans cette molécule.

4.1.2 Nommer cette molécule en nomenclature systématique.

4.1.3 Donner les représentations de Cram des deux isomères optiques de A. Quel nom donne-t-on à la relation d'isomérisme liant les deux isomères optiques?

4.1.4 Donner la configuration absolue de l'atome de carbone asymétrique dans chaque isomère optique en précisant les règles utilisées.

## 4.2 Réaction d'oxydoréduction



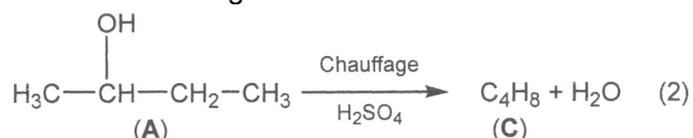
Le composé B obtenu est une cétone.

4.2.1 Donner le nom et la formule semi-développée de B.

4.2.2 Écrire les demi-équations électroniques mises en jeu dans la réaction (1) sachant que les deux couples d'oxydoréduction mis en jeu sont  $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}/\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$  et  $\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}$ .

4.2.3 En déduire l'équation de la réaction d'oxydoréduction mise en jeu.

4.3 Effet du chauffage en milieu acide



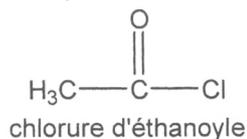
4.3.1 D'après le bilan à quelle famille de réactions s'apparente la réaction (2) ? Est-ce une addition, une substitution ou une élimination ?

4.3.2 La réaction (2) conduit au composé C, présent sous forme de deux isomères de position notés C1 et C2. Donner les formules semi-développées et nommer C1 et C2

4.3.3 Parmi ces deux isomères, quel est celui qui se forme majoritairement ? Justifier la réponse.

4.4 Action d'un chlorure d'acide

On fait agir le chlorure d'éthanoyle sur le composé A.



On obtient plusieurs produits dont un composé organique D.

4.4.1 Écrire l'équation de la réaction.

4.4.2 Quelle fonction organique est présente dans le composé D ?

4.4.3 Quel est l'intérêt d'utiliser un chlorure d'acide plutôt qu'un acide carboxylique dans cette transformation ?

## E3-U31 BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009

Durée : 3 heures Coefficient 3 Calculatrice autorisée  
Dictionnaire anglais-français autorisé

### LES FRUITS ET LÉGUMES FRAIS : QUELQUES ASPECTS DE LEUR CONSERVATION ET DE LEUR CONDITIONNEMENT

La dégradation des fruits et légumes après récolte est essentiellement due à des phénomènes physico-chimiques, biochimiques et à de mauvaises conditions de stockage.

On observe en particulier :

- un flétrissement par déshydratation,
- l'apparition de taches foncées dues au brunissement enzymatique.

Des études ont été menées pour prévenir ces phénomènes afin d'allonger la période de conservation des fruits et légumes après cueillette et préserver leur aspect.

On se propose d'aborder deux stratégies visant :

- à limiter le phénomène de brunissement enzymatique,
- à améliorer les conditions de stockage par utilisation d'atmosphères contrôlées.

#### 1 Prévention du brunissement enzymatique (42 points)

Les sulfites, longtemps utilisés comme agents anti-brunissement, sont interdits depuis 1996, ce qui a conduit à la recherche de solutions alternatives.

Certaines préparations protéasiques sont reconnues pour avoir une efficacité anti-brunissement. C'est le cas des préparations commerciales de papaïne qui proviennent du latex de papaye.

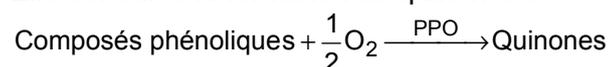
Des recherches ont été menées pour mettre en évidence l'action anti-brunissement d'un extrait de papaïne sur les végétaux et pour purifier le ou les agents responsables de cet effet. Leur action inhibitrice sur le brunissement enzymatique et leur non-toxicité pourraient en faire de bons candidats pour remplacer les sulfites.

##### 1.1 Purification des polyphénoloxydases (PPO) d'une salade : la scarole

Le brunissement enzymatique est dû à une oxydation par l'oxygène moléculaire des composés phénoliques présents dans le végétal.

Cette réaction est essentiellement catalysée par les polyphénoloxydases (EC 1.14.18.1) ou PPO présentes dans les végétaux.

Elle conduit à la formation de quinones :



Les quinones se condensent rapidement pour former des polymères bruns ou noirs, de haute masse moléculaire, responsables du brunissement.

Afin d'étudier l'effet anti-brunissement d'un extrait de papaïne, on réalise dans un premier temps une extraction-purification des PPO de scarole.

##### 1.1.1 Protocole d'extraction-purification.

Les différentes étapes sont consignées par le **document 1**.

1.1.1.1 Expliquer pourquoi les différentes étapes de l'extraction-purification sont menées à 4°C et en milieux tamponnés.

1.1.1.2 Calculer le volume d'une solution saturée de sulfate d'ammonium à prélever pour obtenir 30 % de saturation à l'étape 2.

1.1.1.3 Expliquer le mécanisme conduisant à la précipitation par le sulfate d'ammonium.

1.1.1.4 Justifier l'étape de dialyse.

1.1.1.5 Pourquoi chaque centrifugation est-elle caractérisée par un nombre de g et non par une vitesse de rotation en rpm ?

$$\text{Donnée : } N = \frac{\omega^2 r}{g}$$

N : nombre de g = force centrifuge relative

g : accélération de la pesanteur ( $\text{m.s}^{-2}$ )

$\omega$  : vitesse angulaire ( $\text{rad.s}^{-1}$ )

r : rayon de centrifugation (m)

### 1.1.2 Suivi de purification des PPO de scarole.

On réalise sur chaque fraction E, S<sub>30</sub>, P<sub>80</sub> et PPOS (**document 1**) :

- une détermination de la concentration en protéines ( $\rho_{\text{Prot}}$ ) ;
- un dosage de la concentration d'activité catalytique ( $C_{\text{cat}}$ ) polyphénoloxydasique selon le protocole du **document 2a**.

Les résultats sont résumés dans le tableau du **document 2b**.

1.1.2.1 Schématiser l'allure de la courbe donnant la concentration en dioxygène en fonction du temps.

1.1.2.2 Définir la vitesse initiale ( $V_i$ ). Comment la détermine-t-on à partir de la courbe précédente ?

1.1.2.3 Pourquoi le mélange réactionnel doit-il être initialement saturé en dioxygène ? Justifier la réponse en utilisant l'équation de Michaelis et Menten.

1.1.2.4 Donner la formule littérale permettant de calculer la concentration d'activité catalytique ( $C_{\text{cat}}$ ) de chaque fraction.

1.1.2.5 Écrire les formules littérales permettant de calculer, pour chaque fraction :

- la masse totale m des protéines (en mg) ;
- l'activité totale AT (en nkat) ;
- l'activité spécifique AS (en nkat.mg<sup>-1</sup>) ;
- le rendement R en pourcentage par rapport à l'extrait brut ;
- le facteur P de purification par rapport à l'extrait brut.

1.1.2.6 Retrouver les valeurs m, AT, AS, R et P de la fraction PPOS du **document 3**.

1.1.2.7 Commenter les valeurs des rendements et les facteurs de la purification finale.

### 1.2 Effet d'une préparation commerciale de papaïne sur le brunissement enzymatique

Des études portant sur une préparation commerciale de papaïne (dont un fort effet anti-brunissement avait été remarqué sur des tranches de fruits) ont conduit à formuler les trois hypothèses suivantes :

Hypothèse A : l'effet anti-brunissement est dû à la papaïne ( $MM = 21000 \text{ g.mol}^{-1}$ ), principale protéase présente dans l'extrait.

Hypothèse B : l'effet anti-brunissement est dû à la présence de composés piègeurs de quinones.

Hypothèse C : l'effet anti-brunissement est dû à la présence de substances inhibant les polyphénoloxydases.

**Donnée** : la majorité des composés piègeurs de quinone et des substances inhibant les PPO, ont une masse molaire comprise entre 50 et 1500  $\text{g.mol}^{-1}$ .

Afin de préciser le mode d'action de l'extrait de papaïne, une préparation commerciale est solubilisée dans une solution tamponnée à pH 4,4 et soumise à une chromatographie d'exclusion sur Biogel P2, voir **document 4a**.

1.2.1 Après avoir rappelé le principe de la chromatographie d'exclusion, expliquer le but de cette opération sur la préparation de l'extrait de papaïne.

1.2.2 Sur les fractions recueillies en sortie de colonne, on réalise :

- un dosage colorimétrique des protéines par la méthode de Bradford ( $\lambda = 595 \text{ nm}$ ) ;
- une mesure de l'effet anti-brunissement.

Les résultats obtenus sont consignés dans le **document 4b**.

Analyser les résultats.

Discuter de la compatibilité des hypothèses A, B et C avec ces résultats.

### 1.3 Caractérisation de l'effet anti-brunissement

Les fractions à activité anti-brunissement obtenues lors de la chromatographie d'exclusion sont rassemblées et constituent la fraction GF.

Afin de caractériser son effet anti-brunissement, on mesure, en présence de différentes dilutions (de la fraction GF), l'activité PPO dans les conditions suivantes :

- substrat : 4-méthylcatéchol (4MC),
- concentration saturante en dioxygène,
- pH 4.

Le **document 5** représente, reportées en double-inverse (selon LINEWEAVER et BURK), les valeurs de vitesses initiales mesurées en absence (tampon acétate pH 4,4) ou en présence de différentes dilutions de la fraction GF.

**1.3.1** Commenter le **document 5**. En déduire l'effet des constituants de la fraction GF.

**1.3.2** À partir des résultats, dégager l'hypothèse (A, B, ou C, question 1.2) expliquant l'origine de l'activité anti-brunissement de l'extrait de papaïne.

**1.3.3** Expliquer en quoi la méthode de mesure de l'activité PPO (**document 2a**) permet de confirmer avec certitude l'hypothèse retenue.

**1.3.4** Expliquer le mode d'action des molécules à l'origine de ce type d'effet. Préciser les équations des réactions mises en jeu.

**1.3.5** Calculer le pourcentage d'inhibition obtenu avec GF pur. Justifier la démarche.

## 2 Amélioration des conditions de stockage des fruits et légumes frais (18 points)

Les principaux paramètres influençant les conditions de stockage des fruits et légumes frais sont l'humidité relative (HR), la teneur en dioxygène et en dioxyde de carbone et la température de l'atmosphère ambiante. Afin de maîtriser ces paramètres, les fruits et légumes sont stockés sous atmosphère contrôlée.

### 2.1 Humidité relative

Les fruits et légumes sont entreposés dans des conditions d'humidité relative (HR) allant de 90 à 100 %.

L'activité de l'eau ( $A_w$ ) de ces denrées est en général comprise entre 0,96 et 0,99.

**2.1.1** Définir l'activité de l'eau ( $A_w$ ).

**2.1.2** Expliquer pourquoi une HR de 90 à 100 % préserve la qualité des fruits et légumes frais lors de leur stockage.

### 2.2 Teneur en dioxyde de carbone et température

Une augmentation de la concentration en  $\text{CO}_2$  et un abaissement de la température permettent une meilleure conservation des fruits et légumes en diminuant leur intensité respiratoire.

L'intensité respiratoire correspond à la quantité de dioxygène consommé par unité de temps et par unité de masse végétale.

L'augmentation de la concentration en  $\text{CO}_2$  et la baisse de la température de l'atmosphère de stockage des végétaux provoquent une diminution de l'intensité respiratoire par ralentissement de l'activité de la succinate déshydrogénase.

**2.2.1** Écrire l'équation de la réaction catalysée par cette enzyme (noms des substrat, produit et coenzyme exigés ; formules des substrat et produit exigés).  
Préciser sa localisation cellulaire.

**Donnée** : Acide succinique =  $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ .

**2.2.2** Cette réaction intervient dans la chaîne respiratoire ou chaîne de transporteurs d'électrons.

**2.2.2.1** Indiquer le nom des donneurs d'électrons de la chaîne respiratoire.

**2.2.2.2** Compléter le **document 6** (à rendre avec la copie) en indiquant le trajet des électrons.

**2.2.3** La succinate déshydrogénase est impliquée dans une autre voie métabolique énergétique.

Citer cette voie métabolique.

Expliquer brièvement son importance fondamentale.

### 2.3 Teneur en dioxygène

Une diminution de la concentration en dioxygène permet de renforcer les effets liés à l'augmentation du taux de CO<sub>2</sub>. Il faut cependant éviter des niveaux d'O<sub>2</sub> trop faibles sous peine de provoquer un métabolisme anaérobie conduisant à la production d'éthanol et d'acétaldéhyde.

Écrire la séquence des réactions permettant de transformer le pyruvate en éthanol (noms et formules des substrats et produits, noms des enzymes et coenzymes exigés).

## DOCUMENT 1 :

### PROTOCOLE D'EXTRACTION-PURIFICATION DES PPO DE SCAROLE

Toutes les étapes de l'extraction-purification sont menées à 4°C.

#### Étape 1 :

- 10 g de cœurs de scarole lyophilisés sont broyés, homogénéisés, pendant 1 minute dans 200 mL d'une solution d'extraction tamponnée à pH 7.
- Après centrifugation 40 minutes à 30 000 g, le surnageant est filtré. Les 170 mL de filtrat obtenus constituent l'extrait brut **E**.

#### Étape 2 :

- Une première précipitation à 30 % de saturation de sulfate d'ammonium est menée pendant 2 heures sur la totalité de l'extrait brut. Le milieu est ensuite centrifugé 30 minutes à 13 000 g et les 175 mL de surnageant obtenu constituent la fraction **S<sub>30</sub>**.
- La fraction **S<sub>30</sub>** subit une précipitation à 80 % de saturation de sulfate d'ammonium pendant 12 heures. Après centrifugation 30 minutes à 20 000 g, le précipité est solubilisé dans un tampon pH 6. On obtient 7 mL d'une fraction notée **P<sub>80</sub>**.

#### Étape 3 :

On réalise une dialyse de la totalité de **P<sub>80</sub>** contre 1 litre de solution tampon pH 6 pendant 12 heures. Les 10 mL de dialysat obtenus constituent l'extrait partiellement purifié de PPO de scarole, noté **PPOS**.

**DOCUMENT 2 :**  
**SUIVI DE LA PURIFICATION DES PPO DE SCAROLE**

**2a Protocole :**

- À 2,8 mL d'une solution de substrat (4-méthylcatéchol ou 4MC) à 20 mmol.L<sup>-1</sup>, préparée en milieu tamponné, thermostatée à 30°C et au préalable saturée en O<sub>2</sub> par barbotage d'air, on ajoute 0,2 mL de fraction à étudier.
- On réalise alors une mesure de la concentration en dioxygène dans le mélange réactionnel au cours du temps.

**2b Résultats :**

Fraction	$\rho_{\text{Prot}}$ (mg.mL <sup>-1</sup> )	Ccat (nkat.mL <sup>-1</sup> )
E	1,28	18,4
S <sub>30</sub>	0,81	15,9
P <sub>80</sub>	10,3	221
PPOS	6,47	145

**DOCUMENT 3 :**  
**SUIVI DE LA PURIFICATION DES PPO DE SCAROLE**

Fraction	Volume total (mL)	m (mg)	AT (nkat)	AS (nkat.mg <sup>-1</sup> )	R %	P
E	170	217,6	3128	14,4	100	1
S <sub>30</sub>	175	141,8	2783	19,6	84	1,36
P <sub>80</sub>	7	72,1	1547	21,5	49,5	1,49
PPOS	10	64,7	1450	22,4	46,4	1,56

## DOCUMENT 4 : CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION-DIFFUSION

### Document 4a : Conditions de réalisation.

La chromatographie s'effectue à 20°C à l'aide d'une colonne de type K 26/40 contenant 80 mL de Biogel P2 équilibré avec une solution de tampon acétate (40 mmol.L<sup>-1</sup>) à pH 4,4.

Le domaine de fractionnement du gel est compris entre 100 et 1 800 g.mol<sup>-1</sup>.

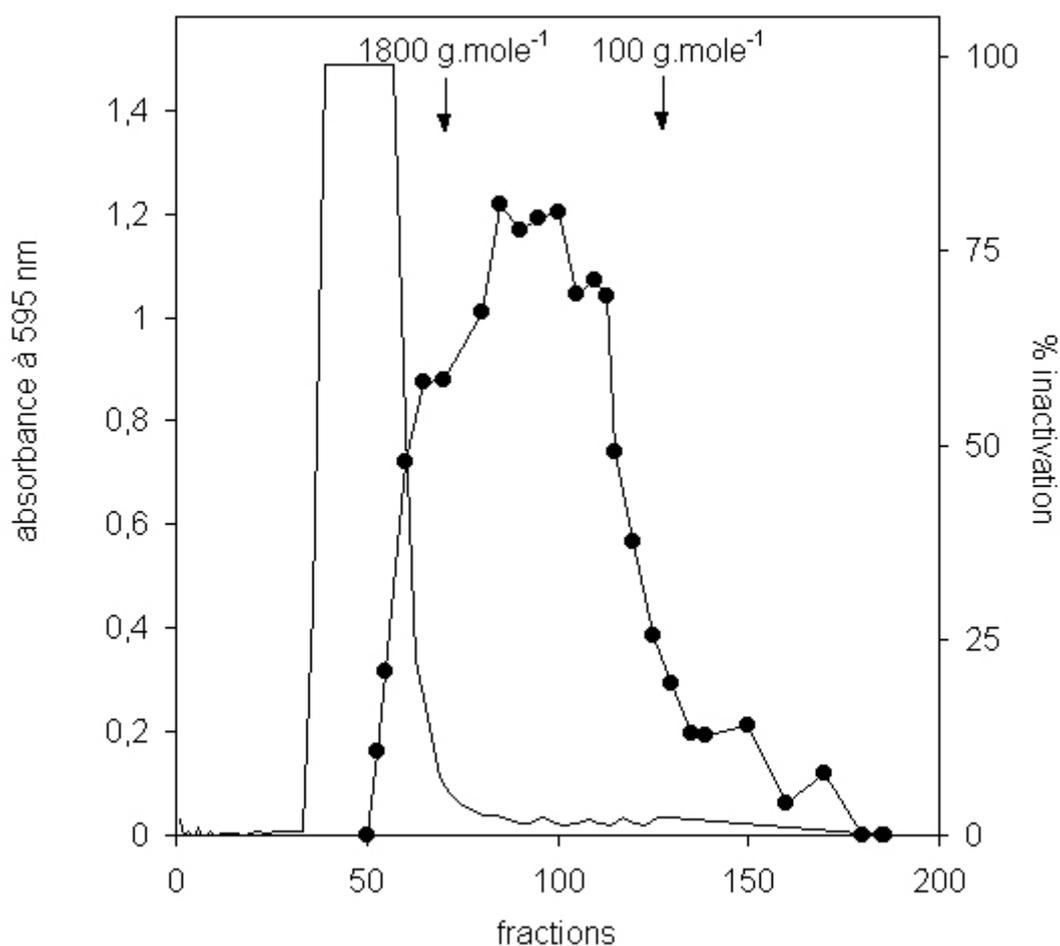
6 mL d'extrait de papaïne sont déposés.

Le flux est descendant, avec un débit fixé à 20 mL.h<sup>-1</sup> et suivie par mesure de l'absorbance à 280 nm de l'éluat.

Ce dernier est recueilli par fractions de 3 mL sur lesquelles le dosage des protéines et de l'effet anti-brunissement sont effectués.

Les fractions possédant un effet anti-brunissement sont regroupées et nommées GF.

### Document 4b : Chromatographie d'exclusion de l'extrait brut de papaïne.



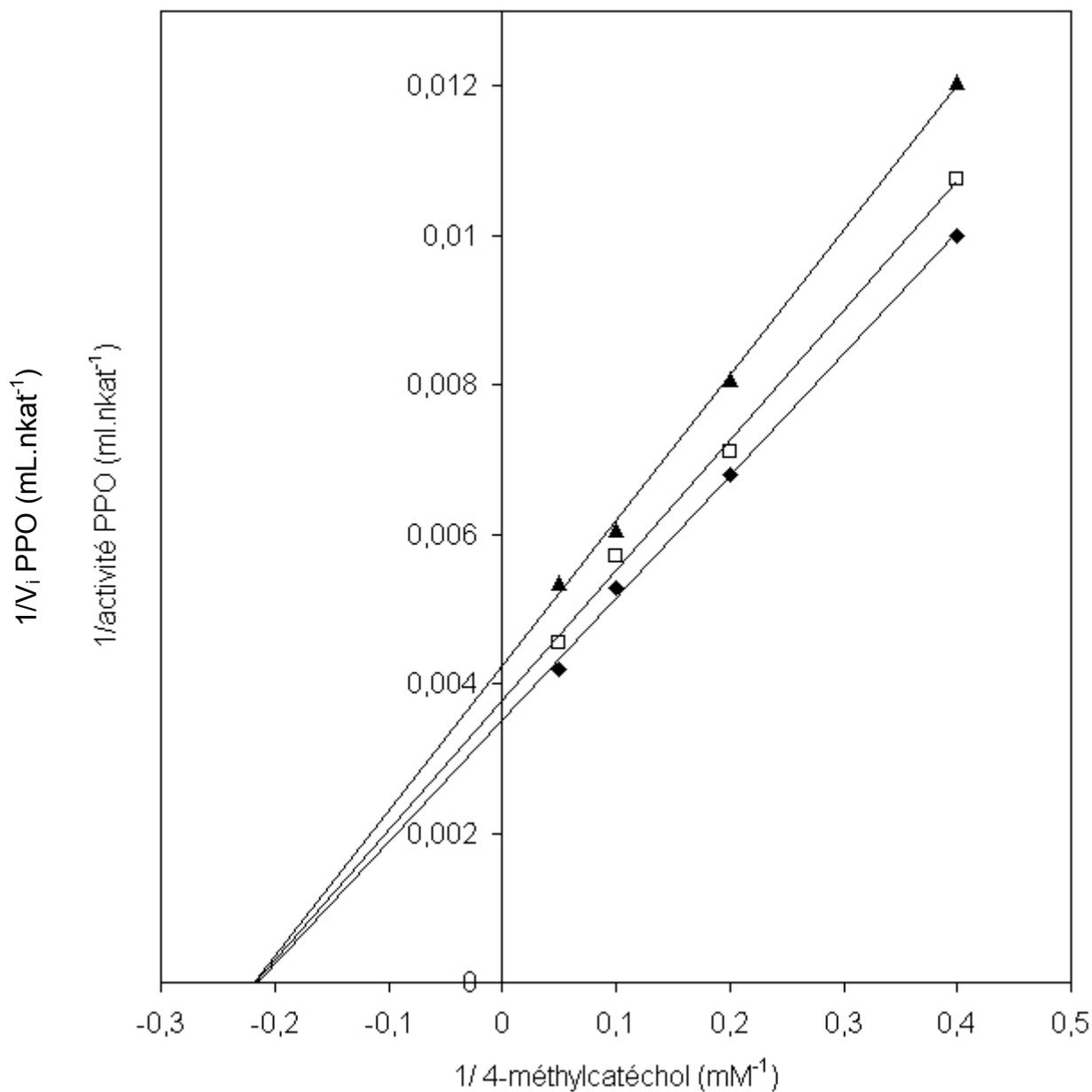
(-) : Absorbance à 595 nm

(●) : Effet anti-brunissement exprimé en % d'inactivation

**DOCUMENT 5 :****EFFET INHIBITEUR APPARENT DE LA FRACTION GF SUR L'OXYDATION DU 4 MC PAR LA PPO DE SCAROLE PPOS A pH 4,4**

Représentation selon LINEWEAVER et BURK :  $\frac{1}{V_i} = a \times \frac{1}{[4MC]} + b$

.  $V_i$  PPO en  $\text{nkcat.mL}^{-1}$  et  $[4MC]$  en  $\text{mmol.L}^{-1}$  (mM)

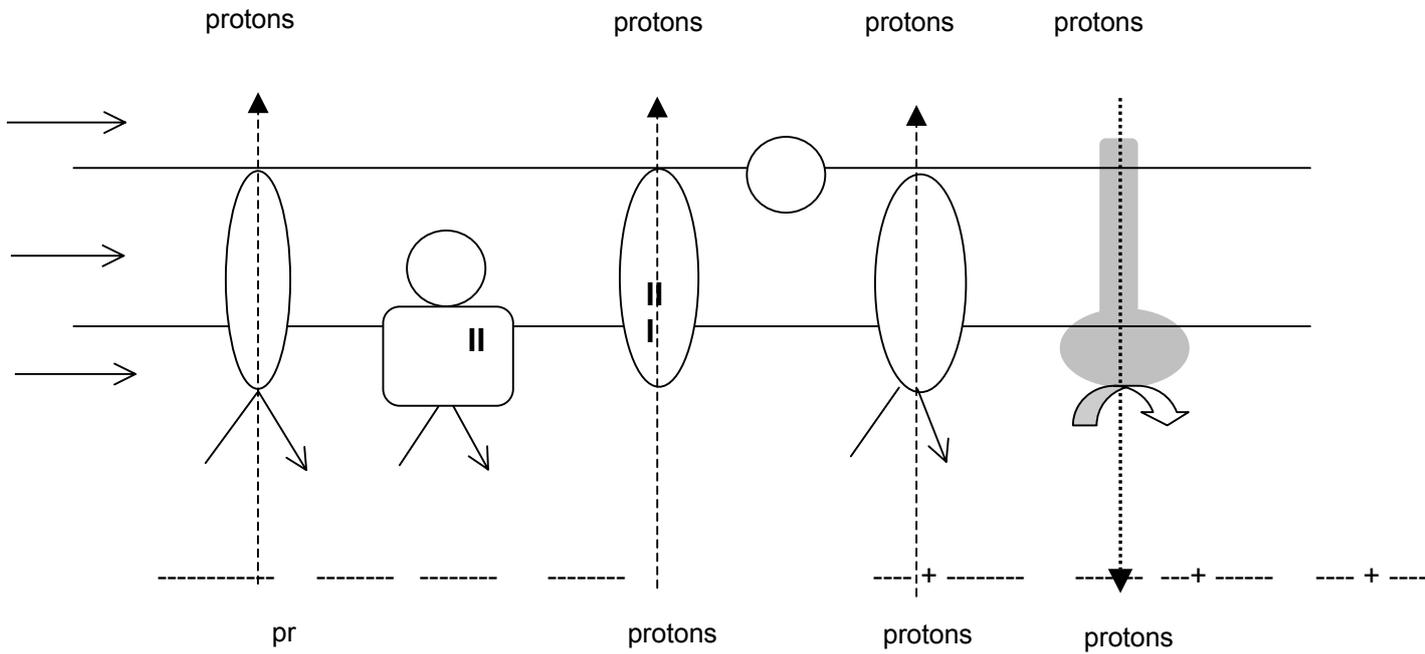


(▲) : Fraction GF pure ;  $\frac{1}{V_i} = 0,0193 \times \frac{1}{[4MC]} + 0,00421$

(◻) : Fraction GF diluée au 1/2 ;  $\frac{1}{V_i} = 0,0173 \times \frac{1}{[4MC]} + 0,00376$

(◆) : Tampon acétate pH 4,4 ;  $\frac{1}{V_i} = 0,0160 \times \frac{1}{[4MC]} + 0,00349$

**DOCUMENT 6 :**  
**(à compléter et à rendre avec la copie)**  
**LA CHAINE RESPIRATOIRE**



Légendes :

Q : coenzyme Q

C : cytochrome c

I, II, III, IV et V : complexes I, II, III, IV et V

- 1 : .....
- 2 : .....
- 3 : .....

## E3-U32 MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE 2009

Durée 3 heures Coefficient 3

### ANALYSES ET CONTRÔLES DANS DES SALAISONS

Une entreprise de charcuteries de type salaison cherche à contrôler la fabrication de ses produits depuis l'achat des matières premières jusqu'au produit fini après la mise en place d'une démarche HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*).

Le diagramme de fabrication du salami est présenté dans le **document 1**.

Des contrôles microbiologiques sont effectués à différents niveaux de la chaîne de production : atmosphère de l'atelier ; eau de lavage des boyaux ; couteaux trancheurs ; viande de porc à la réception ; ferments ; produit fini (salami tranché et emballé).

On se propose d'analyser les résultats obtenus pour chacun de ces contrôles puis d'en effectuer le bilan.

#### 1 Contrôle d'hygiène dans l'atelier de fabrication. (34 points)

##### 1.1 Contrôle de l'aérobiocontamination des locaux (document 2). (4 points)

1.1.1 Donner le principe de fonctionnement d'un biocollecteur.

1.1.2 Des prélèvements ont été réalisés dans deux zones de la chaîne de fabrication du salami.

Donner les résultats des prélèvements en pnc/m<sup>3</sup> (particules donnant naissance à colonies). Justifier le calcul.

Conclure.

##### 1.2 Contrôle de l'eau de lavage des boyaux. (7 points)

Les boyaux utilisés lors de l'embossage sont lavés et l'eau utilisée pour le lavage est analysée. Les coliformes "dits totaux" et les coliformes thermotolérants sont recherchés et dénombrés par la technique de filtration sur membrane.

1.2.1 Expliquer l'intérêt de cette technique pour l'analyse de l'eau.

1.2.2 Comment différencie-t-on pratiquement les deux types de coliformes ? Quelle indication apporte la présence de coliformes thermotolérants dans l'eau ?

1.2.3 On utilise pour cette recherche la gélose au TTC et Tergitol 7. La fiche technique du milieu est donnée dans le **document 3**. Expliquer le rôle des constituants du milieu.

1.2.4 Donner l'aspect des colonies de coliformes sur ce milieu.

1.2.5 Le nombre de colonies caractéristiques sur la gélose incubée à 37°C est de 30 pour 100 mL d'eau. Conclure quant à la qualité de l'eau.

##### 1.3 Contrôle des couteaux trancheurs. (23 points)

Ces couteaux sont utilisés essentiellement pour la découpe de la viande de porc lors de la préparation du salami avant emballage sous vide. Différentes analyses sont effectuées sur ce matériel :

- dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile (FAM) et des coliformes ;
- recherche des *Listeria*.

1.3.1 L'analyse de la FAM et des coliformes est présentée dans le **document 4**.

1.3.1.1 Donner l'intérêt de l'utilisation du neutralisant.

1.3.1.2 Etablir la formule littérale du calcul utilisé pour obtenir les résultats présentés dans le tableau du **document 4** (soit le nombre N d'UFC/cm<sup>2</sup> en fonction du nombre m de colonies dénombrées sur les boîtes et de S, la surface analysée).

1.3.1.3 Conclure avec l'aide du **document 2**.

### 1.3.2 Recherche des *Listeria*.

1.3.2.1 *Listeria* se développe dans des conditions physico-chimiques particulières (température, pH et  $A_w$ ). Expliquer pourquoi cette bactérie est capable de se développer dans les salaisons.

1.3.2.2 Préciser en les justifiant les trois grandes étapes de la recherche de *Listeria* en analyse de routine.

1.3.2.3 L'identification est généralement complétée par un sérotypage et un lysotypage. Définir les termes sérotypage et lysotypage.

1.3.3 L'étude a montré la persistance de niches à *Listeria monocytogenes* sur les couteaux trancheurs. *Listeria monocytogenes* est responsable des toxi-infections d'origine alimentaire (TIA).

1.3.3.1 Définir le terme TIA.

1.3.3.2 La listériose touche, à l'intérieur d'une population, principalement des groupes d'individus à risques :

- les femmes enceintes
- les individus atteints de cancer ou d'infections virales
- les nourrissons et les personnes âgées.

Comment peut-on qualifier le pouvoir pathogène de *Listeria monocytogenes* ? Justifier.

1.3.3.3 Expliquer le mécanisme physiopathologique de *Listeria monocytogenes*.

1.3.4 Les biofilms constituent la principale source de contamination dans les industries agro-alimentaires.

1.3.4.1 Expliquer la formation de biofilm en mettant en évidence les structures bactériennes impliquées. On précisera la nature biochimique de chacune de ces structures.

1.3.4.2 L'élimination des biofilms s'effectue selon un protocole bien établi utilisant successivement deux types d'agents chimiques. Indiquer les agents chimiques utilisés. Préciser leur mode d'action.

## 2 Contrôle du procédé de fabrication. (20 points)

2.1 Contrôle de la viande de porc à la réception et contrôle de l'entreposage de la viande congelée. (5 points)

2.1.1 La contamination initiale de la viande de porc au cours de l'abattage peut avoir deux origines : endogène et exogène.

Définir ce qu'on appelle flore endogène et flore exogène.

2.1.2 Une analyse des microorganismes aérobies à 30°C de la viande de porc fraîche avant congélation a montré un taux de  $2 \cdot 10^3$  UFC de microorganismes aérobies à 30°C par g et un taux de coliformes thermotolérants de 10 UFC par g.

A l'aide du **document 5**, conclure quant à la qualité microbiologique de la viande de porc vis-à-vis de ces critères.

2.1.3 La viande de porc est ensuite congelée. Quel est l'intérêt de cette étape de congélation ?

2.2 Contrôle des additifs. (4 points)

La viande est ensuite préparée, désossée et des additifs alimentaires sont additionnés.

2.2.1 Addition de sel.

La teneur en sel du salami est de 2,5 %.

Outre ses conséquences sur le goût, l'addition du sel dans les aliments a divers autres effets. Rappeler ces effets.

2.2.2 Des additifs alimentaires comme les nitrites sont ajoutés à raison de 0,1 g/kg de viande. Donner la principale raison, d'ordre microbiologique, qui justifie l'addition de nitrites aux salaisons.

**2.3** Contrôle de la fermentation. (7 points)

Les ferments de maturation pour salami sont composés de bactéries lactiques (*Lactobacillus* et *Pediococcus*), de staphylocoques et de microcoques pour la flore interne ainsi que de levures et de moisissures pour la flore de surface.

**2.3.1** Commenter les courbes fournies dans le **document 6** et en déduire le rôle de la flore lactique dans la fabrication du salami.

**2.3.2** Rappeler les caractères morphologiques et culturaux de *Lactobacillus*.

**2.3.3** *Lactobacillus plantarum* est une bactérie homofermentaire. Ecrire l'équation bilan de la fermentation réalisée par cette souche.

**2.3.4** Une méthode de biologie moléculaire, l'électrophorèse en champ pulsé, combinée à l'utilisation d'enzymes de restriction à sites rares (R-ECP), a été utilisée afin d'identifier spécifiquement les souches inoculées comme ferments dans le salami (*Staphylococcus*, *Lactobacillus*) (voir **document 7**).

2.3.4.1 Justifier l'utilisation du milieu MRS (Man Rogosa Sharp) en précisant ses conditions d'incubation.

2.3.4.2 Commenter les résultats obtenus et conclure.

**2.4** Contrôle du produit fini. (4 points)

Une des analyses du produit fini (salami tranché et emballé) consiste à dénombrer les coliformes thermotolérants sur gélose VRBL. Ce dénombrement est réalisé à l'aide de l'ensemencement automatique dit « système spiral » suivant le protocole présenté **document 8**.

**2.4.1** Donner le nombre de coliformes thermotolérants/g de produit pour l'échantillon analysé. Justifier les calculs.

**2.4.2** Dans le cadre d'un contrôle selon un plan à trois classe, quatre autres échantillons ont été analysés.

Les résultats sont les suivants (en UFC/g) :

E1	E2	E3	E4
$1,0 \cdot 10^2$	$2,3 \cdot 10^3$	$3,3 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^2$

Conclure quant à la qualité bactériologique de ce lot de salami.

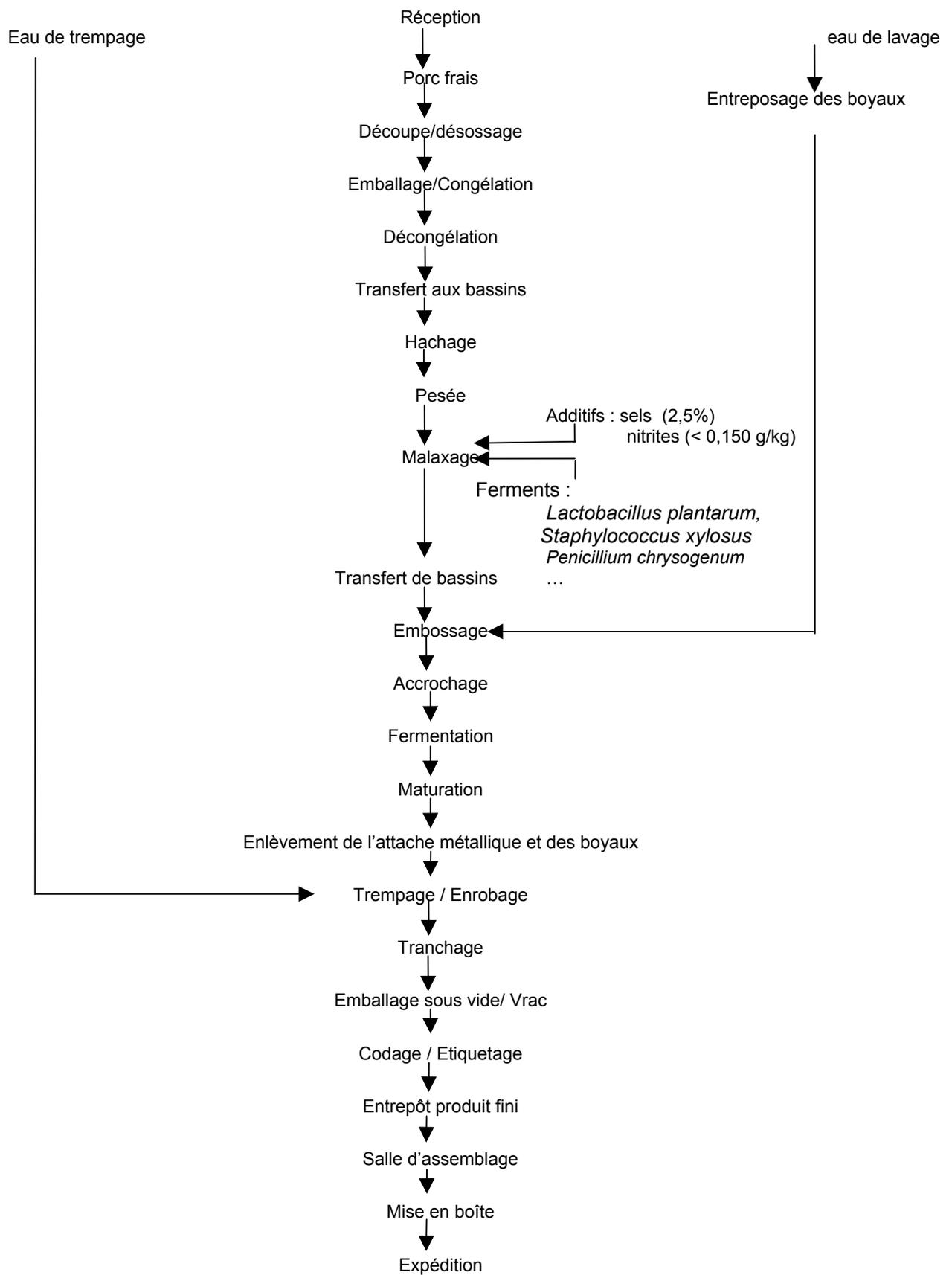
Données :  $m = 1,0 \cdot 10^3$  ;  $n = 5$  ;  $c = 2$ .

**3** Validation de la démarche HACCP. (6 points)

Après analyse de l'ensemble des résultats obtenus lors des contrôles réalisés en différents points de la chaîne de production, l'entreprise cherche à répondre aux problèmes rencontrés.

**3.1** A l'aide du **document 1**, localiser les points critiques en précisant les micro-organismes impliqués.

**3.2** Proposer ce qui pourrait être mis en œuvre dans la démarche HACCP pour améliorer la qualité microbiologique du produit fini.

**DOCUMENT 1 : DIAGRAMME DE FABRICATION DU SALAMI**

## **DOCUMENT 2 : CONTROLE DE L'AEROBIOCONTAMINATION**

**L'appareil de Casella - Bourdillon** : l'air aspiré arrive verticalement, passe au travers de quatre fentes horizontales et frappe la surface d'un milieu gélosé contenu dans une boîte de Pétri. La boîte est posée au-dessous des fentes sur une platine tournante à vitesse réglable, permettant une répartition uniforme des particules aériennes.

L'appareil a des débits variables, allant de 30 à 700 L/min et peut collecter des particules de taille supérieure ou égale à 0,5 µm.

### **Résultats obtenus dans deux zones de la chaîne de fabrication du salami**

	Zone de réception de la viande (chambre froide)	Zone de tranchage
Conditions de prélèvements	Débit : 60 L/min Temps : 4 min	Débit : 100 L/min Temps : 8 min
Résultats : nombre de colonies sur le milieu gélosé	33	22

*Classement des locaux en zones de sensibilité*

#### **Zone inerte (zone à risque faible ou moyen : niveau 1)**

En général, le produit n'est pas en contact avec l'air (sauf pour les zones de cuisson). L'air distribué dans ce type de zone sera, si nécessaire, à température et hygrométrie contrôlées.

Les cas sont les suivants :

- zones de réception/stockage de matières premières (produits emballés ou en bacs) à basse température ;
- zones de réception/stockage des matières premières sèches (épices...) avec classement hygrométrique ;
- zones de cuisson ;
- zones d'emballage/encartonnage des produits préconditionnés.

L'air d'un local est considéré comme très propre à moins de 5 pnc/m<sup>3</sup>, et propre à moins de 100 pnc/m<sup>3</sup> (pnc : particules donnant naissance à des colonies).

La biocontamination « normale » habituelle d'un endroit occupé est de 100 à 1 000 pnc/m<sup>3</sup> ; au-dessus de 1 000 pnc/m<sup>3</sup> l'air est fortement souillé.

#### **Zone sensible (zone à risque élevé : niveaux 2 et 3)**

En général, les opérations sur le produit sont réalisées à l'air libre dans des salles propres.

Il s'agit, en zone sensible, de classe d'empoussièrement, 350 000 et 3 500 000 (norme révisée Federal Standard 209 E, publiée en 1992).

##### **• Niveau de risque 2**

- **Contrôle de l'empoussièrement :**

→ 3 500 000 particules de 0,5 µm/m<sup>3</sup> → moins de 350 pnc/m<sup>3</sup> ;

- **Nettoyage et désinfection :**

→ ≤ 2 micro-organismes/cm<sup>2</sup> ;

Les cas sont les suivants :

Ateliers de première transformation : abattage, chambres froides...

##### **• Niveau de risque 3**

- **Contrôle de l'empoussièrement :**

→ 350 000 particules de 0,5 µm / m<sup>3</sup> → moins de 35 pnc/m<sup>3</sup> ;

- **Nettoyage et désinfection :**

→ ≤ 0,2 micro-organismes/cm<sup>2</sup>.

Les cas sont les suivants :

Ateliers de deuxième transformation : activités de découpes, de salaisons, confection de plats cuisinés de pâtisseries, de viennoiserie, surgélation.

**DOCUMENT 3 :**  
**Critères microbiologique de l'eau**

Bactéries aérobies revivifiables à 37°C	20/mL
Coliformes totaux	0/100 mL
Coliformes thermotolérants	0/100 mL
Streptocoques D	0/100 mL
Sporulés sulfito-réducteurs	1/20 mL

**Gélose lactosée au TTC et Tergitol 7**

**Gélose lactosée au TTC et Tergitol 7**

La gélose de Chapman lactosée au T.T.C. et au Tergitol 7 est un milieu qui permet la recherche et le dénombrement des coliformes.

Elle est plus particulièrement utilisée pour la colimétrie des eaux, par la méthode des membranes filtrantes.

**Formule  
(en grammes  
par litre d'eau  
distillée)**

- Peptone bactériologique ..... 10
- Extrait de viande ..... 5
- Lactose ..... 20
- Bleu de bromothymol ..... 0,05
- Agar ..... 12,75

pH final : 7,2 ± 0,1

**Préparation  
(déshydratée)**

Mettre 47,8 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.

Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Ajuster, si nécessaire, le pH à 7,2.

Répartir à raison de 100 mL par flacon de 150 mL, puis stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes.

**Utilisation**

Faire fondre le milieu de base au bain-marie bouillant, le ramener à la température de 45-50°C et ajouter à 100 mL :

- 5 mL d'une solution de chlorure de 2-3-5 triphényl-tétrazolium (T.T.C.) à 0,05 % en eau distillée ;
- 5 mL d'une solution de Tergitol 7 à 0,2 % en eau distillée.

Bien mélanger la base gélosée et les deux solutions, en évitant la formation de bulles. Couler en boîtes de Pétri stériles. L'épaisseur du milieu dans la boîte doit être d'au moins 5 mm. Les milieux ainsi répartis peuvent être conservés à + 4°C pendant 8 jours.

Au moment de l'emploi, sécher les boîtes à l'étuve à 37°C, couvercle ouvert, selon la technique habituelle.

**Méthode des membranes filtrantes :**

- Pour chaque échantillon à analyser, utiliser au moins deux membranes qui seront placées sur deux boîtes de milieu.

L'une est incubée à 37°C pendant 24 heures, l'autre à 44°C ± 1°C en atmosphère humide pendant 16 à 24 heures.

**DOCUMENT 4 : ANALYSES BACTERIOLOGIQUES D'UN TRANCHEUR****Procédure**

- Porter des gants et se désinfecter les mains à l'alcool juste avant le prélèvement.
- Ne toucher aucune surface avec la main du prélèvement.
- A l'aide d'une chiffonnette stérile, frotter la surface S à contrôler afin de décrocher un maximum de micro-organismes.
- Placer la chiffonnette dans un sachet stérile.
- Ajouter 1 mL de neutralisant et 9 mL d'eau peptonée.
- Passer au stomacher pendant 90 secondes.
- Faire les dilutions appropriées et ensemercer 1 mL dans la masse de gélose PCA (Plate Count Agar) ou VRBL (Violet Cristal, Rouge neutre, Bile et Lactose).
- Incuber les milieux PCA à 30°C pendant 48 h afin de dénombrer la flore microbienne totale.
- Incuber les milieux VRBL à 37°C pendant 24 heures pour dénombrer les coliformes totaux.

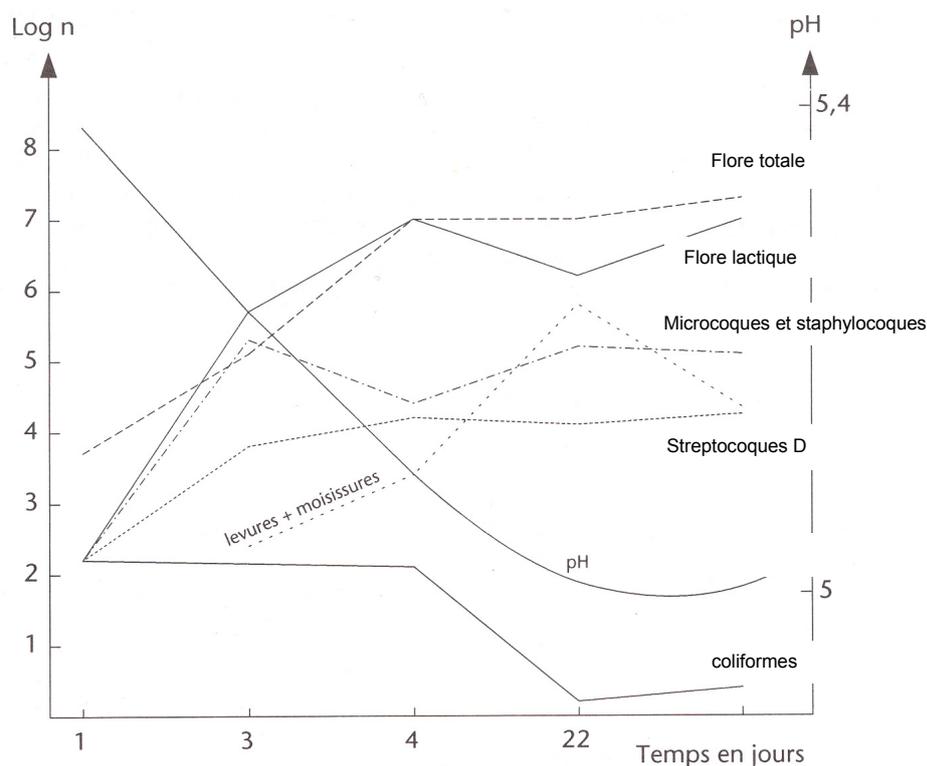
**Résultats**

Germes dénombrés	Paroi horizontale du couteau trancheur	Paroi verticale du couteau trancheur
Flore aérobie mésophile (UFC/ cm <sup>2</sup> )	Absent	1.10 <sup>-1</sup>
Coliformes (UFC/ cm <sup>2</sup> )	Absent	Absent

**DOCUMENT 5 : CRITERES MICROBIOLOGIQUES**

désignation	Microorganismes aérobie 30°C (UFC/g)	Coliformes thermotolérants (UFC/g)	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Anaérobies sulfitoréducteurs à 46°C (UFC/g)
Viande fraîche	5.10 <sup>4</sup>	3.10 <sup>2</sup>	Absence dans 25 g	10 <sup>2</sup>	10
salami	3. 10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	Absence	5.10 <sup>2</sup>	50

## DOCUMENT 6 : EVOLUTION DE LA POPULATION MICROBIENNE DANS LE SALAMI EN FONCTION DU TEMPS



## DOCUMENT 7 : PROFILS ELECTROPHORETIQUES EN CHAMP PULSE DE L'ADN BACTERIEN DES SOUCHES DU FERMENT

Afin de contrôler la qualité de ferment ensemencé, les différentes souches de référence sont mises en culture dans les milieux spécifiques, puis étalées sur milieux gélosés.

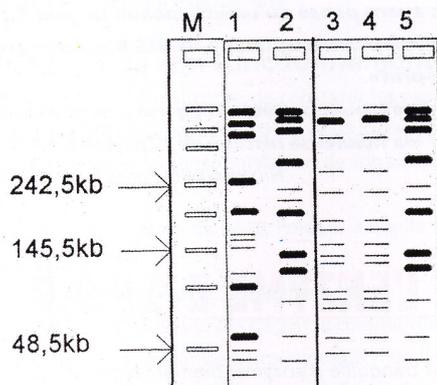
Pour contrôler les souches présentes dans le salami, 25 g de chaque salami ensemencé avec une souche dont on veut contrôler l'implantation sont prélevés et broyés en présence de 100 mL de tryptone sel. Pour chaque essai, des dilutions décimales sont effectuées, puis étalées en surface sur les milieux spécifiques d'isolement :

- Baird Parker
- MRS

puis incubées à la température adéquate pour chaque microorganisme.

Le test d'implantation des souches est effectué par R-ECP entre J3 et J6.

Pour chaque essai, l'ensemble des colonies d'une boîte de Pétri est récupéré dans un tube contenant un tampon, l'ADN bactérien est extrait et des enzymes de restriction *Apal* pour les staphylocoques et *Sfil* pour les lactobacilles sont utilisées. L'électrophorèse en champ pulsé donne les résultats des profils électrophorétiques des populations bactériennes au cours de fermentation et des souches de référence sont les suivants :



M : marqueur de poids moléculaire

1 : profil de la souche 1 de référence : *Lactobacillus plantarum*

2 : profil de la souche 2 de référence : de *Staphylococcus xylosus*

3 : Témoin de la mée (salami non ensemencé)

4 : profil de l'essai après implantation de la souche 1

5 : profil de l'essai après implantation de la souche 2

## DOCUMENT 8 : ENSEMENCEMENT ET DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES A L'AIDE DU SYSTEME SPIRAL

### Préparation de l'échantillon :

25 g de salami sont pesés et sont transférés stérilement dans 225 mL d'eau peptonée tamponnée puis broyés au stomacher.

Le broyat obtenu est filtré pour éliminer les particules alimentaires qui pourraient boucher le stylet tout en laissant passer les micro-organismes.

### Ensemencement :

L'appareil muni d'une micropompe dépose, par l'intermédiaire d'un stylet, l'inoculum à la surface d'un milieu solide coulé en boîte de Pétri placée sur un plateau tournant. Le stylet se déplace du centre vers la périphérie décrivant une spirale le long de laquelle il dépose un volume calibré faible et régulier décroissant de l'échantillon.

### Lecture :

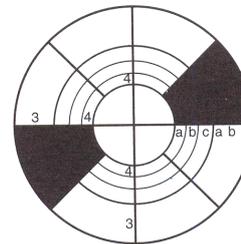
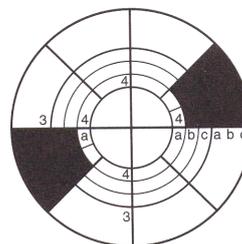
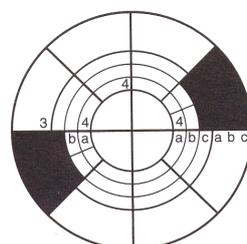
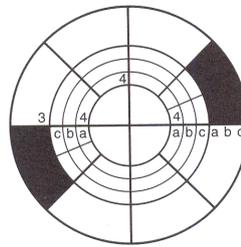
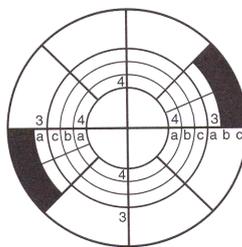
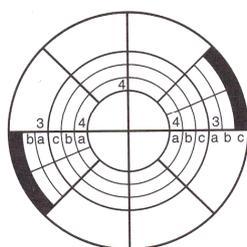
Après incubation, les colonies se développant le long de la spirale sont dénombrées. La grille calibrée permet le dénombrement.

#### Grille de comptage

Secteur 3c – 0,00054 mL

Secteur 3b – 0,00137 mL

Secteur 3a – 0,00264 mL



Secteur 4c – 0,00457 mL

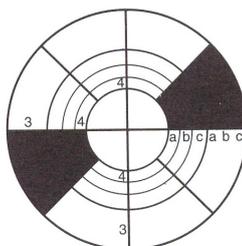
Secteur 4b – 0,075 mL

Secteur 4a – 0,0123 mL

Afin de compenser toute irrégularité dans la distribution des colonies, les surfaces équivalentes des secteurs opposés sont comptées. Le calcul du nombre de microorganismes contenus dans l'inoculum est ensuite réalisé.

### Résultats obtenus après analyse d'un salami tranché, emballé

L'opérateur dénombre 21 et 25 colonies dans les deux zones opposées de la boîte schématisée ci-dessous.



## E3-U33 BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009

Durée : 3 heures Coefficient 3

Calculatrice non autorisée

### CONTRÔLE EN INDUSTRIES PHARMACEUTIQUE ET COSMÉTIQUE

Les industries pharmaceutique et cosmétique mobilisent, entre autres, l'emploi de techniques de biologie moléculaire, de culture cellulaire et de techniques immunologiques.

On se propose d'aborder l'utilisation de ces techniques à travers quelques étapes de contrôles :

- recherche et développement d'un principe actif,
- étude du pouvoir irritant d'un cosmétique,
- contrôle d'un médicament mis sur le marché.

#### 1 Développement d'un principe actif et techniques de biologie moléculaire. (25 points)

De nombreuses protéines sont utilisées à des fins thérapeutiques : des cytokines pour traiter certaines viroses et certains cancers, des hormones gonadotropes pour traiter certaines hypofertilités.

Depuis environ quinze ans, ces protéines sont très majoritairement produites par l'industrie pharmaceutique grâce au génie génétique : on les qualifie de protéines recombinantes.

Comme pour tout principe actif de médicament, la phase de recherche et développement implique des contrôles analytiques.

Les premières étapes de la mise au point d'une protéine recombinante nécessitent l'emploi de vecteurs qui permettent l'amplification par clonage d'un insert.

1.1 Définir les termes vecteur, insert et clonage.

1.2 Le document 1 donne la carte de restriction - figure 1a - d'un vecteur de clonage simple, le plasmide pUC18/19 et - figure 1b - la séquence de son Site de Clonage Multiple (*Multiple Cloning Site = MCS*).

1.2.1 Expliquer ce que sont les molécules désignées par *HindIII*, *XbaI*, *BamHI*...

1.2.2 Quel est le rôle de la séquence « MCS » ?

1.2.3 Décrire la conséquence structurale sur pUC18/19 de l'insertion/ligation d'une séquence de 457 paires de bases.

1.2.4 Après avoir réalisé cette insertion *in vitro*, on contrôle son succès grâce aux manipulations successives suivantes :

- digestion(s) partielle(s) spécifiques(s) du plasmide ;
- analyse des produits de digestion par électrophorèse sur gel d'agarose.

1.2.4.1 Pour chacune de ces manipulations : donner le principe en précisant les réactifs et le matériel utilisés.

1.2.4.2 Expliquer la lecture de l'électrophorégramme.

1.2.4.3 On réalise pour pUC18/19 avec ou sans insert une digestion par *PstI* (site unique dans *Puc18/19* avec ou sans insert) suivie d'une électrophorèse.

Le **document 2** représente le schéma partiel de l'électrophorégramme.

Sur le **document 2**, orienter l'électrophorégramme et situer les bandes obtenues.

1.3 Le clonage est réalisé dans une souche d'*Escherichia coli* qui ne possède pas le gène *bla* responsable de la résistance à l'ampicilline. De plus, cette souche porte la mutation *lacDMZ15* qui inactive son gène chromosomique *lac Z*, codant pour la bêta-galactosidase.

1.3.1 Représenter l'opéron lactose et les séquences nécessaires à son contrôle.

1.3.2 Schématiser le mécanisme moléculaire d'induction de la transcription de l'opéron lactose en présence de lactose.

- 1.4** Le X-Gal (5-bromo-4-chloro-3-indoyl-beta-D-galactopyranoside) est un substrat chromogène artificiel de la bêta-galactosidase.  
L'IPTG (isopropyl-beta-D-thiogalactopyranoside) est un inducteur artificiel de l'opéron lactose.  
Après transformation par le vecteur (avec insert correct) on sélectionne les bactéries sur un milieu contenant : ampicilline, X-Gal et IPTG.
- 1.4.1** Des colonies blanches et des colonies bleues apparaissent après incubation : préciser le phénotype de ces bactéries.
- 1.4.2** En déduire les clones d'intérêt. Justifier.
- 1.4.3** Pour valider cette manipulation, on a ensemencé, dans une autre boîte de Pétri, la souche non transformée. Le milieu employé est le même que celui employé pour l'essai. On constate l'apparition de colonies bleues.  
Conclure sur la validité de cette souche. Justifier.

## 2 Études toxicologiques et techniques de culture cellulaire. (27 points)

- 2.1** La détermination de la Dose Létale à 50 % (DL50) participe à l'évaluation de la toxicité des xénobiotiques.  
Les principes actifs des médicaments sont souvent des xénobiotiques : l'évaluation de leur toxicité est indispensable à leur mise au point.
- 2.1.1** Définir la DL50 ; comparer avec la CL50 (Concentration Létale à 50 %).
- 2.1.2** Expliquer la démarche expérimentale classique permettant de déterminer la DL50.
- 2.1.3** Décrire les mécanismes impliqués dans l'élimination des xénobiotiques métabolisés par le foie en précisant :
- les cellules responsables,
  - les noms des deux grands groupes de réactions biochimiques impliquées (citer un exemple de réactions pour chaque groupe),
  - le(s) caractère(s) physico-chimique(s) des produits finaux,
  - le devenir de ces produits finaux dans l'organisme.
- 2.1.4** Comparer le devenir (depuis son administration jusqu'à son élimination) d'un même xénobiotique administré par voie intra-veineuse ou administré par voie orale.
- 2.2** Dans le cadre du contrôle des cosmétiques, il est utile de déterminer leur pouvoir irritant oculaire. Le document 3 présente des extraits du protocole officiel de cette détermination.
- 2.2.1** Expliquer le rôle des composés suivants :
- milieu (D) MEM,
  - sérum de veau fœtal,
  - antibiotiques,
  - L-glutamine,
  - CO<sub>2</sub>.
- 2.2.2** Après trypsination, on dispose de 40 mL de suspension cellulaire à 10<sup>5</sup> cellules/mL.  
Présenter la démarche pratique permettant de l'ajuster à 2.10<sup>5</sup> cellules/mL.
- 2.2.3** D'après le **document 3**, déterminer le volume de suspension ajustée nécessaire à la réalisation de la première étape du protocole pour quatre produits cosmétiques.
- 2.2.4** Si on dispose de 20 mL de suspension cellulaire ajustée, est-il possible de réaliser la première étape pour ces quatre produits.

### 3 Contrôle par une technique immunologique d'un médicament vendu via un circuit parallèle (8 points)

La mélatonine est une hormone dont l'usage pharmaceutique s'est répandu ces dernières années. Des techniques immunologiques permettent de doser cette hormone.

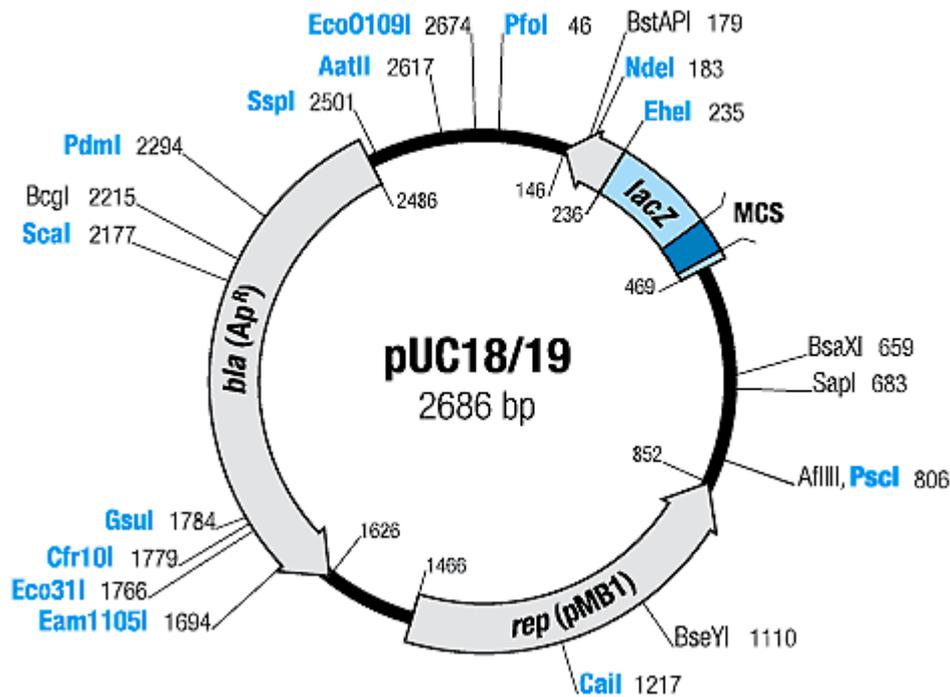
Le **document 4** présente les réactifs et le protocole simplifié d'une de ces techniques.

- 3.1 Caractériser cette technique de dosage : justifier à l'aide d'un schéma légendé.
- 3.2 Expliquer pourquoi la courbe d'étalonnage de ce dosage est décroissante.
- 3.3 L'antisérum de Lapin utilisé dans ce dosage contient des Anticorps polyclonaux anti-mélatonine : décrire les conditions pratiques qui favorisent leur production chez l'animal.
- 3.4 Les anticorps de Chèvre employés fixent les anticorps de Lapin au niveau d'épitopes particuliers, définir ce qu'est un épitope.

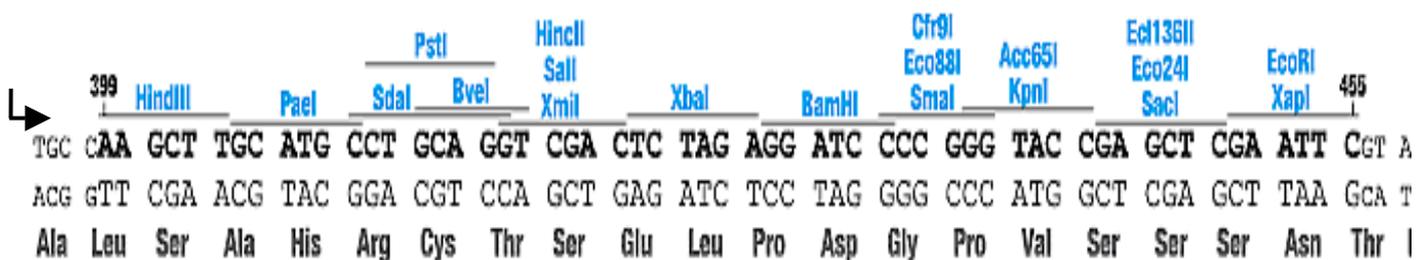
## DOCUMENT 1 : LE PLASMIDE pUC18/19

Extrait de la documentation en ligne de la société Fermentas :  
[http://www.fermentas.com/catalog/nucleicacids/dna\\_sd0061.htm](http://www.fermentas.com/catalog/nucleicacids/dna_sd0061.htm))

**Figure 1a** : carte de restriction du plasmide pUC18/19

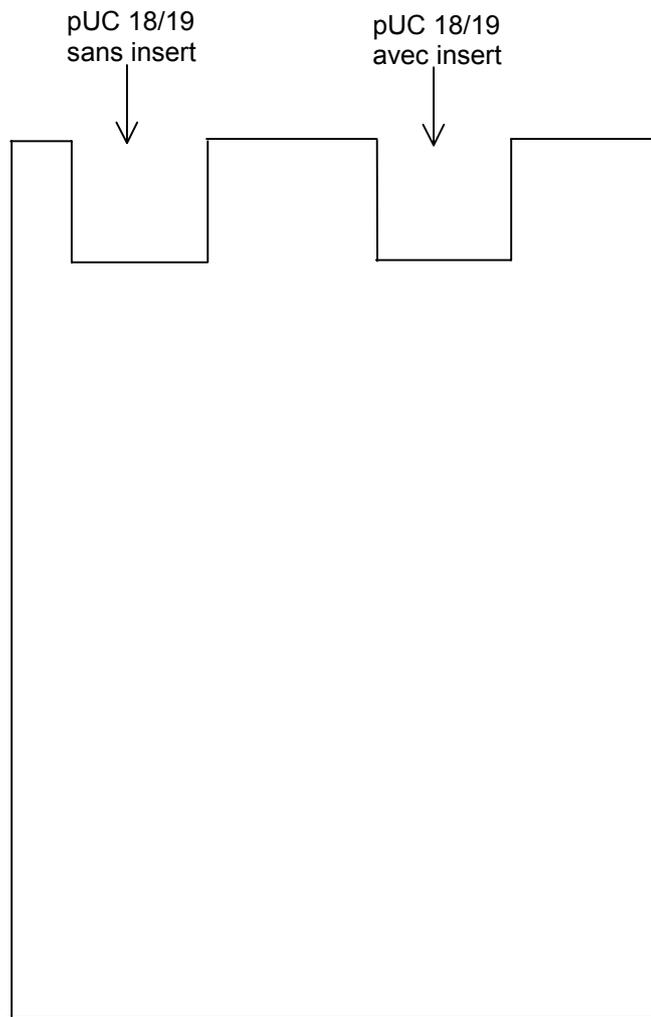


**Figure 1b** : extrait de la carte du MCS de pUC18



Remarque : les plasmides pUC18 et pUC19 ne diffèrent que par la structure de leur MCS.

**DOCUMENT 2 :**  
**(à rendre avec la copie)**



## **DOCUMENT 3 :**

**Extraits de la méthode officielle d'évaluation du potentiel irritant par application directe sur monocouche de fibroblastes de cornée de lapin par la méthode de relargage du rouge neutre (adapté du j.o. n° 302, 30/12/1999-annexe vi)**

### **Objectif et principe**

Cette méthode est une alternative à l'expérimentation animale entrant dans une batterie de tests qui concourent à l'évaluation du potentiel irritant oculaire des produits cosmétiques.

Le principe est basé sur l'évaluation de la cytotoxicité du produit testé, par détermination de la concentration entraînant 50 % de mortalité (CL50), à l'aide de la technique de relargage du rouge neutre.

### **Système réactif**

Fibroblastes de cornée de lapin, de lignée SIRC cat n° 2-552 (ATCC - CCL 60 - American Type Culture Collection - Rockville, Maryland, USA) cultivés en **milieu (D) MEM**, additionné de 10 % de **sérum de veau fœtal** (décomplémenté à 56 °C pendant 30 minutes), d'**antibiotiques** et de **L-glutamine**. Les cellules sont maintenues en atmosphère humide contrôlée (37 °C - 5 % CO<sub>2</sub>).

[...]

### **Protocole**

Deux étapes sont nécessaires à la classification du produit. La première permet d'estimer la valeur de la CL50 et la seconde de la préciser.[Chaque étape est réalisée suivant(a), (b) , (c) et (d)]

*Première étape (estimation de la CL50) :*

Le produit est dilué à : 5, 15, 25, 35 et 50 %. Les dilutions 5, 15, 25 et 35 % sont testées une fois et la dilution 50 % deux fois.

*Deuxième étape (détermination de la CL50) :*

Le choix des dilutions à tester deux fois dans cette étape dépend de l'estimation faite à l'étape précédente.

La veille de l'essai

#### **(a) Préparation des cellules**

Les cellules sont trypsinées et comptées conformément aux procédures internes au laboratoire d'essais. Les cellules sont ensuiteensemencées en microplaque de 24 puits, à raison de 200 000 cellules par puits sous un volume de 1 mL de milieu (D) MEM complet, sans agitation. La plaque est placée au moins 24 heures à l'incubateur (37 °C - 5 % CO<sub>2</sub>).

#### **(b) Préparation de la solution colorante**

Une solution mère de rouge neutre à 0,4 % dans de l'eau distillée stérile est préparée et diluée au 1/80 dans du milieu de culture complet puis mise à l'incubateur dix-huit à vingt-quatre heures (37°C - 5 % CO<sub>2</sub>).

#### **(c) Préparation de la solution de révélation**

Une solution à 1 % d'acide acétique glacial dans l'éthanol à 50 % est préparée. Cette solution se conserve plusieurs semaines.

Le jour de l'essai

#### **(d) Coloration cellulaire**

Vingt-quatre heures après l'ensemencement, le milieu de culture de chaque puits est éliminé. La solution colorante de rouge neutre, après centrifugation à 3 000 g pendant dix minutes, est déposée à raison de 1 mL par puits. La plaque est placée trois heures à l'incubateur (37 °C - 5 % CO<sub>2</sub>).

Après ce temps de contact, la solution colorante est éliminée et remplacée par 1 mL de milieu de culture complet, par puits. La microplaque est maintenue à température ambiante pendant 30 minutes avant de mettre en contact avec le produit à l'essai [...]

## **DOCUMENT 4 :**

Dosage immunologique de la mélatonine (MT)

### **Liste des réactifs**

- **Microplaque**  
Pré-coatée avec un Ac de chèvre anti-lapin
- **Adhésif pour microplaque**
- **Concentré de tampon de lavage (10x) =**  
Avec conservateurs
- **Tampon d'incubation,**  
Avec conservateurs
- **Calibrateurs A à F =**  
MT (tampon)  
Avec conservateurs
- **Antisérum =**  
AC lapin anti-MT (tampon)  
Avec conservateurs
- **Conjugué Biotine =**  
MT conjuguée à la biotine (tampon)  
Avec conservateurs
- **Marqueur enzymatique =**  
Streptavidine-HRP (tampon protéiné)  
Avec conservateurs
- **Substrat TMB,**  
Dans un tampon citrate
- **Solution Stop =**  
acide sulfurique 0,25 mol/L

### **Protocole simplifié**

- **microplaque pré-coatée**  
*lavage 2 x*
- **ajout 50 µL Calibrateurs, Contrôles ou échantillons**
- **ajout 50 µL conjugué MT-Biotine**
- **ajout 50 µL Antiserum**  
*incuber 3 heures ± 5 min à 2-8°C*  
*lavage 4 x*
- **ajout 100 µL marqueur enzymatique**  
*incuber 30 ± 5 min à 2-8°C*  
*lavage 4 x*
- **ajout 100 µL substrat TMB**  
*incuber 15 ± 2 min à 18-28°C sur un agitateur rotatif*
- **ajout 100 µL Solution Stop**
  - **lire absorbance à 450 nm (dans les 30 minutes)**

# E4-U40 SCIENCES ET TECHNOLOGIES BIOINDUSTRIELLES 2009

Durée : 2 heures Coefficient 3

## LA BIÈRE

La bière est une boisson alcoolisée dont les principaux fabricants en France sont situés dans le Nord et dans l'Est.

Un diagramme, présentant le processus de fabrication d'une bière pasteurisée et conditionnée en bouteilles capsulées de 25 cL, est donné en **document 1**.

### 1 Étude de trois étapes du processus de fabrication (24 points)

#### 1.1 La fermentation (Étapes 15 et 16 du document 1)

1.1.1 La fermentation de la bière s'effectue en deux phases. Citer ces phases et indiquer brièvement les phénomènes qui s'y déroulent.

1.1.2 Lors d'un processus d'étude de fermentation au laboratoire, trois procédés peuvent être mis en œuvre.

Nommer et présenter, éventuellement à l'aide de schémas annotés, ces trois procédés.

#### 1.2 La clarification (Étape 17 du document 1)

Cette étape est généralement réalisée à l'aide d'un « filtre presse » et en présence d'adjuvant.

1.2.1 Ce filtre utilise comme principe la filtration « sous pression ».

Quel est le principal inconvénient de ce type de filtration ? Justifier la réponse.

1.2.2 Le graphe du document 2 représente l'évolution de  $V/t$  en fonction de  $t$  au cours d'une filtration sous pression ( $V$  représente le volume de filtrat obtenu et  $t$  le temps). Commenter et expliquer le tracé obtenu.

1.2.3 Quel rôle de l'adjuvant ? Donner un exemple d'un adjuvant utilisé.

#### 1.3 La pasteurisation (Étape 23 du document 1)

Après remplissage et capsulage, les bouteilles subissent un traitement thermique dans un tunnel de pasteurisation. Elles sont soumises à une aspersion par de l'eau à différentes températures et pendant un temps déterminé (voir tableau ci-dessous).

Zones de traitement	T eau (°C)	Temps de séjour (minutes)
Entrée tunnel		
①	15°C	2
②	30°C	4,5
③	48°C	4,5
④	63°C	28
⑤	48°C	4,5
⑥	30°C	4,5
⑦	15°C	2
Sortie tunnel		

1.3.1 Quel est ce type de pasteurisation ? Justifier.

Quel est le résultat attendu ?

1.3.2 Citer les autres procédés de pasteurisation.

1.3.3 Définir la valeur pasteurisatrice d'une telle opération.

1.3.4 Calculer la valeur pasteurisatrice au palier.

**Données :** T de référence :  $T^* = 60^\circ\text{C}$   $z = 7^\circ\text{C}$

$$F = t \times 10^{\left(\frac{T-T^*}{z}\right)}$$

1.3.5 Comment, en pratique, peut-on augmenter la valeur pasteurisatrice ?

## 2 Étude de certaines matières premières (14 points)

### 2.1 L'eau

L'eau de brasserie ou « eau de process », est utilisée pour le brassage, le nettoyage et la pasteurisation.

#### 2.1.1 L'eau de process peut être traitée par osmose inverse.

À l'aide de schémas annotés, expliquer le principe de cette technique.

#### 2.1.2 À la suite du processus de fabrication de la bière une quantité importante d'effluents liquides est produite et doit être rejetée et/ou recyclée.

##### 2.1.2.1 Citer trois contrôles essentiels à suivre sur ces effluents.

##### 2.1.2.2 Décrire brièvement les procédés d'épuration par « boues activées » et par « lagunage ».

### 2.2 Le malt

L'obtention du malt nécessite trois étapes principales : la trempé, la germination et le touraillage. Expliquer, pour chaque étape, les transformations biochimiques qui ont lieu.

### 2.3 -Les matières et substances suivantes peuvent être ajoutées.

Au cours de la fabrication de la bière, on apporte des « additifs » et des « auxiliaires de fabrication » (**document 1**) : caramel, acide ascorbique, oxygène  $\alpha$ -amylase. Répartir ces substances dans les deux catégories d'ajouts. Justifier votre réponse.

## 3 Bière et qualité (22 points)

### 3.1 Étude HACCP

Afin d'assurer la maîtrise de la sécurité du produit, une étude HACCP est mise en place.

#### 3.1.1 Donner la signification du sigle « HACCP » en anglais et en français.

#### 3.1.2 Une étude a été réalisée au niveau des étapes 19 à 23 du document 1. Le tableau ci-dessous présente les données concernant trois de ces étapes.

Étapes	Dangers	Mesures préventives et contrôles en place
20. lavages, rinçages	Microbiologiques	- Procédures en place - Carte de contrôle température de l'eau
21. Soutirage, remplissage	Microbiologiques	- Nettoyage en place de la soutireuse à chaque changement d'équipe - Procédures en place
23. Pasteurisation	Microbiologiques	- Maintenance et métrologie du pasteurisateur - Diagramme de pasteurisation - Procédures en place

##### 3.1.2.1 Identifier les CCP à l'aide de l'arbre de décision fourni dans le **document 3**.

##### 3.1.2.2 Rédiger sous forme d'un tableau à double entrée en justifiant les réponses « oui » ou « non » apportées aux différentes questions.

##### 3.1.2.3 La maîtrise d'un CCP nécessite des actions à mettre en place. Lesquelles ?

### 3.2 Normes ISO et certification

**3.2.1** Une brasserie a obtenu en la certification ISO 9001 version 2000 à la suite d'un audit réalisé par l'AFAQ.

3.2.1.1 Définir le terme certification.

3.2.1.2 Indiquer le type d'audit qui a été réalisé pour cette certification. Justifier votre réponse.

3.2.1.3 Donner la signification du sigle « AFAQ » et indiquer à quel organisme il correspond.

**3.2.2** La norme ISO 9001 version 2000 est fondée sur huit principes de management de la qualité. Parmi ceux-ci « l'amélioration continue » et « l'approche factuelle pour la prise de décision ». Expliquer ces deux principes.

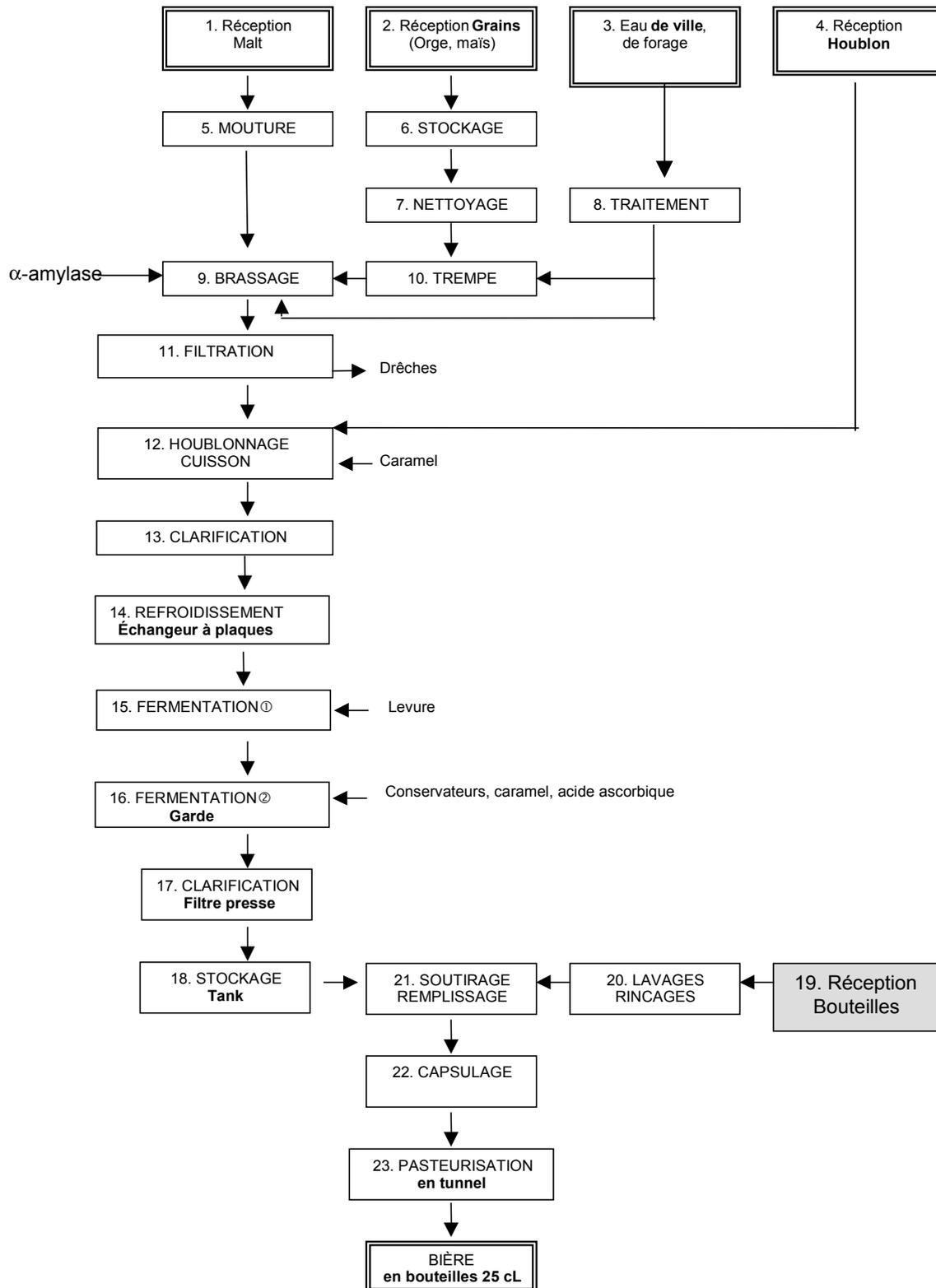
### 3.3 L'étiquetage

L'étiquette d'une bouteille de bière porte les indications suivantes :

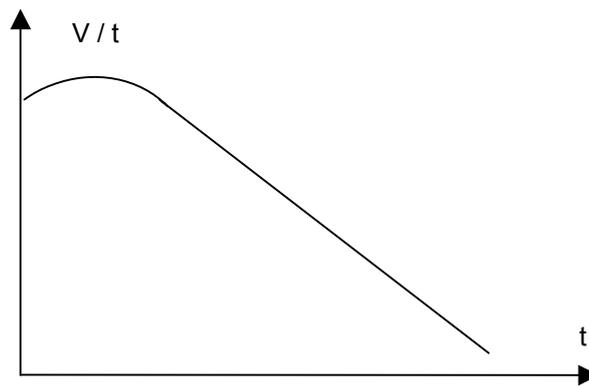
- LA STEENFORT (en gros caractères).
- Bière.
- Alc 5,2 % vol.
- Vol. 25 cL e.
- À consommer de préférence avant fin AVR 08 ;
- Contient du malt d'orge et de blé.
- Brasseries STEENFORT 59000 BIEROVILLE (France).
- Servir très frais.
- 701982AB.

À l'aide des documents présentés en **document 4** et de vos connaissances, identifier chacune des indications ci-dessus et expliquer leur signification.

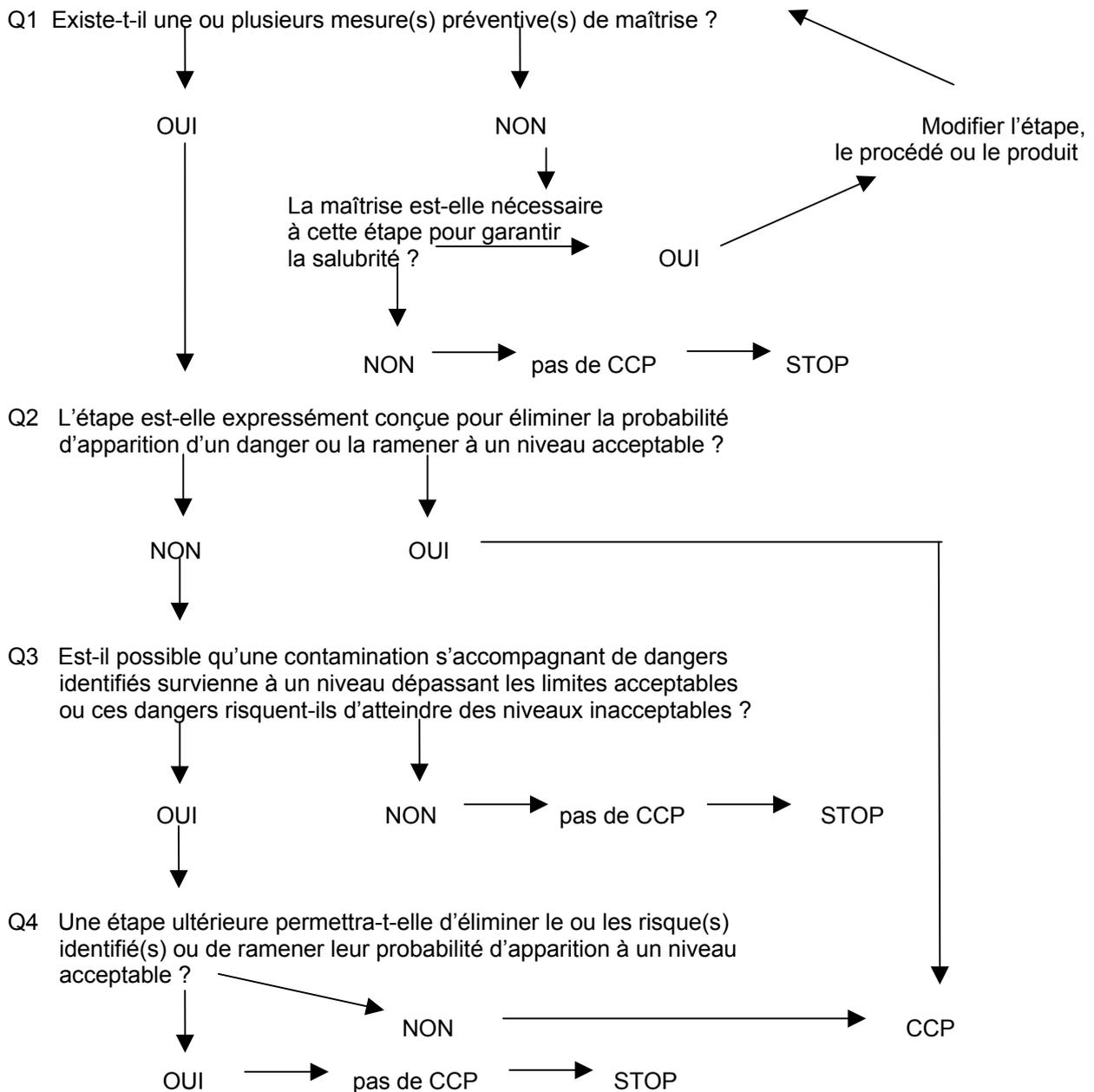
## DOCUMENT 1 : DIAGRAMME DE FABRICATION DE LA BIÈRE



## DOCUMENT 2 : COURBE $V/t = f(t)$



## DOCUMENT 3 : ARBRE DE DÉCISION



## **Document 4 : RÉGLEMENTATION ÉTIQUETAGE**

**Article R 112-9 : étiquetage, contenu (Décret n° 98-879 du 29 septembre 1998 art. 2 Journal Officiel du 2 octobre 1998, Décret n° 2000-705 du 20 juillet 2000 art. 4 Journal Officiel du 28 juillet 2000)**

Sans préjudice des dispositions relatives au contrôle métrologique, l'étiquetage des denrées alimentaires préemballées comporte, dans les conditions et sous réserve des dérogations prévues au présent chapitre, les mentions obligatoires suivantes :

- 1° La dénomination de vente ;
- 2° La liste des ingrédients ;
- 3° La quantité de certains ingrédients, dans les conditions prévues aux articles R 112-17 et R 112-17-1 ;
- 4° La quantité nette ;
- 5° La date jusqu'à laquelle la denrée conserve ses propriétés spécifiques ainsi que l'indication des conditions particulières de conservation ;
- 6° Le nom ou la raison sociale et l'adresse du fabricant ou du conditionneur ou d'un vendeur établi à l'intérieur du territoire de la Communauté européenne ;
- 7° L'indication du lot ;
- 8° Le lieu d'origine ou de provenance chaque fois que l'omission de cette mention est de nature à créer une confusion dans l'esprit de l'acheteur sur l'origine ou la provenance réelle de la denrée alimentaire ;
- 9° Le mode d'emploi chaque fois que sa mention est nécessaire à un usage approprié de la denrée alimentaire ainsi que, le cas échéant, les conditions particulières d'utilisation, notamment les précautions d'emploi.

**DIRECTIVE 2003/89/CE du parlement européen et du conseil du 10 novembre 2003, Modifiant la directive 2000/13/CE en ce qui concerne l'indication des ingrédients présents dans les denrées alimentaires. (Extraits)**

« ...considérant ce qui suit...

(3) Lorsqu'ils sont utilisés pour la fabrication des denrées alimentaires et y sont toujours présents, certains ingrédients ou autres substances sont à l'origine d'allergies ou d'intolérances chez les consommateurs, et certaines de ces allergies ou intolérances représentent un danger pour la santé des personnes qui en souffrent.

(4) Le comité scientifique de l'alimentation humaine institué par l'article 1<sup>er</sup> de la décision 97/579/CE de la Commission a déclaré que l'incidence des allergies alimentaires est telle qu'elles affectent la vie de nombreuses personnes en provoquant des maladies dont certaines sont bénignes alors que d'autres peuvent être potentiellement mortelles.

(5) Ledit comité reconnaît que parmi les allergènes alimentaires les plus courants figurent le lait de vache, les fruits, les légumineuses (particulièrement les arachides et le soja), les œufs, les crustacés, les noix, les poissons, les légumes (céleri et autres aliments de la famille des ombellifères), le blé et d'autres céréales...

(8) Il est nécessaire de faire en sorte que les additifs, les auxiliaires technologiques et les autres substances qui ont des effets allergènes soient soumis à des règles d'étiquetage, afin que les consommateurs souffrant d'allergies alimentaires disposent d'informations suffisantes...

(11) Pour mieux informer l'ensemble des consommateurs et protéger la santé de certains d'entre eux, il convient de rendre obligatoire l'inclusion, dans la liste des ingrédients, de tous les ingrédients et autres substances présents dans l'aliment concerné. Dans le cas des boissons alcoolisées, il y a lieu de rendre obligatoire l'inclusion, sur l'étiquetage, de tous les ingrédients présents dans la boisson concernée qui ont des effets allergènes.

...

Ont arrêté la présente directive

Article premier

1)...

b)...Tout ingrédient défini au paragraphe 4 point a) et énuméré à l'annexe III bis, est mentionné sur l'étiquetage chaque fois qu'il est présent dans des boissons visées au paragraphe 3. Cette mention comprend le terme « contient » suivi du nom du (des) ingrédient(s) concerné(s). Toutefois une telle mention n'est pas nécessaire si l'ingrédient figure déjà sous son nom spécifique dans la liste des ingrédients ou dans la dénomination de vente de la boisson...

d)...les ingrédients intervenant pour au moins 2% dans le produit fini peuvent être énumérés dans un ordre différent à la suite des autres ingrédients,...

## ELEMENTS DE CORRIGE ANGLAIS 2008

### 1 COMPRÉHENSION (10 points)

1.

En Grande Bretagne, des scientifiques experts dans le domaine du changement climatique ont, dans leur dernier rapport, vivement critiqué le gouvernement pour les annonces trompeuses faites au public sur les avancées réalisées pour réduire les émissions de gaz carbonique. Depuis 1990, celles-ci n'ont pas baissé, ni le transport aérien, ni le commerce maritime n'étant inclus dans les calculs sur les gaz à effet de serre. Les réductions devraient atteindre non pas 60 % mais 90 % avant 2050 pour éviter l'augmentation de la température de deux degrés Celsius prévue au Royaume-Uni. Atteindre cet objectif est possible. Les immeubles devraient générer leur propre électricité, des trains à deux étages transporter les voyageurs et les avions ne devraient décoller qu'une fois remplis. Sinon, à partir de 2010, une réduction supplémentaire de 9 % par an de ces gaz sera nécessaire.

(137 mots)

2.

À l'heure actuelle, le gouvernement estime qu'une réduction de 60 % des émissions est nécessaire pour éviter une augmentation de la température de deux degrés Celsius en 2050 au plus tard. Mais les auteurs de ce dernier rapport concluent qu'une réduction de 90% de ces émissions est nécessaire. Leurs chiffres montrent que les émissions de gaz carbonique n'ont pas baissé au Royaume-Uni depuis 1990, l'aviation et le commerce maritime n'étant pas pris en compte dans les calculs.

### 2 EXPRESSION EN ANGLAIS (10 points)

1.

Friends of the Earth is a non-government organization whose goal is to fight against all forms of pollution, to inform the public about the effects of climate change, to lobby governments in order to provoke drastic changes in favor of our environment. Its members respect life and nature in their everyday life. They campaign against the use of chemicals in agriculture, for example, and raise money for programs meant to protect endangered species.

(74 words)

2. Le candidat devrait citer quelques-uns des éléments suivants :

- use public transport regularly
- limit the use of water at home
- insulate the home
- organize car pooling (car sharing)
- buy recycled paper only
- sort your waste (batteries, bottles)
- refuse plastic bags
- buy environment-friendly cars
- use bio fuels
- use your bicycle as often as possible.

## ELEMENTS DE CORRIGE MATHEMATIQUES 2008

### 1 Exercice 1

1.1.1  $g(t) = k e^{-0.05t}$

1.1.2  $a = 21$ .

1.1.3  $f(t) = k e^{-0.05t} + 21$

1.1.4  $f(t) = 79 k e^{-0.05t} + 21$

#### 1.2

1.2.1.1  $\lim_{t \rightarrow \infty} e^{-0.05t} = 0$  d'où  $\lim_{t \rightarrow \infty} f(t) = 21$

1.2.1.2  $\Delta$  a pour équation:  $y = 21$ .

1.2.2  $t = -\frac{1}{0,05} \text{Ln} \frac{0,1}{79} \quad t \approx 133,4$

#### 1.2.3

1.2.3.1 Pour tout  $t$  de  $[0, +\infty[$ ,  $f'(t) = -3,95 e^{-0.05t}$

1.2.3.2

$t$	0	$+\infty$
$f'(x)$	-	
$f(x)$	100	21



### 1.3

1.3.1  $t = 134$

1.3.2 Sur le graphique, on lit que  $f(14) \cong 60$ .

La température du thé est de  $60^\circ \text{C}$  au bout de 14 minutes.

### 2 Exercice 2

2.1.1  $P(560 \leq X \leq 580) \cong 0,99$

2.1.2  $P(X \geq 565) \cong 0,89$ .

#### 2.2

2.2.1.1 Chaque prélèvement est constitué par 16 épreuves élémentaires indépendantes puisque le prélèvement est assimilé à un tirage avec remise.

Chaque épreuve élémentaire peut déboucher sur deux résultats et deux seulement: la bouteille contient une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes, événement de probabilité  $p = 0,10$ , et la bouteille contient une masse de sauce supérieure à 565 grammes, événement de probabilité  $q = 1 - p = 0,9$ . La variable aléatoire  $Y$  associée à ces tirages le nombre total de bouteilles contenant une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

Donc  $Y$  suit la loi binomiale de paramètres  $n = 16$  et  $p = 0,10$

2.2.1.2  $P(Y = 0) \cong 0,19$ .

2.2.1.3  $P(Y \leq 1) \cong 0,51$  ou  $0,52$

2.2.2  $\lambda = 10$

$P(Z \leq 5) \cong 0,07$ .

2.2.3  $I = [134,96; 140,44]$

# ELEMENTS DE CORRIGE SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES 2008

## 1 Polarimétrie

$$1.1. \alpha_{\lambda}^T = [\alpha]_{\lambda}^T \times \ell \times C_m$$

$\alpha_{\lambda}^T$  : pouvoir rotatoire en degré

$[\alpha]_{\lambda}^T$  : pouvoir rotatoire en  $^{\circ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{m}^2$  (ou  $^{\circ} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^3$ )

$\ell$  : longueur du tube polarimétrique en m

$C_m$  : concentration massique en  $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$

$$1.2. [\alpha]_D^{20} > 0 \text{ le saccharose est dextrogyre}$$

1.3. Droite de régression :  $\alpha = a \times C_m + b$

$$a = -0,184^{\circ} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$$

$$b = 1,33 \times 10^{-20} \cong 0$$

$$r^2 = 0,99997 \cong 1$$

$\alpha$  est un fonction linéaire de  $C_m$  : la loi de Biot est vérifiée.

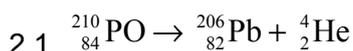
$$[\alpha]_D^{20} = \frac{a}{\ell} = \frac{-0,184}{0,20} = -0,920^{\circ} \text{kg}^{-1} \text{m}^2$$

$$1.4.1. [\alpha]_D^{20} = [\alpha_G]_D^{20} \times \ell \times C_G + [\alpha_F]_D^{20} \times \ell \times C_F$$

$$1.4.2. \alpha_D^{20} = -13,2^{\circ}$$

1.4.3. Le miel est lévogyre, le nectar est dextrogyre : il y a eu inversion du pouvoir rotatoire au cours de la transformation.

## 2 Radioactivité



Conservation du nombre de masse ou de nucléons A.

Conservation du nombre de charge Z.

2.2. Z = 82 protons

$$N = A - Z = 206 - 82 = 124 \text{ neutrons}$$

$$2.3.1. T = 138,4 \times 24 \times 3600 = 11,96 \cdot 10^6 \text{ s}$$

2.3.2.

$$\lambda = \frac{\text{Ln } 2}{T} = \frac{\text{Ln } 2}{138,4} = 5,01 \times 10^{-3} \text{ j}^{-1}$$

$$\lambda = \frac{\text{Ln } 2}{138,4 \times 24 \times 3600} = 5,80 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$$

$$2.4.1. N_0 = \frac{m}{M} \times N_A = \frac{2,10 \times 10^{-3}}{210} \times 6,02 \times 10^{23} = 6,02 \times 10^{18} \text{ noyaux}$$

2.4.2.

$$A_0 = \lambda \times N_0$$

$$A_0 = 5,80 \times 10^{-8} \times 6,02 \times 10^{18} = 3,49 \times 10^{11} \text{ Bq}$$

2.5.

$$A_t = 1 \mu\text{Ci} = 3,7 \times 10^{10} \times 10^{-6} = 3,7 \times 10^4 \text{ Bq}$$

$$A_t = A_0 \times e^{-\lambda t} \text{ soit } \text{Ln} \frac{A_0}{A_t} = \lambda \times t$$

$$t = \frac{1}{\lambda} \times \text{Ln} \frac{A_0}{A_t} = 3,2 \cdot 10^3 \text{ j} \approx 8,8 \text{ a} (\approx 2,8 \cdot 10^8 \text{ s})$$

2.6.1.

$$\Delta m = (m_{84}^{210} \text{Po} - m_2^4 \text{He} - m_{82}^{206} \text{Pb})$$

$$\text{Pour un noyau : } \Delta m = 5,8 \times 10^{-3} \text{ u}$$

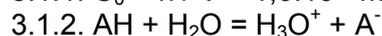
2.6.2. Pour une mole :

$$\Delta m' = \Delta m \times 1,66 \cdot 10^{-27} \times 6,02 \cdot 10^{23} = 5,8 \cdot 10^{-6} \text{ kg}$$

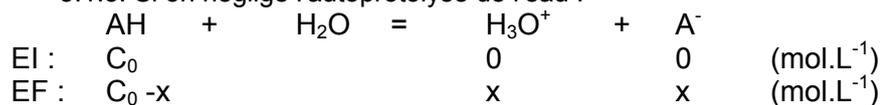
$$2.7. \Delta E = \Delta m' \times c^2 = 5,2 \times 10^{11} \text{ J}$$

### 3 L'acide lactique dans le lait

$$3.1.1. C_0 = n / V = 1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$$



3.1.3. Si on néglige l'autoprotolyse de l'eau :



$$K_a = \frac{x^2}{C_0 - x}$$

Si l'acide est faiblement dissocié  $x \ll C_0$  donc  $\text{pH} = -\log x = \frac{1}{2} (\text{p}K_a - \log C_0) = 2,45$   
 $\text{pH} < 6,5 \Rightarrow$  l'autoprotolyse de l'eau est bien négligeable.

Vérifier que l'acide est peu dissocié ( $10x < C_0$  par ex).

$$3.2.1. \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} = 10^{\text{pH} - \text{p}K_a} = 631$$

$$3.2.2. \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} > 1$$

C'est la forme lactate qui prédomine.

3.3.2. A l'équivalence  $(n_{\text{AH}})_{\text{initial}} = (n_{\text{HO}^-})_{\text{versé}}$ 

$$C' \times V' = C \times V_E$$

$$C' = \frac{C \times V_E}{V'} = 6,5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$$

$$3.3.3. \rho = C' \times M = 5,90 \text{ g.L}^{-1}$$

$$3.3.4. \rho > 5,0 \Rightarrow \text{le lait caille}$$

## 4 Chimie organique : quelques propriétés de l'acide lactique

4.1.1. Acide 2-hydroxypropanoïque

4.1.2. Fonction alcool, fonction carboxylique, mise en évidence du carbone asymétrique.

4.1.3. Un C asymétrique : porte quatre groupements différents.

Enantiomères : molécules non superposables et images l'une de l'autre dans un miroir.

4.1.4. Conventions respectées dans la représentation de Cram.

Ordre de priorité des groupements : OH > COOH > CH<sub>3</sub> > H

Enantiomère R : OH → COOH → CH<sub>3</sub> sens des aiguilles d'une montre en plaçant H à l'arrière.

Enantiomère S : sens inverse.

4.2.1.1. Propan-1-ol : alcool primaire

4.2.1.2. Réaction de réduction

4.2.2.1.  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14 \text{H}^+ + 6 \text{e}^- \leftrightarrow 2 \text{Cr}^{3+} + 7 \text{H}_2\text{O}$

$\text{R-CHO} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{R-COOH} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^-$

4.2.2.2.  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 3 \text{R-CHO} + 8 \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{Cr}^{3+} + 3 \text{R-COOH} + 4 \text{H}_2\text{O}$

4.2.3.1.  $\text{R-COOH} + \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH} = \text{R-COO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3 + \text{H}_2\text{O}$

4.2.3.2. Réactions d'estérification.

4.2.3.3. Cette transformation présente un faible rendement car elle est limitée (réaction inversible).

4.2.3.4. Le rendement peut être amélioré en utilisant un chlorure d'acide ou anhydride d'acide à la place de l'acide carboxylique.

# ELEMENTS DE CORRIGE BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008

## L'ALIMENT FONCTIONNEL

### 1 Dosage de la vitamine A dans les aliments.

#### 1.1 Étapes d'hydrolyse et d'extraction

1.1.1 Rompre la liaison ester entre la fonction alcool du rétinol et la fonction acide de l'acide palmitique pour libérer le rétinol avec équations.

#### 1.1.2

1.1.2.1 Action localisée au niveau du contact entre la solution corrosive et l'organisme : par exemple, action directe sur la peau. Cette action consiste en une destruction des tissus de type « brûlure » chimique.

1.1.2.2 KOH pur est corrosif. Lorsqu'il est en solution, on doit tenir compte de sa concentration.

$$\% \text{ en masse soit } \frac{m \text{ composé corrosif}}{m \text{ totale de sol}} \times 100 \approx \frac{m \text{ composé corrosif}}{P_{\text{sol}} \times V \text{ total de sol}} \times 100$$

Si on admet que la masse volumique de la solution est environ égale à  $1 \text{ g.cm}^{-3}$ , alors 5% en masse représente 5 g dans 100 g soit environ 5 g de composé corrosif dans  $100 \text{ cm}^3$  de solution soit  $50 \text{ g.dm}^{-3}$ .

La solution d'hydroxyde de potassium (R.7) est à  $500 \text{ g.dm}^{-3} > 50 \text{ g.dm}^{-3}$ , donc cette solution est corrosive.

La concentration molaire d'une solution de KOH limite corrosive est

$$C_{\text{KOH}} = \frac{\rho_{\text{KOH}} \text{ limite}}{M_{\text{KOH}}} = \frac{50}{56,1} = 0,89 \text{ mol.dm}^{-3} \approx 1 \text{ mol.dm}^{-3}$$

En dessous de cette concentration, la solution n'est plus corrosive mais elle est classée IRRITANTE Xi.

#### 1.1.3

1.1.3.1 On reprend  $100 \text{ cm}^3$  d'hydrolysats sur les  $200 \text{ cm}^3$  totaux et on les introduit dans une ampoule à décanter. On ajoute de l'eau et de l'éther de pétrole. La phase aqueuse se mélange à la phase éthanolique de l'hydrolysats alors que la phase éther de pétrole est non miscible à la phase hydroéthanolique. Le rétinol, par son caractère apolaire important dû à son noyau et sa chaîne hydrogénocarbonée, se dissout préférentiellement dans l'éther de pétrole qui est donc un solvant apolaire. Le palmitate, plus polaire (moins apolaire), est soluble dans la phase hydroéthanolique. L'éther de pétrole est non miscible à la phase hydroéthanolique car l'eau et l'éthanol sont, eux, des solvants très polaires.

On effectue trois extractions successives du rétinol de la phase hydroéthanolique car à chaque extraction, il s'établit un état d'équilibre entre la concentration en rétinol dans la phase éthanolique et la concentration dans la phase éther (concentration plus importante), mais dans tous les cas, il reste toujours une petite proportion de rétinol dans la phase éthanolique. Il faut donc plusieurs extractions successives pour épuiser la phase éthanolique et recueillir le maximum du rétinol.

1.1.3.2 L'intérêt d'utiliser une ampoule à décanter est de pouvoir recueillir séparément les deux phases non miscibles en faisant s'écouler la phase inférieure par le bas de l'ampoule et ensuite recueillir la phase supérieure par le haut de l'ampoule (ou schéma explicatif).

#### 1.2 Analyse par chromatographie liquide haute performance

##### 1.2.1

1.2.1.1 Le système chromatographique utilisé comprend :

- phase stationnaire : colonne de gel de silice de 30 cm de haut et 4 mm de diamètre, granulométrie des particules  $10 \mu\text{m}$ .
- phase mobile : triméthylpentane/propan-2-ol 99V/1V.
- débit de la phase mobile  $2 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ .

### 1.2.1.2 La phase stationnaire, gel de silice, est polaire par les groupements silanols

La phase mobile est beaucoup plus apolaire par le triméthylpentane, entièrement apolaire (chaînes hydrogénocarbonées) et présente un très faible caractère polaire par la présence de 1 % en volume de propanol (fonction alcool polaire).

Le rétinol présente à la fois des parties apolaires et une fonction alcool polaire. Il peut donc être à la fois un peu retenu et freiné par des interactions avec la phase stationnaire polaire, et entraîné par la phase mobile apolaire, ce qui permet son étude par chromatographie et la séparation des deux isomères *trans* et 13-*cis*.

## 1.2.2

1.2.2.1 On applique la relation de base pour l'injection étalon et pour l'injection essai et on exprime la quantité de rétinol injectée à partie de la concentration de la solution injectée et le volume de solution injectée :

$$\text{nb E.R injecté pour étalon} = \text{CE.R dans sol étalon} \cdot V_{\text{inj}} = \text{FE.R (Aire trans étal} + 0,815 \text{ Aire cis étalon)}$$

$$\text{nb E.R injecté pour essai} = \text{CE.R dans sol essai} \cdot V_{\text{inj}} = \text{FE.R (Aire trans essai} + 0,815 \text{ Aire cis essai)}$$

Le volume injecté  $V_{\text{inj}}$  étant le même,  $100 \text{ mm}^3$ , et le facteur de réponse étant le même, on déduit :  $\text{CE.R dans sol essai} = \frac{\text{CE.R dans sol étalon} \times (\text{Aire trans essai} + 0,815 \text{ Aire cis essai})}{(\text{Aire trans étalon} + 0,815 \text{ Aire cis étalon})}$

$$\text{CE.R dans sol essai} = \mathbf{0,940 \text{ E.R. cm}^{-3}} = \mathbf{0,94 \text{ E.R. cm}^{-3}}$$

extrait beurre

### 1.2.2.2

$$\text{nb E.R par g beurre} = \frac{\text{CE.R dans sol extrait} \times V_{\text{total extrait}} \times V_{\text{total hydrolysat}}}{V_{\text{PE hydrolysat}} \times m_{\text{beurre}}} \left( \frac{\text{E.R cm}^{-3} \times \text{cm}^3 \times \text{cm}^3}{\text{cm}^3 \times \text{g}} \right)$$

$$\text{nb E.R par g beurre n}^\circ 952 = (13,4 \pm 0,7) \text{ E.R.g}^{-1} = (13,4 \pm 0,7) \mu\text{g de rétinol.g}^{-1}$$

1.2.2.3 L'apport journalier recommandé correspond à  $1000 \mu\text{g}$  de rétinol.

Un apport de 15 % supplémentaire représente  $1000 \times 115/100 = 1150 \mu\text{g}$  de rétinol.

Dans  $100 \text{ g}$  de beurre, il y a  $1340 \mu\text{g}$  de rétinol  $> 1150 \mu\text{g}$  requis.

Donc ce beurre n° 952 peut porter sur son étiquette l'allégation fonctionnelle « source de vitamine A ».

## 1.3 Essai d'une nouvelle technique de micro-extraction en phase solide.

1.3.1 Simplicité et gain de temps très important car après l'étape d'hydrolyse (30 minutes) inchangée, on plonge la fibre dans l'hydrolysat pour extraire le rétinol, puis on plonge la fibre dans de l'heptane pour refaire passer le rétinol en solution et injecter cette solution. Il n'y a plus toutes les étapes d'extraction et de lavages successifs en ampoule à décanter à faire, étapes qui étaient longues et fastidieuses, et causes de pertes. Il n'y a pas de contact avec le solvant, le rendement est meilleur et moins d'échantillon est nécessaire..

1.3.2 Pour une étude comparative de coût, il faut tenir compte :

Méthode d'extraction classique	Méthode SPME
Matériel : -	Matériel : +
Réactifs pour une extraction : +	Réactifs pour une extraction : -
Fluides :	
Temps passé par le technicien : +	Temps passé par le technicien : -
Gestion des déchets : +	Gestion des déchets : -

## 2 Importance des acides gras polyinsaturés dans l'alimentation.

### 2.1 Formules chimiques et propriétés des acides gras insaturés :

#### 2.1.1

##### 2.1.1.1 Formule de l'acide gras :

Écriture de la double liaison, configuration *trans* et configuration *cis* à représenter.

La configuration *cis* d'une double liaison provoque une courbure dans la chaîne hydrogénocarbonée de l'acide gras insaturé à cause des angles de valence d'un carbone lié par une liaison double et deux liaisons simples.

m<sub>1</sub> α-linolénique

m<sub>2</sub> acide stéarique

m<sub>3</sub> acide oléique

##### 2.1.1.2. Quand les chaînes hydrogénocarbonées sont sans courbure : les molécules d'acides gras se mettent parallèles les unes aux autres et établissent de nombreuses interactions apolaires → T<sub>fusion</sub> très élevée car il faut une agitation moléculaire correspondant à une température élevée pour rompre ces liaisons. Il y a beaucoup d'interactions apolaires entre acides gras et la température de fusion est élevée.

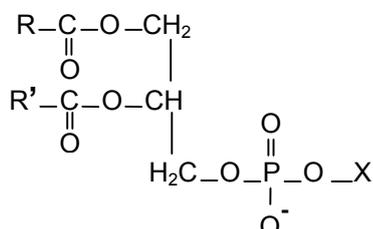
C'est le cas de l'acide stéarique (saturé) et l'acide élaïque (monoinsaturé *trans*) qui sont donc solides à température ordinaire.

Quand les chaînes hydrogénocarbonées sont courbées : les molécules d'acides gras ne peuvent pas se mettre parallèles les unes aux autres et n'établissent que peu d'interactions apolaires → T<sub>fusion</sub> plus faible car il suffit d'une agitation moléculaire correspondant à une température faible pour rompre ces liaisons.

C'est le cas de l'acide oléique (monoinsaturé *cis*) et l'acide α-linolénique (polyinsaturé *cis*) qui sont donc liquides à température ordinaire.

#### 2.1.2

##### 2.1.2.1 glycérol, 2 acides gras, acide phosphorique, alcool.



Indiquer parties polaires et parties apolaires sans explications.

##### 2.1.2.2 Schéma ; fluidité membranaire permettant par exemple le déplacement latéral de molécules dans la membrane → rôle fonctionnel de protéines membranaires par exemple.

### 2.2 Les acides gras polyinsaturés ou acides gras essentiels

#### 2.2.1 Dosage des acides gras essentiels dans les aliments

##### 2.2.1.1 Acide gras que l'organisme ne sait pas synthétiser et qui doivent donc être apportés par l'alimentation, de façon régulière pour satisfaire les besoins.

##### 2.2.1.2 1ère différence essentielle : la phase mobile est gazeuse.

2<sup>ème</sup> différence essentielle : au choix une des idées suivantes :

- la phase mobile est un gaz inerte qui n'établit pas d'interaction avec le composé à séparer,
- les composés à séparer doivent être volatilisés,
- il est obligatoire de disposer d'un solvant volatil
- la température joue un rôle essentiel en CPG,
- à l'effet chromatographique peut s'ajouter un effet de distillation pour séparer les composés,
- en phase gazeuse on ne peut faire que de l'adsorption ou du partage
- ou autre idée s'appliquant bien à la comparaison entre CPG et chromatographie liquide.

En chromatographie en phase gazeuse, la température joue deux rôles :

- la température de l'injecteur doit permettre de faire passer les composés à séparer à l'état gazeux. Pour cela, elle doit être supérieure ou égale à leur température d'ébullition.
- la température dans la colonne peut être inférieure à la température d'ébullition des composés. Pour chaque composé s'établissent alors des états d'équilibres successifs de distillation (composé à l'état liquide et composé à l'état gazeux), ce qui ralentit la progression du composé par rapport à une température qui lui permettrait d'être à 100 % à l'état gazeux. Dans ce cas, la progression du composé est due à la fois à l'effet de ralentissement par interactions avec la phase stationnaire (effet chromatographique) et à l'effet de distillation ajouté.
- un gradient de température dans la colonne permet de réduire le temps d'analyse.

2.2.1.3 Abaisser la température d'ébullition des acides gras de façon qu'ils puissent être volatilisés dès une température plus faible (Température de l'injecteur).

2.2.1.4 Quantité de  $\omega 6$  ds Vinjecté =  $F_{\omega 6} \times \text{Aire pic } \omega 6$

Quantité de  $\omega 3$  ds Vinjecté =  $F_{\omega 3} \times \text{Aire pic } \omega 3$

On indique que le facteur de réponse du détecteur est le même pour tous les acides gras méthylés donc  $F_{\omega 6} = F_{\omega 3}$  ; d'autre part, Vinjecté est le même puisqu'il s'agit d'une seule injection du mélange obtenu à partir de l'huile de soja.

On peut donc écrire :  $\frac{C_{\omega 6} \text{ ds sol extrait}}{C_{\omega 3} \text{ ds sol extrait}} = \frac{C_{\omega 6} \text{ ds huile de soja}}{C_{\omega 3} \text{ ds huile de soja}} = \frac{S \text{ Aires pics } \omega 6}{S \text{ Aires pics } \omega 3}$

Pour l'huile de soja testée,  $\frac{C_{\omega 6} \text{ ds huile de soja}}{C_{\omega 3} \text{ ds huile de soja}} = \frac{189679 + 357}{22079} = 8,6$

Ce rapport est supérieur à 6, il peut y avoir un manque d' $\omega 3$  dans l'huile de soja.

## 2.2.2 Protection des acides gras essentiels et dosage de la vitamine E :

2.2.2.1 Excitation d'un composé par envoi de radiations correspondantes à une longueur d'onde d'absorption de ce composé.

Certains électrons du composé passent à un niveau énergétique supérieur (transition électronique) par absorption des photons correspondant à la longueur d'onde de la radiation envoyée.

Par retour des électrons à un niveau énergétique inférieur, il y a émission de photons correspondants à une radiation de longueur d'onde supérieure à celle de la radiation excitatrice (car photon d'énergie inférieure).

Mesure de l'intensité de la radiation émise.

2.2.2.2 D'après les courbes (a), (b), (c) du document 8, on voit que la vitamine E absorbe vers 290-292 nm alors que le solvant (hexane) et les réactifs autres nécessaires (blanc réactifs) n'absorbent pas ou très peu à cette longueur d'onde → on peut donc choisir 292 nm comme longueur d'onde excitatrice.

D'après les courbes (d) et (e), on voit que la vitamine E fluoresce le plus vers 315 nm, mais à cette longueur d'onde, l'hexane présente aussi un léger phénomène de fluorescence. On choisira donc une longueur d'onde de mesure un peu plus élevée, par exemple 325 nm pour laquelle il n'y a plus de fluorescence de l'hexane et la fluorescence de la vitamine E est encore assez importante → on peut donc choisir 325 nm comme longueur d'onde de mesure.

## 2.3 Rôle énergétique des acides gras.

### 2.3.1 Activation des acides gras :

2.3.1.1 Cytoplasme ou associée à la membrane externe de la mitochondrie.

2.3.1.2



La transformation d'un système dans un sens donné n'est possible que si cette transformation est exergonique, c'est-à-dire qu'elle s'accompagne d'une perte d'enthalpie libre par le système.

Au cours de la transformation écrite, la baisse d'enthalpie libre due à la rupture de la liaison anhydride de l'ATP est plus grande que le gain d'enthalpie libre dû à la synthèse de la liaison thioester entre l'acyl et le coenzyme A ; donc en bilan, le système perd de l'enthalpie libre au cours de cette transformation. La réaction d'activation des acides gras est donc possible puisque exergonique grâce à la rupture de l'ATP.

### 2.3.2 Catabolisme des acyl-Coenzyme A :

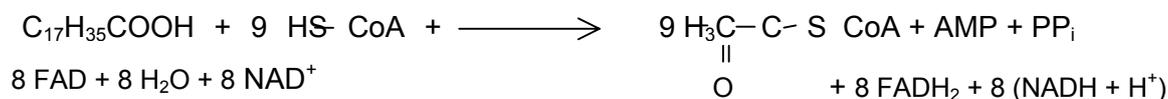
2.3.2.1 Mitochondries (matrice et membrane interne de la mitochondrie).

2.3.2.2 Document à compléter.

2.3.2.3 Un tour de  $\beta$ -oxydation libère 1 éthanoyl-CoA (fragment de 2 C) et nécessite 1 FAD (Coenzyme lié), 1  $\text{H}_2\text{O}$ , 1  $\text{NAD}^+$  et 1 HS-CoA

À partir d'un acide gras à 18 C, il faudra (9 – 1) tours de  $\beta$ -oxydation pour libérer 9 fragments de 2 C (le dernier tour libère 2 éthanoyl-CoA).

D'où l'équation bilan :



# ELEMENTS DE CORRIGE MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008

## INDUSTRIE COSMÉTIQUE ET MICROORGANISMES

### 1 Production industrielle d'un bioémulsifiant : l'alsan

#### 1.1 Structure bactérienne

1.1.1 EPS = feutrage majoritairement polysaccharidique en surface → adhésion aux surfaces et colonisation de milieux, formation de biofilms, échappement aux défenses de l'hôte (facteur antiphagocytaire)...

1.1.2 Composant caractéristique de la paroi bactérienne = peptidoglycane, composé :

- d'une partie osidique = enchaînement de NAM (acide N-acétyl-muramique) et de NAG (N-acétyl-glucosamine),
- d'une partie peptidique : tétrapeptides sur les NAM (liaison amide), et éventuellement pont peptidiques (ex : pont pentaglycine chez *S. aureus*).

1.1.3 Coloration à l'encre de Chine : mise en évidence d'une zone claire autour des corps bactériens noirs (le fond de la préparation étant également noir) → capsule, de nature polyosidique.

#### 1.2 Systématique bactérienne

1.2.1 Non, on ne peut pas affirmer que deux souches de même GC% appartiennent à la même espèce. Par contre, si le GC% est différent, on peut affirmer qu'il s'agit de deux espèces différentes.

L'appartenance à une même espèce repose sur d'autres critères homologues : ADN/ADN, la stabilité thermique ( $\Delta T_m$ ), la température de renaturation, la taille du génome.

#### 1.2.2

1.2.2.1 3 domaines : Eukarya, Eubacteria (ou Bacteria), Archae.

1.2.2.2 Acinetobacter est une bactérie → domaine Eubacteria.

1.2.2.3 ARN 16S = excellent biomarqueur de l'évolution car :

- il est présent dans toutes les espèces et y remplit le même rôle (traduction),
- il est séquençable par des méthodes standard suffisamment rapides,
- il comprend des séquences qui évoluent lentement et d'autres qui sont très variables → chronomètre à deux vitesses, permettant d'apprécier la distance phylogénétique entre deux espèces (signature de l'ARN 16S, d'après les travaux de Woese).

1.2.3 Sa détermination consiste à comparer les  $T_m$  entre un ADN bicaténaire composé de deux ADN simple brin parfaitement complémentaires (homologie complète) et celui hétérologue formé pour moitié par celui de la souche de référence et pour moitié par l'ADN à analyser (plus les séquences de ces 2 ADN sont proches et plus la différence  $\Delta T_m$  sera faible).

#### 1.3 Procédé de production

##### 1.3.1

1.3.1.1 Un coccobacille trapu à Gram négatif ; oxydase négative ; aérobic strict.

1.3.1.2 Réduction des nitrates recherchée sur bouillon nitraté (ou MMN).

Le bouillon nitraté (ou le MMN) doit contenir des nitrates.

Ce sont les nitrites qui sont mis en évidence par les réactifs de Griess.

Le réactif de Griess révèle les nitrites et donc la réduction des nitrates du milieu par la nitrate réductase. Le zinc permet de réduire les nitrates encore présents en nitrites (absence de nitrate réductase).

L'absence de coloration après ajout de zinc signifie réduction des nitrates en diazote ou respiration des nitrates.

### 1.3.2

#### 1.3.2.1 Analyse milieu de culture :

- éthanol : source de C organique et d'énergie,
  - urée = source majoritaire d'azote organique,
  - $\text{NA}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : apport de P et effet tampon,
  - $\text{MgSO}_4$  : apport de Mg (cofacteur important à de nombreuses réactions) et de soufre,
  - ions : micro-éléments et oligo-éléments nécessaires en petite quantité (coenzymes...).
- Tous les composants sont parfaitement maîtrisés : milieu synthétique ou non sélectif.

1.3.2.2 La souche est AS, sa croissance nécessite donc de l'oxygène en proportion équivalente à l'air : demande en oxygène importante → il faut un débit d'air et une agitation favorisant le fractionnement et la dissolution du  $\text{O}_2$  et l'homogénéisation nécessaire pour que toutes les cellules aient accès à l'oxygène.

#### 1.3.2.3 Légendes bioréacteur :

- |  |  |
|--|--|
| 1. Moteur d'agitation                    | 6. Sortie de gaz                           |
| 2. Entrée d'air                          | 7. Sortie d'eau de la double enveloppe     |
| 3. Double enveloppe                      | 8. Pales                                   |
| 4. Entrée d'eau dans la double enveloppe | 9. Tuyau de prélèvement                    |
| 5. Vidange de la cuve                    | 10. Spargeur = bulleur = fragmenteur d'air |

### 1.3.3

1.3.3.1 Courbes à tracer (attention, il faut utiliser les  $\text{Ln A}$  pour la courbe de croissance) (voir fin du corrigé)

1.3.3.2 Phases de croissance (remarquer l'absence de phases de latence et d'accélération) (voir fin du corrigé).

*NB* : la dernière phase (phase de croissance lente) peut être considérée comme une phase stationnaire ou quasi-stationnaire.

#### 1.3.3.3 Paramètres cinétiques de la croissance :

- $\mu_{\text{expo}}$  = vitesse spécifique de croissance maximale = vitesse volumique de croissance rapportée à l'unité de biomasse pendant la phase exponentielle.
- $G$  = temps de génération = temps de doublement de la population pendant la phase exponentielle de croissance.

Détermination graphique ou par le calcul acceptée. Pas d'ordre imposé pour le calcul de  $G$  et  $\mu_{\text{expo}}$ .

#### Détermination de $\mu_{\text{expo}}$ :

$N = N_0 \cdot e^{\mu t} \Leftrightarrow \text{Ln } N = \text{Ln } N_0 + \mu t \rightarrow \mu_{\text{expo}}$  est donc la pende maximale de la courbe de croissance

Pour 2 points  $A_1$  et  $A_2$  pris en phase exponentielle :

$$\text{Ln } N_{A_2} = \text{Ln } N_{A_1} + \mu_{\text{expo}} (t_2 - t_1)$$

$$\mu_{\text{expo}} = (\text{Ln } N_{A_2} - \text{Ln } N_{A_1}) / (t_2 - t_1) = \text{pende de la droite de la phase expo}$$

$$\mu_{\text{expo}} \approx 0,3 \text{ h}^{-1} \text{ (calculable sans calculatrice avec les points 8h et 16h) ou } \mu_{\text{expo}} = \frac{\ln_2}{G}$$

#### Détermination de $G$ :

$$G = t_2 - t_1 \text{ tel que } N_2 = 2 N_1 \text{ ou } G = \frac{\ln_2}{\mu_{\text{expo}}}$$

$$\text{Donc } \text{Ln } N_2 = \text{Ln } 2 + \text{Ln } N_1$$

Pour déterminer  $G$  graphiquement, on choisit en ordonnées  $\text{Ln } N_1$ , on ajoute  $\text{Ln } 2 = 0,7$  pour obtenir  $\text{Ln } N_2$  ( $\text{Ln } N_1$  et  $\text{Ln } N_2$  pris en phase expo), puis on reporte ces deux points sur la droite de la phase exponentielle puis sur l'axe des abscisses où on lit  $t_2 - t_1$  correspondant à  $G \rightarrow G \approx 2 \text{ h}$

1.3.3.4 La courbe de l'évolution de l'activité émulsifiante en fonction du temps présente deux phases : une première phase (jusqu'à ~ 25 h) de pente très faible (voire nulle) et une seconde phase de pente plus forte.

L'alsan est majoritairement produit à partir de la deuxième phase de la courbe de croissance (après 25 h, idiophase) : métabolite secondaire.

1.3.3.5 Le but ici est de produire de l'alanine : on cherche donc à atteindre le plus rapidement possible la phase de production (qui correspond à la phase de croissance lente ou phase quasi-stationnaire) et on cherche à allonger le plus possible cette phase de production (idiophase). On n'alimente donc pas en substrat pendant les 30 premières heures pour « forcer » la bactérie à épuiser le milieu et que la biomasse atteigne une concentration suffisante. On ajoute ensuite progressivement du nouveau milieu, en quantité juste suffisante pour maintenir l'idiophase et donc la production du métabolite d'intérêt.

La contrainte majeure est qu'il faut attendre que la souche arrive en phase stationnaire pour démarrer la production : délai...

(d'autre part, la composition du milieu au départ est importante : elle doit permettre à la souche d'atteindre une biomasse importante mais le milieu doit être rapidement épuisé pour que l'idiophase démarre le plus longtemps possible et donc dure plus longtemps).

Autre réponse logique, par exemple : l'oxygénation du milieu peut devenir limitante avec l'augmentation du volume.

1.3.3.6 Productivité horaire finale en alanine : elle correspond à la quantité de produit formé par unité de temps, en fin de fermentation → il suffit de calculer la pente « apparente » de la courbe de production de l'émulsifiant en quantité, entre 0 h et 100 h.

-  $t_0 \rightarrow P_0 = 10 \text{ U}$  ;  $t_f \rightarrow P_f = 2710 \text{ U}$  (lus sur le tableau du document 4)

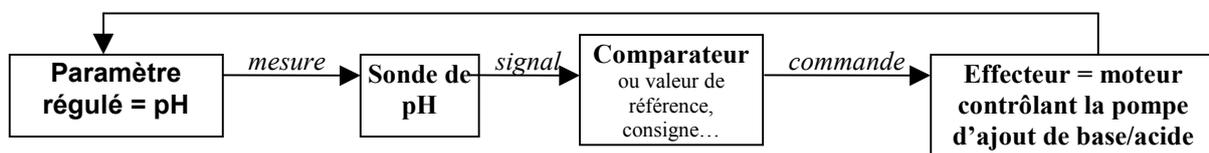
→  $PVH_f = (P_f - P_i) / (t_f - 0) = (2710 - 10) / 100 = 27 \text{ U.h}^{-1}$

### 1.3.4

1.3.4.1 Analyse : le document montre la variation de G en fonction de la température. On remarque un aspect en « cloche inversée » qui traduit l'existence d'une zone de températures optimales pour la culture de cette souche (quand G est le plus petit, entre 22 et 34°C). La température pour laquelle G est le plus petit est 30°C, ce qui correspond à la température choisie pour le procédé. La souche est donc mésophile.

1.3.4.2 Le pH peut être régulé par ajout d'acide ou de base concentrée, après mesure du pH du milieu (par une sonde) et comparaison à une valeur de consigne choisie.

Boucle de régulation mise en jeu :



1.3.4.3 Amélioration des souches d'intérêt : génie génétique, mutagenèse dirigée, transferts génétiques.

## 2 Prévention des contaminations dans l'industrie cosmétique

### 2.1 Contrôles des locaux

2.1.1 Dans l'air, il y a peu d'eau et peu ou pas de nutriments Il faut donc des microorganismes qui résistent à la dessiccation.

Les spores de moisissures et les bactéries G+ sont classiquement plus résistantes à la dessiccation, et donc plus adaptées à la survie dans l'air.

*Micrococcus luteus* est un exemple de bactérie G+ contaminant de l'air (ou *Bacillus*).

2.1.2 Méthode de contrôle de l'atmosphère d'une pièce : sédimentation ou centrifugation (biocollecteur, impacteur...).

Méthode de contrôle des surfaces : boîtes contact, lames gélosées, écouvillonnage, Pétrifilms.

### 2.2 Rôle des conservateurs dans les cosmétiques

2.2.1 Les produits cosmétiques peuvent être contaminés au cours de la production par :

- les matières premières utilisées,
- l'eau utilisée,
- le manipulateur,
- l'air (atmosphère).

**2.2.2** Une flore lipolytique est une flore capable de dégrader les lipides, grâce à un équipement enzymatique adapté. Une émulsion étant un mélange lipide-eau, une flore lipolytique trouvera dans une émulsion ce dont elle a besoin pour sa croissance. Conséquence : altération de la qualité du produit par dégradation des lipides (perte de l'équilibre eau-lipide) → émulsion instable.

**2.2.3** Un additif conservateur doit assurer :

- l'innocuité du produit, par l'inhibition de la multiplication des microorganismes pathogènes éventuellement présents et de la production de toxines.
- la stabilité du produit par l'inhibition des microorganismes d'altération.

**2.2.4**

2.2.4.1 Un challenge-test sert à vérifier l'efficacité du conservateur présent dans un produit cosmétique, au cours du temps.

2.2.4.2 Afin de dénombrer les germes revivifiables aux différents temps de conservation, il est nécessaire que le conservateur présent dans le produit n'inhibe pas la croissance de ces germes sur milieu gélosé. On utilise donc un neutralisant comme diluant et dans la gélose pour dénombrement.

2.2.4.3 Analyse des résultats du challenge-test :

- *P. aeruginosa* : réduction > 2 log à 2 jours ; > 3 log à 7 jours ; P.A.U. à 14 jours ; réaugmentation à 28 jours → conservateur non efficace contre ce germe à long terme.
- *S. aureus* : réduction > 2 log à 2 jours ; > 3 log à 7 jours ; P.A.U. à 14 jours ; P.A.U. à 28 jours → conservateur efficace contre ce germe à long terme.
- *C. albicans* : réduction > 2 log à 14 jours ; P.A.U. à 28 jours → conservateur efficace contre ce germe à long terme.
- *A. niger* : réduction > 2 log à 14 jours ; P.A.U. à 28 jours → conservateur efficace contre ce germe à long terme.
- *Conclusion* : conservateur non efficace contre une des souches testées, challenge test non validé

**2.2.5**

2.2.5.1 CMI = concentration minimale inhibitrice = plus petite concentration en conservateur capable d'empêcher le développement d'un microorganisme particulier (= aucune croissance visible).

2.2.5.2 Analyse des résultats de la CMI :

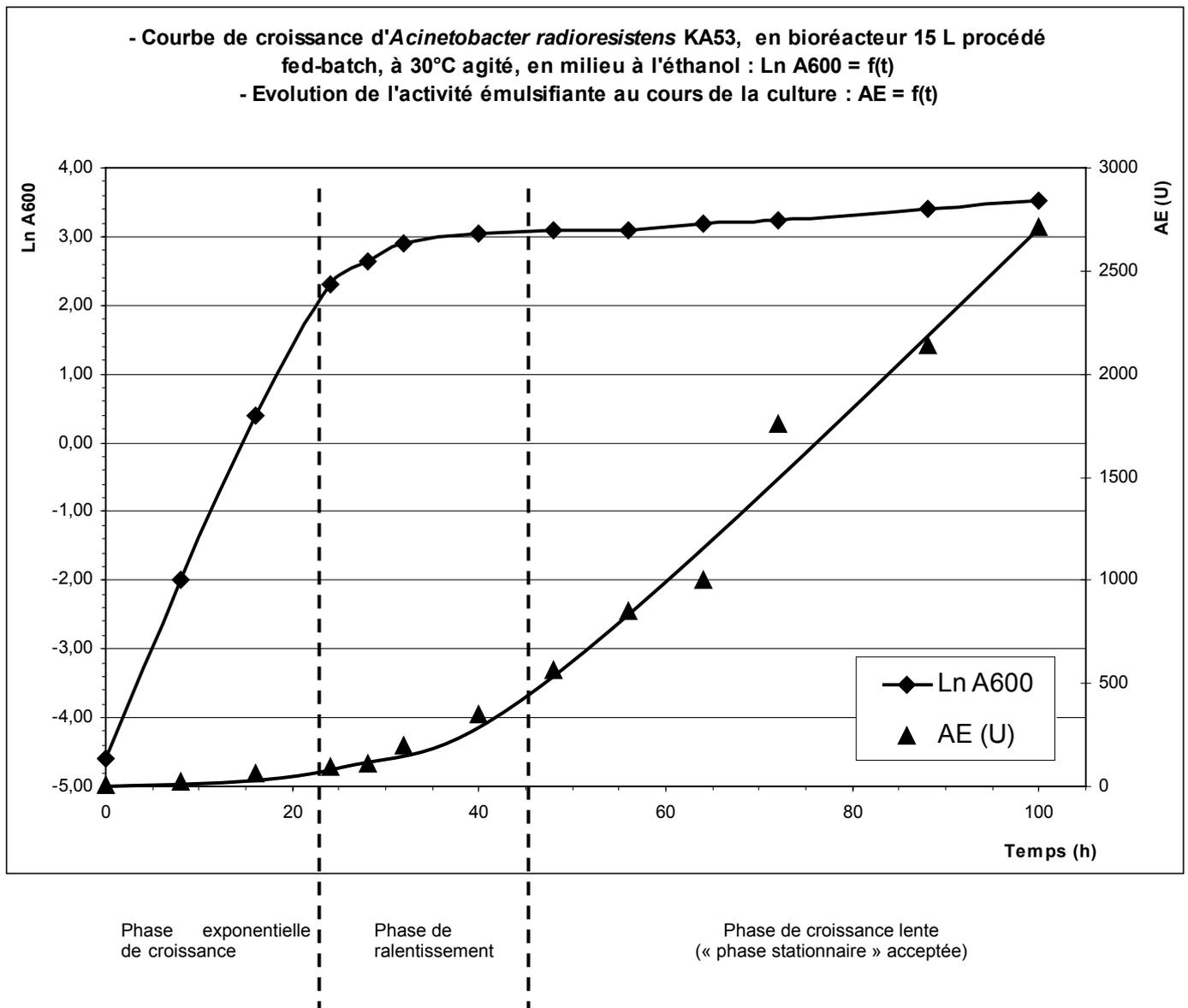
- boîte témoin (0 %) : culture des 3 souches → le milieu gélosé utilisé n'inhibe pas la croissance des souches testées.
- souche M : croissance jusqu'à 0,025 %, pas de croissance à partir de 0,05 % → CMI = 0,05 % ou 0,025 % < CMI ≤ 0,05 %.
- souche P : croissance sur toutes les boîtes testées → CMI > 0,4 %.
- souche B : croissance jusqu'à 0,1 %, pas de croissance à partir de 0,2 % → CMI = 0,2 % ou 0,1 % < CMI ≤ 0,2 %.

2.2.5.3 Le PHBM est présent dans la crème cosmétique à 0,2 % (1,0 g pour 500 g total → 1/500 = 0,2 %).

D'après les résultats précédents, il sera :

- efficace contre *Micrococcus luteus* car la CMI du PHBM vis-à-vis de *M. luteus* est strictement inférieure à 0,2 %.
- non efficace contre *Pseudomonas aeruginosa* car la CMI du PHBM vis-à-vis de *P. aeruginosa* est strictement supérieure à 0,2 %.
- efficace contre *Bacillus licheniformis* car la CMI du PHBM vis-à-vis de *B. licheniformis* est inférieure ou égale à 0,2 %.

### Réponses aux questions 1.3.3.1 et 1.3.3.2



# ELEMENTS DE CORRIGE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2008

## L'ATRAZINE

### 1 Étude de l'action cytotoxique de l'atrazine.

- 1.1** - La suspension cellulaire est incubée avec un composé soluble, le MTT. Le dosage est basé sur la réduction du MTT par les cellules vivantes. La réaction produit du sel de formazan insoluble coloré en bleu qui est ensuite solubilisé. L'intensité de la coloration est mesurée par spectrophotométrie et est directement proportionnelle au nombre de cellules initialement viables.
- 1.2** - Une lignée cellulaire est un ensemble de cellules toutes identiques et appartenant à un type cellulaire donné.  
 Une lignée continue est constituée de cellules :  
 - dont le nombre de divisions est illimité en culture : elles ne subissent donc pas de phénomène de sénescence ;  
 - qui ont perdu l'inhibition de contact : une fois arrivées à confluence, elles continuent à se multiplier puis elles meurent par manque de support ou elles forment plusieurs couches cellulaires.  
 - et qui ont une plus faible exigence en facteurs de croissance que les lignées définies.
- 1.3** -  $n = 45\ 000\ \text{cellules/cm}^2 \times 0,33\ \text{cm}^2 = 15\ 000\ \text{cellules}$  à ensemercer par puits.  
 Concentration de la suspension fille :  $C_{\text{fille}} = n / V = 15\ 000 / 50 \cdot 10^{-3} = 300\ 000\ \text{cellules/mL}$   
 Dilution :  $d = C_{\text{fille}} / C_S = 300\ 000 / 1,5 \cdot 10^6 = 1/5$   
 Témoin négatif : 50  $\mu\text{L}$  suspension diluée + 50  $\mu\text{L}$  DMEM complet.  
 Le témoin négatif permet de mettre en évidence le taux maximum de prolifération en absence de composé toxique dans le milieu.
- 1.4** - La trypsine est une enzyme protéolytique qui digère la trame protéique qui entoure les cellules.  
 Elle détache la couche de cellules de son support : les interactions cellules/cellules et cellules/support se fragilisent.  
 L'EDTA complexe les ions  $\text{Ca}^{2+}$  :  
 - qui ont la propriété d'inhiber l'action de la trypsine ;  
 - et qui participent à l'adhérence cellulaire.
- 1.5** - Plus l'absorbance est faible, moins de sel de formazan a été généré, donc plus la viabilité cellulaire a été faible.  
 L'atrazine présente une cytotoxicité in vitro sur les cellules CHO K1 à partir d'une concentration de 1  $\mu\text{g/L}$  de milieu. Plus la concentration en atrazine dans le milieu est élevée, plus l'effet cytotoxique est important. A partir d'une concentration à 1000  $\mu\text{g/L}$  de milieu, la viabilité des cellules est nulle et donc toutes les cellules sont tuées.  
 (Possibilité éventuellement de déterminer l'IC50 = 20  $\mu\text{g/L}$ ).
- 1.6** - Après absorption, l'atrazine passe dans la circulation sanguine où elle est transportée à l'état libre. Elle peut être distribuée au niveau des tissus et produire une action physiologique : c'est la toxicité aiguë.  
 Elle peut être métabolisée :  
 - en intermédiaires réactifs, et combinée avec des macromolécules (protéines et acides nucléiques) elle provoque une toxicité à long terme (nécrose, allergie, cancer) ;  
 - en métabolites non réactifs très hydrosolubles par combinaison à l'acide glucuronique (glucuroconjugaison) pour être excrétée dans l'urine.

### 2 Étude de l'action de l'atrazine sur le cycle cellulaire.

- 2.1** - Le cycle cellulaire est contrôlé par des complexes protéiques constitués de deux catégories de molécules : les kinases dépendantes de cyclines (cdk) et les cyclines.  
 Chaque cycline est une molécule activatrice d'une cdk : la cycline constitue la sous-unité régulatrice du complexe. La concentration de chaque cycline est variable au cours du cycle.
- 2.2** - Le MPF initie la phase M (mitose) du cycle cellulaire.

- 2.3** - Quand un point de contrôle n'est pas passé, la cellule meurt par apoptose : il s'agit d'un phénomène actif mettant en jeu la mitochondrie et impliquant des nucléases mais aussi des protéases, les caspases. Le substrat des nucléases est la chromatine. Les cibles des caspases sont nombreuses, ce sont des protéines de structure ou de signalisation. Il se produit une cascade de caspases. *In fine*, la cellule acquiert le phénotype apoptotique : l'ADN se dégrade en fragments puis la cellule se fragmente sous la forme de corps apoptotiques. La nécrose résulte d'une agression extérieure de la cellule et se traduit par la rupture des membranes cellulaires.

### 3 Étude de l'action de l'atrazine sur le métabolisme des stéroïdes.

- 3.1** - Une hormone est un médiateur chimique, synthétisé par des cellules endocrines en réponse à un stimulus, puis sécrété dans le sang à de faibles concentrations et transporté à distance par le sang. L'hormone pénètre dans les tissus, puis se lie à un récepteur protéique spécifique présent chez la cellule cible et induit une réponse cellulaire spécifique.
- 3.2** - L'hormone liposoluble diffuse directement à travers la membrane plasmique des cellules et se fixe sur un récepteur protéique intracellulaire. La fixation de l'hormone modifie la conformation du récepteur ce qui provoque son activation. Le complexe hormone – récepteur activé présente alors une forte affinité pour des séquences d'ADN situées en amont des promoteurs des gènes hormonaux dépendants. Le récepteur activé se fixe sur ces séquences spécifiques ; le récepteur activé module ainsi la transcription de gènes spécifiques c'est-à-dire la synthèse d'ARNm codant des protéines telles que des enzymes favorisant les activités métaboliques induites par l'hormone.
- 3.3** - L'atrazine augmente l'activité de l'aromatase dans les cellules H295R de manière dose dépendante.
- 3.4** - Comme l'activité est augmentée, il s'agit donc d'une activation de la transcription.
- 3.5** - Toute réponse logique correspondant à un mécanisme d'activation de la transcription du gène codant cette enzyme par la molécule d'atrazine est acceptée (par ex. activation d'un promoteur ou inhibition d'un silencer ...).

### 4 Dosage de l'atrazine dans une eau potable.

- 4.1** - Schémas légendés.
- 4.2** - méthode immuno-enzymatique par compétition en phase hétérogène.
- 4.3** - 100 µL de tampon de sensibilisation + 200 µL SAB + (100 µL étalon à 100 µg.L<sup>-1</sup>) + 50 µL de tampon +100 µL TMB + 100 µL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Il met en évidence l'absence d'auto-dégradation du substrat.
- 4.4** -  $r = 0,999$   
 $\%B/B_0 = -22,88 \times \log([\text{atrazine}] \text{ en } \mu\text{g.L}^{-1}) + 47,18$   
 Essai 1 :  $\log[\text{atrazine}] = -0,289$  donc  $[\text{atrazine}]_{\text{échantillon}} = 0,51 \mu\text{g.L}^{-1}$   
 Essai 2 :  $\log[\text{atrazine}] = -0,284$  donc  $[\text{atrazine}]_{\text{échantillon}} = 0,52 \mu\text{g.L}^{-1}$
- 4.5** - La concentration en atrazine dans l'échantillon d'eau (0,52 µg.L<sup>-1</sup>) est supérieure à la concentration maximale acceptable qui est de 0,1 µg.L<sup>-1</sup>. L'eau n'est pas potable.

## ELEMENTS DE CORRIGE STBI 2008

### FABRICATION DU « SAUCISSON DE LYON »

#### 1 Le procédé de fabrication

1.1 Étape 1 : micro-ondes ou tout appareil permettant un tempérage rapide.

Étape 2 : cutter.

Étape 3 : balance.

Étape 4 : broyeur.

Étape 5 : mélangeur.

Étape 6 : poussoir.

1.2 Température, pression (dans le mélangeur), masse.

1.3

1.3.1 Contrôles métrologiques.

1.3.2 (Stabilité de la balance).(Sensibilité). Exactitude ou justesse. Précision ou fidélité.

1.4

1.4.1

1.4.1.1 Ce sont des bactéries lactiques (du genre Lactobacillus) qui provoquent la diminution du pH.

1.4.1.2 Phase 1 : début de développement des bactéries : phase d'adaptation au produit et à la montée progressive de la température.

Phase 2 : phase de croissance importante au cours de laquelle il y a une fermentation lactique.

- glycogène → glucose → acide lactique

- matières grasses → acides gras

acides lactique et gras contribuant à la baisse importante du pH.

1.4.2

1.4.2.1 HACCP : hazard analysis critical control point.

Analyse des dangers, points critiques pour leur maîtrise.

1.4.2.2 Danger : agent biologique, physique ou chimique, présents dans un aliment, et pouvant entraîner un effet néfaste sur la santé du consommateur.

Si le pH n'a pas atteint 5,3 alors que la température est amené progressivement à 21°C à une vitesse de montée en températures de 3°C/heure alors le terrain est favorable pour la multiplication d'agents pathogènes. Cela ne veut pas dire qu'ils s'y développeraient forcément.

1.5

1.5.1 Séchage : élimination par évaporation de l'eau imprégnant un produit.

1.5.2 Séchage par convection : il consiste à mettre le produit en contact avec un gaz (air) circulant dans le séchoir. L'air qui entre est sec, celui qui sort est humide.

Séchage par conduction (mise en contact directe entre le produit et une paroi chaude) ou séchage par rayonnements. (sont acceptées les réponses « procédés » comme lyophilisation, ...)

1.5.3

1.5.3.1 Pour le développement des moisissures (de la fleur de Penicillium) et pour un séchage lent stabilisant le produit.

1.5.3.2 Teneur en eau de la mûlée Teneur =  $(85 / 150) \times 100 = 57 \%$

	Saucisson sec	Mûlée
Masse produit	100 g	150 g
Masse d'eau	35 g	35 + 50 = 85 g

## 2 Matières premières et contrôles des produits

2.1 Os, nerfs, gras, couenne (désosser, dénervé, dégraisser, découenner). (2 éléments exigés)

### 2.2

2.2.1 Hydrolyse des protéines des fibres musculaires par des enzymes protéolytiques → dégradation des fibres musculaires.

2.2.2 Le collagène, de par sa composition en acides aminés, n'est pas hydrolysé par les enzymes protéolytiques. Il possède une structure rigide → plus il y a de collagène dans le muscle et moins la viande sera tendre.

Le nombre de liaisons intercaténares au sein du collagène (et leur stabilité) augmente avec l'âge de l'animal. Plus celui-ci est âgé et plus son collagène est rigide, plus la viande sera dure. (Autre réponse logique possible)

### 2.3

2.3.1 Additif alimentaire : composé ajouté à l'aliment en petite quantité pour ses propriétés conservatrices, fonctionnelles ou organoleptiques.

2.3.2 Le sel diminue l'Aw du produit et empêche la prolifération de certains micro-organismes et sélectionne la flore bactérienne halophile.

#### 2.3.3

2.3.3.1 Rôle hygiénique et rôle organoleptique (dont le développement de la couleur).

Les nitrites sont des substances inhibant la multiplication des bactéries anaérobies en particulier *Clostridium botulinum* (bactérie pathogène) → rôle hygiénique.

Formation de nitrosomyoglobine → développement de la couleur.

2.3.3.2 NF : norme française. EN : norme européenne.

DGCCRF : direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes.

Plus petite quantité pouvant être dosée par une méthode.

250 mg de nitrate de sodium/kg de saucisson.

La réduction des nitrates en nitrites entraîne une diminution de la quantité mais la déshydratation du produit maintient la concentration.

### 2.4

2.4.1 Cahier des charges (référentiel accepté).

2.4.2 Contrôles en ligne des produits intermédiaires qui permettent l'obtention d'un produit final constant → qualité durable dans le temps.

Rectification de la formulation en temps réel → actions correctives.

#### 2.4.3

2.4.3.1 Avant ajout de matières grasses.

Avant embossage. Entre les étapes 5 et 6, dans la mêlée.

} pour standardisation

2.4.3.2 Rapidité, facilité, en cours de fabrication non destructif.

2.4.3.3 Étroitesse de l'accord entre des mesures répétées sur un même échantillon.

Il faut réaliser 30 mesures au moins sur un même échantillon, (éliminer les valeurs aberrantes), déterminer la moyenne et l'écart-type ( $\sigma$ ) des résultats ;

Calculer  $CV = (\sigma / \text{moy}) \times 100 = 0,5 \%$ .

2.4.3.4 Mise en place d'un cahier des charges précis pour les fournisseurs de matières premières (viandes « maigres »). Les fournisseurs certifient un certain taux de matières grasses dans leurs viandes « maigres ». C'est la "confiance".

## ELEMENTS DE CORRIGE ANGLAIS 2009

### 1 COMPREHENSION :

#### 1.1 Les idées essentielles du texte sont :

- L'opposition « autrefois / aujourd'hui », l'idée que la menace qui pèse sur la faune sauvage a changé
- Autrefois, les espèces animales sauvages étaient menacées par la destruction de leur habitat à cause du mode de vie des indigènes et du braconnage
- Aujourd'hui elles sont menacées par la chasse qui se développe fortement
- Les causes : la construction accrue de routes pour le bûcheronnage, les sites miniers, qui donnent accès au marché mondial.
- Le commerce mondial de peaux, de fourrure et surtout de viande de brousse est florissant
- Les causes : forte demande des immigrants africains installés de par le monde et snobisme lié à la consommation de viande de brousse.
- Cependant, des mesures sont prises pour lutter contre les exportations et la contrebande ainsi que pour limiter la consommation locale aux stricts besoins des indigènes.

Conseils: - évitez la phrase d'introduction artificielle « ce texte extrait de (nom du magazine date).  
Annoncez directement le sujet du document.

- relisez et assurez-vous que ce que vous écrivez fait sens.
- vérifiez orthographe et grammaire
- respectez le nombre de mots demandés et indiquez à la fin de votre compte-rendu, et de façon précise, le nombre de mots écrits.

#### 1.2 Traduire en français le texte de la ligne 16 (« There is a thriving market.... ») à la ligne 21 («... are falling silent. »).

*Il existe un marché florissant de la viande de brousse parmi les immigrants de la communauté africaine dispersés à Paris, New York, Montréal, Chicago et ailleurs. On estime à 7000 kilos la quantité de viande - essentiellement de la viande de primate- qui arrive tous les mois rien que dans sept villes européennes et nord-américaines. Selon E. Bennett, « la chasse et le commerce ont déjà entraîné des extinctions de grande envergure d'espèces locales en Asie et en Afrique de l'Ouest. Les endroits sauvages du monde sont en train de devenir silencieux » ;*

### 2 EXPRESSION: ( à rédiger en anglais)

#### 2.1 What sorts of threats is the world's wildlife facing nowadays and why? (120 words, +/- 10%)

useful vocabulary: to face something / the increase of population / man's expansion / human needs / industrialization / globalization / to shrink / the natural habitat / to make room / to clear / to raise cattle / to grow crops / pollution / to make something disappear / disappearance / to sentence to death / to respect

Useful grammar points : savoir construire le présent simple, formes affirmatives et négatives. Accorder verbes et sujets.

#### 2.2 Are there any solutions to the problem of the extinction of animal species? (100 words, +/- 10%)

- on s'attend à voir utiliser les outils servant à exprimer l'opinion, la certitude, l'incertitude, les modaux (may, might, must, should, ought to, mustn't, shouldn't...),.
- useful vocabulary: to solve something / to fight something / the NGOs / organisations / to investigate / to preserve / birth control / education / to limit / poaching / sustainable development / short-term solutions / long-term solutions / a change in mentalities

-NB :

- ne pas oublier d'organiser les arguments. Il faut rédiger, ne pas lister. Respecter les consignes données quant au nombre de mots à rédiger et ne pas oublier d'indiquer le nombre de mots écrits.

## ELEMENTS DE CORRIGE MATHEMATIQUES 2009

### 1 Exercice 1 :

#### 1.1

1.1.1.1 Expérience : on vérifie un tuyau : Succès, il est défectueux,  $p = 0,015$

Échec, il n'est pas défectueux,  $q = 0,985$

On recommence 20 fois cette expérience de façon indépendante (tirages assimilés avec remise), donc  $X$  est la loi binomiale de paramètres 20 et 0,015 ;  $X = B(20; 0,015)$ .

1.1.1.2.  $p(X = 0) = 0,985^{20} \approx 0,739$        $X = B(20; 0,015)$

1.1.1.3  $p(X \leq 2) = p(X = 0) + p(X = 1) + p(X = 2) = 0,985^{20} + 20 \times 0,015 \times 0,985^{19} + \binom{20}{2} \times 0,015^2 \times 0,985^{18}$

#### 1.1.2

1.1.2.1  $\lambda = np = 200 \times 0,015 = 3$

1.1.2.2  $Z = P(3)$        $p(Z \leq 4) = p(Z = 0) + \dots + p(Z = 4) \approx 0,050 + 0,149 + 0,224 + 0,224 + 0,168$   
 $p(Z \leq 4) \approx 0,815$

#### 1.2

1.2.1 Calculons  $D_1 = N(40; 0,2)$ , on pose  $T = \frac{D_1 - 40}{0,2}$  avec  $T = N(0; 1)$ , on a alors

$$p = p(-2 \leq T \leq 2) = 2\Pi(2) - 1 \approx 2 \times 0,9772 - 1 \approx 0,95$$

La probabilité pour qu'un tuyau prélevé au hasard dans la production soit commercialisable est de 0,95.

1.2.2  $D_2 = N(40; \sigma)$  et on a  $p(39,6 \leq D_2 \leq 40,4) = 0,99$ , on pose  $U = \frac{D_2 - 40}{\sigma}$  avec  $U = N(0; 1)$ , on a alors

$$p(39,6 \leq D_2 \leq 40,4) = p\left(-\frac{0,4}{\sigma} \leq U \leq \frac{0,4}{\sigma}\right) = 2\Pi\left(\frac{0,4}{\sigma}\right) - 1 = 0,99$$

D'où  $\Pi\left(\frac{0,4}{\sigma}\right) = 0,995 = \Pi(2,58)$  et par suite  $\sigma = \frac{0,4}{2,58} \approx 0,16$

### 2 Exercice 2 :

2.1.1 Les solutions de  $(E_0) : 2y' + y = 0$  ( $y' = -\frac{1}{2}y$ ) sont  $y = Ce^{-0,5t}$   $C \in \mathbb{R}$

2.1.2  $h(t) = 4te^{-0,5t}$  donc  $h'(t) = 4e^{-0,5t} - 2te^{-0,5t}$

$2h'(t) + h(t) = 8e^{-0,5t} - 4te^{-0,5t} + 4te^{-0,5t} = 8e^{-0,5t}$ , donc  $h$  est solution de (E).

2.1.3 Les solutions de (E) sont donc :  $y = Ce^{-0,5t} + 4te^{-0,5t}$   $C \in \mathbb{R}$ .

2.1.4  $f(0) = 1 \Rightarrow C = 1$ , donc  $f(t) = (4t + 1)e^{-0,5t}$

## 2.2

2.2.1.1 Pour tout réel  $t$ ,  $e^{-0,5t} > 0$ , donc la dérivée est du signe de  $(3,5 - 2t)$  et s'annule pour  $t = \frac{3,5}{2} = \frac{7}{4}$ .

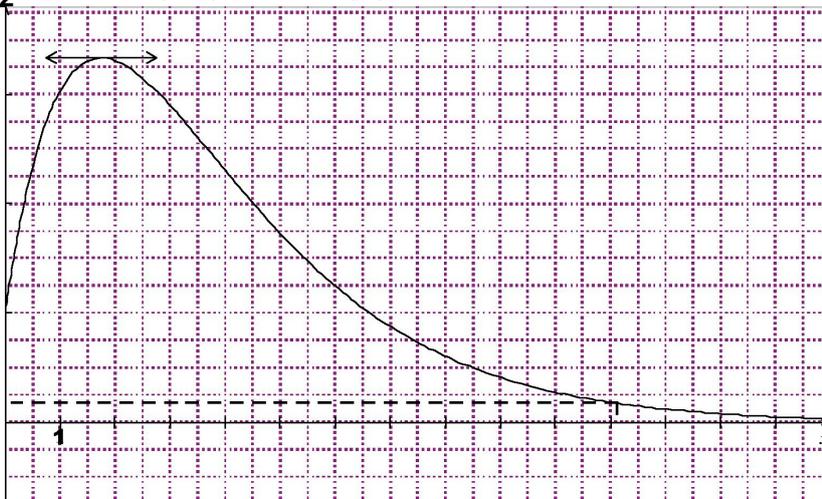
2.2.1.2

t	0	7/4	15
f(t)	+	0	-
f	1	$8\exp(-0,875)$	$61\exp(-7,5)$

2.2.1.3

$$f(7/4) \approx 3,33 \quad f(15) \approx 0,038$$

2.2.2



2.2.3

2.2.3.1,  $F'(t) = -8e^{-0,5t} - 0,5(-18 - 8t)e^{-0,5t} = e^{-0,5t}(-8 + 9 + 4t) = (4t + 1)e^{-0,5t} = f(t)$  donc F est une primitive de f.

$$2.2.3.2 \quad \int_0^{11} f(t)dt = [F(t)]_0^{11} = -106e^{-\frac{11}{2}} + e^0 \times 18 = 18 - 106e^{-\frac{11}{2}}$$

2.3

2.3.1  $f(0) = 1$ , le volume présent dans le bocal au moment de la mise en marche est de  $1 \text{ m}^3$ .

2.3.2 Par lecture graphique, l'abscisse du point de la courbe d'ordonnée 0,175 est environ 11,1.

Comme la fonction est décroissante sur  $\left[\frac{7}{8}; 15\right]$ , le volume de dioxyde de carbone sera inférieur à  $0,175 \text{ m}^3$  à partir d'environ 11,1 mn.

$$2.3.3 \quad , \quad V_m = \frac{1}{11-0} \int_0^{11} f(t)dt = \frac{18 - 106e^{-5,5}}{11}, \text{ soit } V_m \approx 1,6 \text{ m}^3$$

## ELEMENTS DE CORRIGE SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES 2009

### 1 Spectroscopie de l'atome de lithium

1.1  $\lambda_2 = \text{IR}$     $\lambda_3 = \text{UV}$     $\lambda_4 = \text{visible}$

1.2 L'atome de Li perd de l'énergie  
Spectre d'émission

1.3  $W_1 = E_1 - E_0 = 1,85 \text{ eV}$

$$W(\text{eV}) = \frac{h \times c}{e \times \lambda(\text{m})}$$

$$W_2 = \frac{h \times c}{\lambda_2} = 1,53 \text{ eV}$$

$$W_3 = \frac{h \times c}{\lambda_3} = 3,85 \text{ eV}$$

$$W_4 = \frac{h \times c}{\lambda_4} = 2,04 \text{ eV}$$

1.4  $E_2 = E_1 + W_2 = -2,01 \text{ eV}$

$$E_3 = E_0 + W_3 = -1,54 \text{ eV}$$

$$E_4 = E_1 + W_4 = -1,50 \text{ eV}$$

$$W_1 = \frac{h \times c}{\lambda_1} \Rightarrow \lambda_1 = \frac{h \times c}{W_1} = 6,72 \times 10^{-7} \text{ m} = 672 \text{ nm}$$

1.5 Non car il n'y a aucune transition correspondant à une énergie de 3,00 eV ou l'atome de lithium n'a pas de niveau d'énergie - 2,39 eV.

1.6.1  $E_i = - E_0 = + 5,39 \text{ eV}$

1.6.2  $W > E_i \rightarrow \text{ionisation.}$

$$E_c = W - E_i = 0,61 \text{ eV}$$

1.7 Spectroscopes à prisme et à réseau.

### 2 Microscope

2.1.1.

$$\overline{O_1 A_1} = \left( \frac{1}{\overline{O_1 F_1'}} + \frac{1}{\overline{O_1 A}} \right)^{-1} = \left( \frac{1}{4} + \frac{1}{-4,10} \right)^{-1} = 164 \text{ mm}$$

$$\overline{O_1 F_2} = f_1' + \Delta = 4,00 + 16,0 = 16,4 \text{ cm} = 164 \text{ mm}$$

L'image  $A_1 B_1$  est bien dans le plan focal objet de l'oculaire.

2.1.2

$$\overline{A_1 B_1} = \frac{\overline{O_1 A_1} \times \overline{AB}}{\overline{O_1 A}} = \frac{164 \times 2,0}{-4,1} = -80 \mu\text{m}$$

2.1.3 Image réelle, renversée, agrandie

2.1.4 A l'infini car  $A_1 B_1$  dans le plan focal objet de l'oculaire.

2.1.5 A l'infini donc un œil normal n'accommode pas.

2.2.1. Puissance intrinsèque

$$P_i = \frac{0,16}{0,004 \times 0,04} = 1000 \delta$$

Grossissement commercial  $G_c = 1000 \times 0,25 = 250$

2.2.2. L'autre nombre correspond à la valeur absolue du grandissement dans les conditions de vision à l'infini.

$$|\gamma_1| = A_1 B_1 / A_B = 80/2 = 40$$

2.2.3. Le nombre correspond au grossissement commercial de l'oculaire.

$$G_{2C} = G_C / |\gamma_1| = 250/40 = 6,25; \text{ ou } G_{2C} = \frac{1}{4f_2} = 6,25$$

2.3.1 Cercle oculaire

2.3.2  $D_{\text{cercle}} < D_{\text{pupille}}$  l'œil étant quasiment placé sur le cercle oculaire (environ 5 cm), il reçoit la totalité des rayons lumineux issus du microscope.

### 3 Cinétique d'une substitution nucléophile

3.1.

$$V = - \frac{d[R - Cl]}{dt}$$

3.2.1

$$V = k[R - Cl][HO^-]$$

3.2.2.A chaque instant  $[R - Cl] = [HO^-]$

$$\Rightarrow V = k[R - Cl]^2$$

$$- \frac{d[R - Cl]}{dt} = k[R - Cl]^2 \Leftrightarrow - \frac{d[R - Cl]}{[R - Cl]^2} = k dt$$

$$\int_{C_0}^{[R-Cl]} - \frac{d[R - Cl]}{[R - Cl]^2} = k \int_0^t dt = \left[ \frac{1}{[R - Cl]} \right]_{C_0}^{[R-Cl]} = k[t]_0^t$$

$$\Leftrightarrow \frac{1}{[R - Cl]} - \frac{1}{C_0} = kt \Leftrightarrow \frac{1}{[R - Cl]} = kt + \frac{1}{C_0}$$

3.3 Si méthode graphique:

Tracé de la courbe  $1/[R - Cl] = f(t)$ , on obtient une droite donc la réaction obéit à un mécanisme d'ordre 2.

Si méthode par régression linéaire:

En traçant la courbe  $1/[R - Cl] = f(t)$ , on obtient une droite d'équation :

$$1/[R - Cl] = 0,0802 \times t + 2,0 \text{ avec } R^2 = 0,999998$$

$R^2$  est proche de 1 donc la réaction obéit à un mécanisme d'ordre 2.

3.4.  $k =$  pente de la droite  $1/[R - Cl] = f(t)$   $k = 8,02 \cdot 10^{-2} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$

3.5 L'augmentation de la température et l'augmentation de la concentration initiale des réactifs augmentent la vitesse de réaction.

3.6

3.6.1 Le temps de demi-réaction est le temps au bout duquel la moitié du réactif limitant a disparu (on peut accepter aussi « des réactifs initialement présents a disparu »).

3.6.2

$$\text{Si } [R - Cl] = \frac{C_0}{2}$$

$$\frac{2}{C_0} = k t_{1/2} + \frac{1}{C_0} \Leftrightarrow \frac{1}{C_0} = k t_{1/2} \Leftrightarrow t_{1/2} = \frac{1}{k C_0}$$

$$3.6.3 \quad t_{1/2} = \frac{1}{8,02 \cdot 10^{-2} \times 0,500} = 24,9 \text{ min}$$

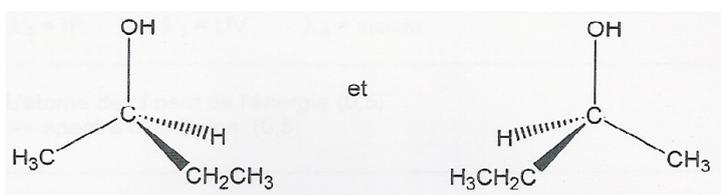
3.6.4.  $t$  diminue car si  $T$  augmente alors  $k$  augmente.

## 4 Organique

4.1.1. Groupe caractéristique hydroxyle

4.1.2. Nomenclature butan-2-ol

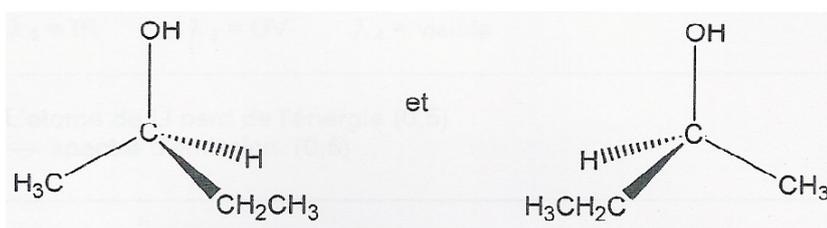
4.1.3.



Conventions respectées dans la représentation de Cram. Enantiométrie.

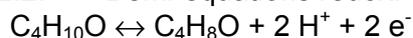
4.1.4. Ordre de priorité des substituants:  $\text{OH} > \text{C}_2\text{H}_5 > \text{CH}_3 > \text{H}$

Configuration R et S correctes:



4.2.1. La butanone (ou butan-2-one) :  $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-CH}_3$

4.2.2. Demi-équations redox:



4.2.3.  $5 \text{C}_4\text{H}_{10}\text{O} + 2 \text{MnO}_4^- + 6 \text{H}^+ = 5 \text{C}_4\text{H}_8\text{O} + 8 \text{H}_2\text{O} + 2 \text{Mn}^{2+}$

4.3.1. Réaction d'élimination

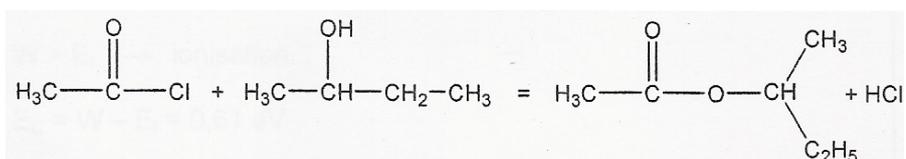
4.3.2. Isomères de position:

$\text{CH}_2=\text{CH-C}_2\text{H}_5$  (but-1-ène) et  $\text{CH}_3\text{-CH}=\text{CH-CH}_3$  (but-2-ène)

4.3.3. On forme majoritairement le but-2-ène.

Justification: règle de Zaitsev (alcène le plus substitué)

4.4.1.



4.4.2. Le composé [D] contient une fonction ester.

4.4.3. La réaction est totale avec un chlorure d'acide alors qu'elle est limitée avec l'acide carboxylique correspondant.

## ELEMENTS DE CORRIGE BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009

### LES FRUITS ET LÉGUMES FRAIS : QUELQUES ASPECTS DE LEUR CONSERVATION ET DE LEUR CONDITIONNEMENT

#### 1 Prévention du brunissement enzymatique (42 points)

1.1 Purification des polyphénoloxydases (PPO) d'une salade : la scarole

1.1.1 Protocole d'extraction-purification.

1.1.1.1 Enzyme = protéine. Éviter dénaturation. Activité préservée.

$$\frac{100}{100} \times v = \frac{30}{100} \times (V_E + v) \quad \frac{100}{100} \times v = \frac{30}{100} \times (170 + v)$$

1.1.1.2 so it

$$\text{donc } v = 72,85 \# 73 \text{ mL}$$

1.1.1.3 Relargage ou salting-out : ions ajoutés (en grande quantité) établissent liaison avec l'eau au détriment des protéines qui s'agrègent et précipitent.

1.1.1.4 Élimination des ions  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{SO}_4^{2-}$  (ou simplement petites molécules séparées des grosses).

1.1.1.5 Le nombre de g est indépendant du rayon de centrifugation. Il est donc utilisable quelle que soit la centrifugeuse utilisée.

1.1.2 Suivi de purification des PPO de scarole.

1.1.2.1 Allure  $[\text{O}_2] = f(t)$

1<sup>ère</sup> partie : droite de pente négative

2<sup>ème</sup> partie ; infléchissement

3<sup>ème</sup> partie : plateau

1.1.2.2 Définition  $V_i$  : conditions initiales, moins de 5 à 10% de S consommé, vitesse constante.

Dans la 1<sup>ère</sup> partie :  $V_i$  correspond à la pente de la tangente à la courbe à l'origine soit :  $V_i = -\frac{\Delta[\text{O}_2]_{MR}}{\Delta t}$

1.1.2.3 Le dioxygène étant un substrat de l'enzyme, pour être en  $V_{max}$  il faut  $[\text{O}_2]$  saturant car

l'expression  $V_i = \frac{V_{max} \cdot [\text{S}]}{K_M + [\text{S}]}$  se simplifie en  $V_i = V_{max}$  lorsque  $[\text{S}] \gg K_M$

$$1.1.2.4 \quad C_{cat} = \frac{V_{max} \cdot V_{MR}}{E_{fraction}} \text{ ou } \frac{\text{Activité}}{E_{fraction}} \text{ ou } \frac{-\Delta[\text{O}_2]_{MR} \times V_{MR}}{\Delta t \times E_{fraction}}$$

$$1.1.2.5 \quad m = \rho_{prot} \times V_{fraction}$$

$$AT = C_{cat} \times V_{fraction}$$

$$AS = \frac{C_{cat}}{\rho_{prot}} = \frac{AT}{m}$$

$$R = \frac{AT_{fraction}}{AT_E} \times 100 \%$$

$$\rho = \frac{AS_{fraction}}{AS_E}$$

## 1.1.2.6

Fraction	Volume total (mL)	m (mg)	AT (nkat)	AS (nkat/mg)	R %	P
E	170	217,6	3128	14,4	100	1
S <sub>30</sub>	175	141,8	2783	19,6	89	1,36
P <sub>80</sub>	7	72,1	1547	21,5	49,5	1,49
<b>PPOS</b>	10	<u>64,7</u>	<u>1450</u>	<u>22,4</u>	<u>46,4</u>	<u>1,56</u>

1.1.2.7 Le rendement n'est pas très bon (<50 %) pour un facteur de purification peu élevé (<2).

## 1.2 Effet d'une préparation commerciale de papaine sur le brunissement enzymatique

**1.2.1** Chromatographie d'exclusion : fractionnement molécules selon leur taille et leur forme, gel réticulé, taille des pores calibrés ; les « petites molécules » diffusent dans le gel donc sont retenues dans la phase stationnaire et sont éluées plus tardivement que les « grosses molécules » qui sont exclues des billes de gel.

Domaine exclusion : 100 à 1 800 g.mol<sup>-1</sup> ; or M(papaine) = 21 000 g.mol<sup>-1</sup> et M(composés inhibiteurs ou piègeurs) < 2 000 g.mol<sup>-1</sup>, donc papaine totalement exclue du gel et éluée avant la plupart des composés inhibiteurs ou piègeurs de quinones.

**1.2.2** Le pic des protéines (A 595) contenant principalement de la papaine chevauche partiellement le pic correspondant au % d'inactivation du brunissement.

La papaine ne peut être responsable de l'effet anti-brunissement (pics décalés), mais il n'est pas exclu que d'autres protéines ou enzymes contenues dans l'extrait et de MM < celui de la papaine jouent un rôle partiel.

L'effet anti-brunissement est dû pour l'essentiel à des molécules de MM faible (< 1 800 g.mol<sup>-1</sup>) dont hypothèses B et C les plus probables.

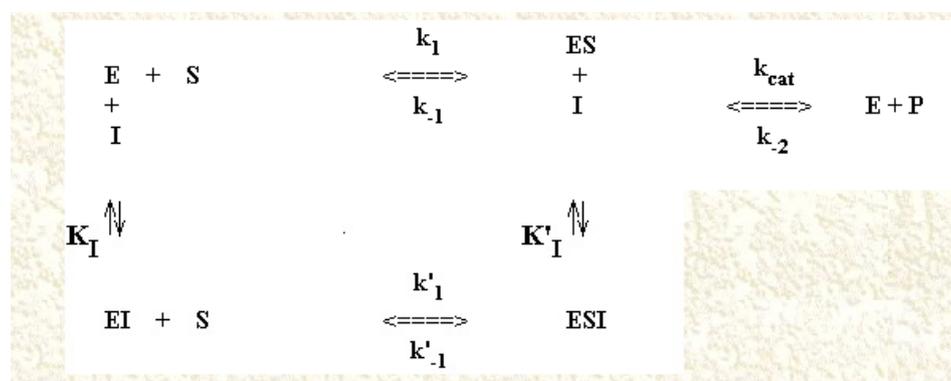
## 1.3 Caractérisation de l'effet anti-brunissement

**1.3.1** Effet inhibiteur : KM conservé, Vmax diminuée donc inhibition non compétitive.

**1.3.2** Hypothèse C due à des inhibiteurs.

**1.3.3** Méthode de mesure basée sur la consommation du substrat (O<sub>2</sub>). Une molécule piégeant les quinones (produit de la réaction) ne diminuerait pas la vitesse de consommation du substrat.

**1.3.4** Liaison en un site indépendant par rapport au site actif. Cette liaison rend l'enzyme incapable d'amener son activité catalytique.



Fixation sur E et/ou ES.

**1.3.5** Pour GF pure,  $1/V_{max} = 0,00421 \text{ mL.nkat}^{-1}$  donc  $V_{max} = 238 \text{ nkat.mL}^{-1}$ .

Pour tampon acétate  $1/V_{max} = 0,00349 \text{ mL.nkat}^{-1}$  donc  $V_{max} = 287 \text{ nkat.mL}^{-1}$ .

% inhibition =  $100 - 238 \cdot 100 / 287 = 17 \%$ .

## 2 Amélioration des conditions de stockage des fruits et légumes frais (18 points)

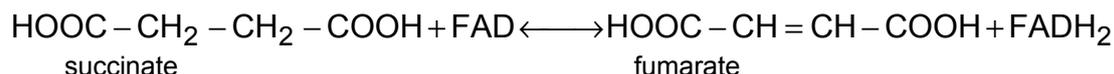
### 2.1 Humidité relative

2.1.1  $A_w$  : l'activité de l'eau d'un matériau se définit comme le rapport entre la pression de vapeur d'eau du matériau et la pression de vapeur pure à la même température - eau libre.

2.1.2 HR atmosphère >  $A_w$  fruits et légumes ; on évite ainsi la déshydratation de ces denrées

### 2.2 Teneur en dioxyde de carbone et température

2.2.1 Influence sur l'intensité respiratoire :



Réaction ayant lieu dans la membrane interne mitochondriale (face matricielle).

2.2.2 Noms : NADH,  $\text{H}^+$  et succinate ( $\text{FADH}_2$ ).

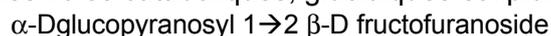
La chaîne respiratoire : **Document 6** (voir page suivante).

### 2.2.3 Cycle de Krebs.

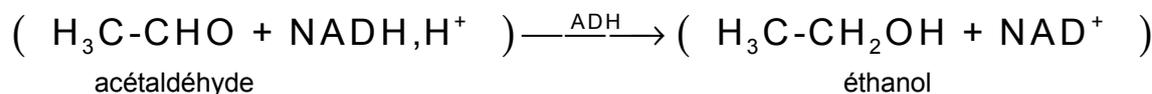
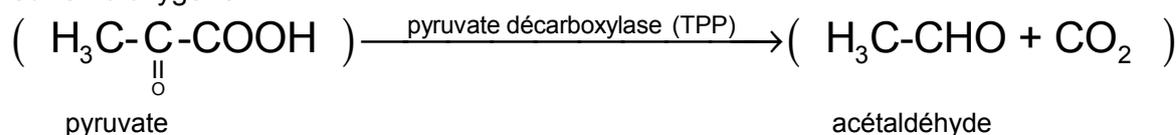
Processus final d'oxydation aérobie des substrats énergétiques.

Fournisseurs d'une grande quantité de coenzymes réduits, substrats de la chaîne respiratoire.

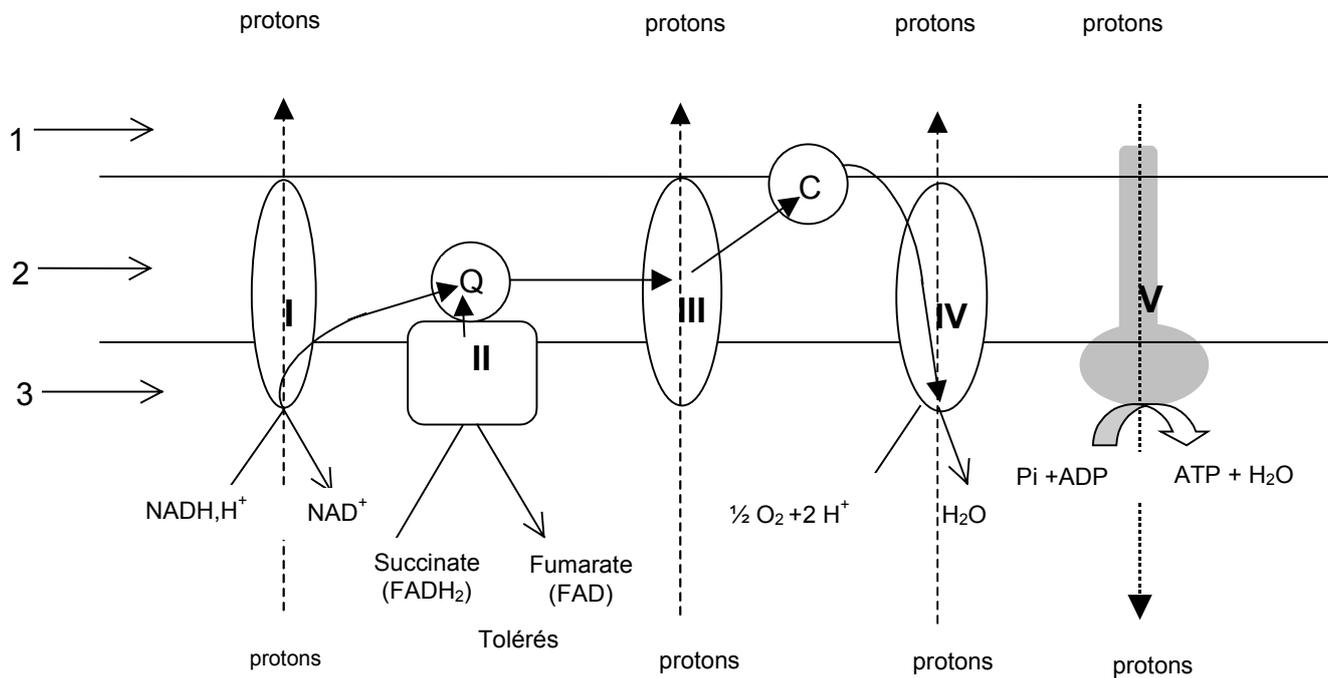
Point de convergence des voies cataboliques, glucidiques et lipidiques.



### 2.3 Teneur en dioxygène



## LA CHAÎNE RESPIRATOIRE



Légendes :

Q : coenzyme Q

C : cytochrome c

I, II, III, IV et V : complexes I, II, III, IV et V

1 : espace inter-membranaire

2 : membrane mitochondriale interne

3 : matrice mitochondriale

# ELEMENTS DE CORRIGE MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009

## ANALYSES ET CONTRÔLES DANS DES SALAISONS

### 1 Contrôle d'hygiène dans l'atelier de fabrication

#### 1.1 Contrôle de l'aérobiocontamination des locaux (document 2)

##### 1.1.1

Les biocollecteurs sont des appareils permettant de dénombrer les micro-organismes par unité de volume d'air pendant un temps connu.

L'air est aspiré, sous un volume connu et selon un débit connu, et les particules biologiques sont projetées sur un support nutritif.

Connaissant le volume d'air prélevé, on en déduit le nombre de particules donnant naissance à des colonies par mètre cube d'air (pnc.m<sup>-3</sup>).

##### 1.1.2

	Zone de réception de la chambre froide soit zone 2	Zone de tranchage soit zone 3
Conditions de prélèvements	Débit : 60 L/min Temps : 4 min	Débit : 100 L/min Temps : 8 min
Résultats : nombre de colonies sur le milieu gélosé	33	22
Résultats des prélèvements en pnc/m <sup>3</sup>	137	27

$$\text{Résultats des prélèvements en pnc/m}^3 = \frac{\text{nombre de colonies}}{\text{débit (L/min)} \times \text{temps (min)}} \times 1000$$

Dans les zones à risque élevé de contamination soient les zones 2 et 3, le nombre de micro-organismes trouvés lors des prélèvements est inférieur aux critères :

avec 137 pnc/m<sup>3</sup> c'est-à-dire moins de 350 micro-organismes/m<sup>3</sup> dans la zone 2, la chambre froide répond aux normes ;

avec 27 pnc/m<sup>3</sup> c'est-à-dire moins de 35 micro-organismes/m<sup>3</sup> dans la zone 3, la pièce où a lieu le tranchage du salami répond aux normes.

#### 1.2 Contrôle de l'eau de lavage des boyaux

**1.2.1** L'eau est peu contaminée. On peut, par la technique de filtration, analyser un grand volume d'eau et au moins les 100 mL définis dans les critères.

**1.2.2** Les deux types de coliformes se différencient par la température d'incubation qui est de 37°C pour la recherche des coliformes et de 44°C pour la recherche des coliformes thermotolérants.

Les coliformes thermotolérants sont les indicateurs d'une contamination fécale récente.

**1.2.3** Peptones : source de macroéléments C,N,P,S en particulier source d'N

Extrait de viande : source de macroéléments

Lactose : source de carbone et d'énergie et caractère de différenciation des coliformes

Bleu de bromothymol : indicateur de pH

Tergitol 7 : inhibiteur de la croissance des bactéries Gram +, limite l'envahissement par les Proteus

TTC : indicateur d'oxydoréduction

**1.2.4** Acidification du milieu par fermentation du lactose et virage au jaune du BBT

Colonies jaunes à rouge en fonction du degré de réduction du TTC (la plupart des coliformes donne des colonies jaunes car TTC – ).

- 1.2.5** Ceci signifie qu'il y a 30 UFC de coliformes pour 100 mL d'eau utilisée pour le lavage des boyaux alors que la norme parle d'absence de coliforme. L'eau est donc jugée non satisfaisante.
- 1.3** Contrôle des couteaux trancheurs
- 1.3.1**
- 1.3.1.1 Le neutralisant permet d'inhiber le désinfectant. Celui-ci ne pourra pas détruire les bactéries initialement présentes dans le produit. Celles-ci pourront alors être dénombrées.
- 1.3.1.2  $N = \text{nombre de colonies} \times \text{volume d'eau peptonée et de neutralisant (mL)}$   
 $\text{Surface essuyée par la chiffonnette (cm}^2\text{)} \times \text{dilution} \times \text{volume de l'inoculum (mL)}$
- 1.3.1.3 On observe une faible pollution globale (inférieur au critère : 0,2 microorganismes/cm<sup>2</sup> dans la zone de risque 3 (voir document 2) et l'absence de contamination fécale donc ces résultats sont satisfaisants.
- 1.3.2** Recherche des *Listeria*
- 1.3.2.1 Les salaisons sont conservées à température basse : *Listeria* est psychrotrophe donc développement possible.  
 L' $A_w$  est limité dans le salami et la concentration en sel est élevée : *Listeria* est osmophile et peut se développer dans ce type de produit.  
 Le salami est un produit de fermentation donc pH acide : *Listeria* se développe dans une gamme large de pH (comprise en 5 et 9,6) et peut donc survivre dans le salami.
- 1.3.2.2 - Etape d'enrichissement dans un bouillon de Fraser qui permet d'augmenter les proportions de *Listeria* susceptibles d'être présentes dans le salami.
- Isolement sur des milieux sélectifs qui permet de différencier le genre - par sa résistance aux inhibiteurs et par les caractères morphologiques des colonies.
  - Identification de l'espèce *Listeria monocytogenes* grâce aux caractères biochimiques (ensemencement d'une galerie api *Listeria*). Autres modes de détection (biologie moléculaire et immunoenzymatique) possibles.
- 1.3.2.3. Sérotypage : détermination des caractères antigéniques (étude épidémiologique).  
 Lysotypage : méthode d'identification de souches bactériennes basée sur leur sensibilité à une série de bactériophages.  
 Cette recherche permet de réaliser des analyses épidémiologiques c'est-à-dire identifier l'aliment responsable d'une épidémie de listériose.
- 1.3.3**
- 1.3.3.1 TIA : toxi-infection alimentaire : ensemble de dysfonctionnements de l'organisme résultant de l'ingestion d'un aliment contaminé par des micro-organismes pathogènes, éventuellement sécrétant une toxine.
- 1.3.3.2 C'est une bactérie pathogène opportuniste qui peut devenir pathogène dans certaines circonstances comme l'affaiblissement du système immunitaire. Certaines souches très invasives se comportent comme des pathogènes.
- 1.3.3.3 *Listeria* se caractérise par son pouvoir invasif.  
 Les *Listeria* présentes dans la lumière de l'intestin pénètrent dans les macrophages et les monocytes à partir desquels elles peuvent envahir l'organisme.  
 Elles sont retrouvées dans des vésicules dont elles sont libérées par l'action de la listériolysine.
- 1.3.4**
- 1.3.4.1 Adhésion au support : pili d'adhésion ou fimbriae (protéique avec à l'extrémité des protéines appelées adhésines). Production de polymères extracellulaires :
- |                               |   |   |
|-------------------------------|---|---|
| capsule<br>glycoalyx<br>slime | } | de composition essentiellement glucidique |
|-------------------------------|---|---|
- 1.3.4.2 Détergent : agents « tensio-actifs » qui décollent les protéines des surfaces et qui permettent de déstabiliser les bicouches lipidiques.  
 Désinfectant : agent chimique qui permet d'éliminer ou de tuer les micro-organismes portés par des milieux inertes, action momentanée.  
 Désorganisation membranaire ou oxydation des protéines ou interaction avec les acides nucléiques.

## 2 Contrôle du procédé de fabrication

2.1 Contrôle de la viande de porc à la réception et contrôle de l'entreposage de la viande congelée :

2.1.1 Flore endogène : les microorganismes contaminants proviennent, dans ce cas, de l'organisme à partir duquel est produit l'aliment.

Flore exogène : les microorganismes contaminants proviennent de l'environnement : sol, matériel, air, eau, des manipulateurs.

2.1.2 Le résultat trouvé :  $2 \cdot 10^3$  UFC flore aérobie par gramme de viande de porc est inférieur à m donc la viande de porc est jugée satisfaisante en ce qui concerne la flore aérobie après l'abattage.

2.1.3 Eviter le développement de la flore de contamination.

2.2 Contrôle des additifs

2.2.1 Le sel provoque la perte d'eau par phénomène osmotique.

Il diminue l'activité de l'eau  $A_w$ , limite la croissance de certaines bactéries pathogènes et de putréfaction.

2.2.2 Les nitrites ont un effet bactériostatique sur les cellules issues de la germination des spores. Ils sont ajoutés dans les produits de charcuterie sous forme de sels de nitrates.

2.3 Contrôle de la fermentation

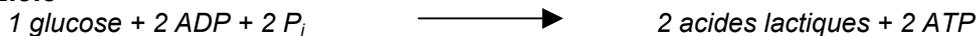
2.3.1 Le ferment est constitué de la flore lactique et de Microcoques.

Au fur et à mesure que la flore lactique se développe, le pH du produit diminue et joue un rôle inhibiteur de la flore de contamination (le pH est en dessous de 3,5 c'est-à-dire après 4 jours à l'étuvage) : le taux de coliformes diminue, celui des streptocoques reste stable.

Les moisissures acidophiles commencent à se développer après 4 jours.

2.3.2 Les *Lactobacillus* sont des bacilles à Gram +, asporulés, catalase -, fermentant le glucose en produisant de l'acide lactique.

2.3.3



2.3.4

2.3.4.1 MRS est un milieu qui va favoriser le développement des *Lactobacillus*.

Ce milieu doit être incubé à 30°C et en anaérobiose partielle (avec CO<sub>2</sub>).

2.3.4.2 La comparaison des profils électrophorétiques des populations bactériennes récupérées en cours de fermentation et des souches de référence permet de conclure sur l'implantation des souches du ferment.

La souche 1 de *Lactobacillus plantarum* est absente, laissant la place à la flore initialement présente dans la mêlée.

La souche 2 de *Staphylococcus xylosus* s'est implantée.

2.4 Contrôle du produit fini

2.4.1  $N = \frac{(n_1 + n_2) \times V \text{ en mL}}{V_{\text{tot}} \text{ en mL} \times m}$

$m$  : masse pesée de salami

$V$  : volume total de la suspension mère

$n_1$  et  $n_2$  : nombre de colonies comptées dans deux secteurs diamétralement opposés pour en avoir au moins 20 par secteur, en partant des zones les plus externes

$V_{\text{tot}}$  : volume correspondant à la totalité des deux secteurs dans lesquels les colonies ont été dénombrées.

$N$  : quantité de

$$= \frac{(21 + 25) \times \frac{250}{25}}{0,0123} = 3,7 \cdot 10^4 \text{ coliformes thermotolérants / g}$$

2.4.2 Un des 5 échantillons est supérieur à M ( $1 \cdot 10^3$  UFC/g) donc le lot est non satisfaisant.

### 3 Validation de la démarche HACCP

#### 3.1

Coliformes dans l'eau de lavage des boyaux.

*Listeria* dans l'appareil de tranchage.

*Lactobacillus plantarum* ne s'implante pas.

#### 3.2

Coliformes dans l'eau de lavage des boyaux : pose d'un filtre ou traitement de l'eau.

*Listeria* dans l'appareil de tranchage : désinfection des couteaux trancheurs.

*Lactobacillus plantarum* ne s'implante pas : achat d'un nouveau ferment.

# ELEMENTS DE CORRIGE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSES 2009

## CONTRÔLE EN INDUSTRIES PHARMACEUTIQUE ET COSMÉTIQUE

### 1 Développement d'un principe actif et techniques de Biologie Moléculaire.

- 1.1** Vecteur : ADN destiné à être transféré dans une cellule hôte (avec un insert).  
Insert : séquence ADN d'intérêt, à intégrer dans un vecteur.  
Clonage : multiplication d'un ADN d'intérêt et/ou transfert dans une cellule permettant cette multiplication.
- 1.2**
- 1.2.1** Enzymes de restriction ; endonucléases bactériennes très spécifiques de séquences ADNdb cibles : sites de restriction.
- 1.2.2** MCS : séquence comportant plusieurs sites de restriction ; séquence où des ouvertures du vecteur et des insertions seront aisées.
- 1.2.3** Plasmide : 2686pb (lecture du document 1), soit avec l'insert : 3143pb (calcul simple, même sans la calculatrice).
- 1.2.4**
- 1.2.4.1** Étape 1 : linéarisation ou digestion multiple du plasmide ; enzyme(s) de restriction, bain marie, tampons adaptés.  
Étape 2 : électrophorèse sur gel d'agarose des produits de digestion et d'un marqueur de taille ; cuve d'électrophorèse, révélateur (BET ou autre).  
+ générateur.  
+ tampons (migration, dépôts).
- 1.2.4.2** Lecture finale : détermination de la taille des produits de digestion ; utilisation possible de la courbe d'étalonnage  $f(\log(D)) = (MM)$  ; comparaison avec taille(s) prédite(s) avec l'insert.
- 1.2.4.3** Anode et cathode : bande sans insert placée plus bas qu'avec insert.
- 1.3**
- 1.3.1** Répresseur, promoteur, opérateur, opéron.
- 1.3.2** Lac fixé sur le répresseur : trans-conformation. ARNpol pouvant transcrire.
- 1.4**
- 1.4.1** Blanches et bleues sont ampicilline résistantes ; blanches : bêta-galactosidase déficientes ; car X-Gal n'est pas hydrolysé ; bleues : bêta-galactosidase fonctionnelles car X-Gal est hydrolysé.
- 1.4.2** Le plasmide porte bla : si la transformation est réussie, les bactéries deviennent résistantes à l'antibiotique.  
Si, de plus, l'insert est dans le vecteur, le gène plasmidique lacZ est muté par insertion dans le MCS : il n'y a pas de bêta-galactosidase d'origine plasmidique : les colonies restent blanches : ce sont les colonies d'intérêt.  
Si l'insert n'est pas dans le vecteur, le lacZ plasmidique code la bêta-galactosidase : les colonies hydrolysent le X-Gal, une couleur (bleue) apparaît.
- 1.4.3** La souche non transformée doit être : ampicilline, sensible et bêta-galactosidase déficiente, celle que nous avons ici n'est pas valide.

## 2 Études toxicologiques et techniques de culture cellulaire.

### 2.1

**2.1.1** C'est la quantité de xénobiotique par unité de masse corporelle qui provoque la mort de 50 % des animaux auxquels elle a été administrée.

Ce paramètre est adapté aux xénobiotiques injectables ou ingérables.

La CL50 est la concentration de xénobiotique (quantité par unité de volume) qui provoque, par inhalation ou contact, la mort de 50 % des animaux. Ce paramètre est, lui, plutôt adapté aux xénobiotiques gazeux et à ceux qui sont utilisés par contact cutané.

**2.1.2** Plusieurs lots d'animaux. A chaque lot on donne une dose fixée et connue.

Pour chaque lot, on compte le % d'individus finalement morts.

On trace la courbe : % morts = f(dose).

On lit la dose correspondant à 50 % de morts.

**2.1.3** Les hépatocytes.

Réactions d'activation (phase 1) ; oxydations, hydrolyses....

Réactions de conjugaison (phase 2) ; liaison avec un groupement hydrophile d'origine endogène. (Ex : acide glucuronique...) ; produit final hydrophile, rejet dans le plasma, élimination rénale, rejet dans la bile (*le cycle entéro-hépatique est plutôt hors sujet*).

**2.1.4** Les différences concernent les premiers phénomènes :

- Par voie intra-veineuse = accès quasiment direct au milieu intérieur (plasma surtout) ; fixation réversible aux protéines plasmatiques ; distribution dans l'organisme en parallèle avec l'élimination hépatique et rénale.
- Par voie orale = digestion (hydrolyses possibles) et traversée de l'épithélium intestinal avant d'atteindre le milieu intérieur et, très directement par la veine porte, arrivée au foie plutôt AVANT la distribution dans le reste de l'organisme.

### 2.2

#### 2.2.1

- milieu (D) MEM : milieu de culture minimal ; apports nutriments minéraux et organiques simples, tampon.
- sérum de veau fœtal : SVF, complément apportant des nutriments organiques supplémentaires, des médiateurs extracellulaires, des facteurs d'adhérence...
- L-Glutamine : L-Gln, synthèse peptidique.
- CO<sub>2</sub> : participe au tampon HCO<sub>3</sub>/CO<sub>2</sub>, maintien du pH de la culture.

**2.2.2** Centrifugation, élimination du surnageant et remise en suspension dans 20 mL de milieu.

**2.2.3** Pour la première étape : 6 puits sont à ensemercer (5%, 15%, 25%, 35% et 2 fois 50%) avec 1 mL de suspension cellulaire.

Soit 6 mL à 2.10<sup>5</sup> cellules/mL pour un produit à tester, soit 24 mL pour 4 produits ou 25 mL (1 contrôle de culture).

**2.2.4** Non, car il manque 4 mL.

### 3 Contrôle par une technique immunologique d'un médicament vendu via un circuit parallèle

#### 3.1 Schéma avec :

- paroi et Ac de Chèvre (ELISA)
- compétition entre MT (essai ou calibrateurs) et MT-biotinylée pour se fixer sur les Ac de Lapin ; fixation des Ac de Lapin par les Ac de Chèvre.
- marquage de la MT biotinylée par la HRP-streptavidine (marque enzymatique).
- Révélation TMB (on peut épargner aux candidats le rôle du peroxyde d'hydrogène : non signalé dans le document fourni).

*Ce sont les concepts en gras qui importent le plus pour cette question.*

ELISA compétitif indirect.

- 3.2** D'après le schéma précédent : plus il y a de MT, moins la MT-biotinylée est fixée, moins on a de signal coloré. La courbe d'étalonnage ( $\text{signal} = f(\text{MT})$ ) est donc décroissante.
- 3.3** Injections répétées en IM, avec adjuvants.
- 3.4** Épitope : sous-région d'un antigène, spécifiquement reconnue par un anticorps donné.

# ELEMENTS DE CORRIGE SCIENCES ET TECHNIQUES BIOINDUSTRIELLES 2009

## LA BIÈRE

### 1 Étude de trois étapes du processus de fabrication

#### 1.1 La fermentation (Étapes 15 et 16 du document 1)

1.1.1 ① Fermentation « proprement dite » (étape 15 ici) : fermentations alcooliques avec production d'éthanol et de CO<sub>2</sub> à partir de substrats glucidiques.

② Fermentation dite « de garde » (étape 16 ici) : refroidissement. Poursuite de la fermentation alcoolique, dissolution du CO<sub>2</sub>, développement des saveurs.

1.1.2 ① Fermentation en « discontinu » ou « batch » à volume constant sans addition de milieu neuf ni soutirage.

② Fermentation en « batch alimenté » ou « fed batch », volume minimumensemencé puis addition progressive de milieu neuf jusqu'au volume final, sans soutirage.

③ Fermentation en « continu », volume constant avec addition de milieu neuf et soutirage en parallèle (document 2).

#### 1.2 La clarification (Étape 17 du document 1)

1.2.1 Formation d'un gâteau → colmatage → démontage des plaques et nettoyage.

1.2.2 V/t représente le débit de filtrat. Dans un premier temps il augmente puis passe par un maximum pour ensuite diminuer proportionnellement au temps.

Au départ la phase liquide passe facilement sans obstacle car les particules ne se sont pas encore déposées sur le filtre, puis au fur et à mesure que le gâteau se forme, il s'oppose de plus en plus au passage de la phase liquide et le ralentit.

1.2.3 L'adjuvant se déposant avant les particules sur le filtre ralentit le phénomène de « colmatage » et donc la diminution du débit de filtration occasionné par le dépôt des particules (levures) et la formation du gâteau.

#### 1.3 La pasteurisation (Étape 23 du document 1)

1.3.1 Pasteurisation « basse » : 63°C pendant 28 minutes. Totalité des germes pathogènes non sporulés détruits et la plupart des germes banaux.

1.3.2 Pasteurisation haute : « Flash pasteurisation ».

1.3.3 Nombre d'unités de traitement cumulées au cours de la pasteurisation.

1.3.4  $F = 75$  avec  $t = 28$  minutes (durée du traitement au niveau du palier),  $T = 63^\circ\text{C}$  (température du traitement au niveau du palier),  $T^* = 60^\circ\text{C}$ .

1.3.5 Augmentation de la durée de traitement au niveau du palier et/ou augmentation de la température de traitement.

### 2 Étude de certaines matières premières

#### 2.1 L'eau

2.1.1 Osmose : pression atmosphérique des deux côtés, la différence de concentration en soluté entre les deux compartiments de chaque côté de la membrane semi-perméable (ne laissant pas passer les molécules de soluté, entraîne un mouvement d'eau, du compartiment le moins concentré vers le plus concentré (A vers B) pour rééquilibrer les concentrations. Le niveau d'eau augmente à droite d'une hauteur « h » correspondant à la pression osmotique engendrée par la différence de concentration initiale. En osmose inverse, on impose à gauche une pression supérieure à la somme pression atmosphérique + pression osmotique ce qui engendre un déplacement de l'eau de droite à gauche (B vers A) en sens contraire de l'osmose (osmose inverse). Le compartiment de droite se concentre et on récupère son eau perdue dans le compartiment de gauche.

## 2.1.2

2.1.2.1 ① La « MES » ou « MES totale », matière sèche en suspension

② la « DBO<sub>5</sub> », demande biochimique en oxygène pendant 5 jours ③ la « DCO », demande chimique en oxygène (autres paramètres « non exigés » : « MatO », matières oxydables ; « COT » carbone organique total ; « l'azote » (global, ammoniacal, nitrates et nitrites) ; « P<sub>T</sub> », phosphore total).

2.1.2.2 « Boues activées » : eau à traiter introduite dans un bassin contenant une biomasse bactérienne, brassage et oxygénation, dégradation aérobie, décantation de l'eau épurée, recyclage de la biomasse.

« Lagunage » : eaux usées placées dans des bassins successifs alternant dégradation aérobie et décantation, jusqu'à arrivée en phase de déclin.

## 2.2 Le malt

① La « trempe », hydratation de l'orge. ② La « germination » : action des amylases et obtention des sucres fermentescibles. ③ Le « touraillage » : séchage, arrêt des activités enzymatiques.

## 2.3 Additifs et auxiliaires de fabrication :

Additifs	Auxiliaires de fabrication
Substances ajoutées, faisant partie de la recette et que l'on retrouve dans le produit fini (colorants, conservateurs, stabilisants...).	Substances utilisées par nécessité pour la réalisation d'opérations unitaires que l'on ne doit pas retrouver dans le produit fini ou dans des proportions infimes.
Houblon, caramel, acide ascorbique.	Levures, oxygène.

## 3 Bière et qualité

### 3.1 Étude HACCP

3.1.1 « HACCP » : Hazard Analysis Critical Control Point, Analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise.

### 3.1.2

#### 3.1.2.1

Étapes	Q1	Q2	Q3	Q4	CCP ?
<b>Étape 20</b>	Oui : mesures préventives en place.	Non : un lavage-rinçage n'est pas une méthode d'élimination efficace des microorganismes.	Oui : méthode incorrecte, mal exécutée, eau de rinçage impropre... ou Non pas	Oui : l'étape de pasteurisation .	Non  Non
<b>Étape 21</b>	Oui : mesures préventives en place.	Non : ce n'est pas une opération d'élimination des microorganismes.	Oui : en cas de soutireuse mal nettoyée, méthode de nettoyage inadaptée, pas assez fréquente.	Oui : l'étape de pasteurisation .	Non
<b>Étape 23</b>	Oui : mesures préventives en place.	Oui : bien sûr !			Oui

3.1.2.2 CCP étape 23. Limites critiques : système de surveillance. Actions correctives : suivi.

## 3.2 Normes ISO et certification

### 3.2.1

3.2.1.1 Reconnaissance écrite officielle, à la suite d'un audit, que l'entreprise est conforme aux exigences de la norme ISO 9001 version 2000 en matière de management de la qualité.

3.2.1.2 Audit « externe » ou « de tierce partie », car réalisé par un organisme extérieur à l'entreprise.

3.2.1.3 « AFAQ » : Association Française pour l'Assurance Qualité → organisme accrédité pour les audits de certification.

3.2.2 Amélioration continue : objectif permanent de l'entreprise, amélioration constante des performances, de l'efficacité du management, remise en question permanente.

Approche factuelle pour la prise de décision : toute décision efficace doit être fondée sur l'analyse de données et d'informations avérées (les faits, tous les faits, rien que les faits).

### 3.3 Étiquetage

- LA STEENFORT (en gros caractères) : nom commercial, nom permettant d'identifier le produit, la marque (Art. R 112-9 1°)

- Bière: dénomination de vente.

- Alc. 5,2 % vol. : mention obligatoire.

- Vol. 25 cL e : quantité nette (volume) présente dans la bouteille (Art. R 112-9 4°) certifié.

- À consommer de préférence avant fin AVR 08 : date limite d'utilisation optimale (DLUO), denrée non susceptible de présenter un danger immédiat pour la santé humaine après une longue période, indication d'une limite de qualité organoleptique pour le consommateur (Art. R 112-22).

- Contient du malt d'orge et de blé : ingrédients pouvant présenter un caractère allergisant (allergènes) dont il faut informer les consommateurs éventuellement sensibles (directive 2003/89/CE « 5 », « 11 », article premier 1)b)).

- Brasseries STEENFORT 59000 BIEROVILLE (France) : nom, raison sociale et adresse du fabricant, traçabilité (Art. R 112-9 6°).

- Servir très frais : mode d'emploi du produit, ici utilité d'information organoleptique (Art. R 112-9 9°).

- 701982AB : n° de lot de fabrication. Traçabilité (Art. R 112-9 7°).