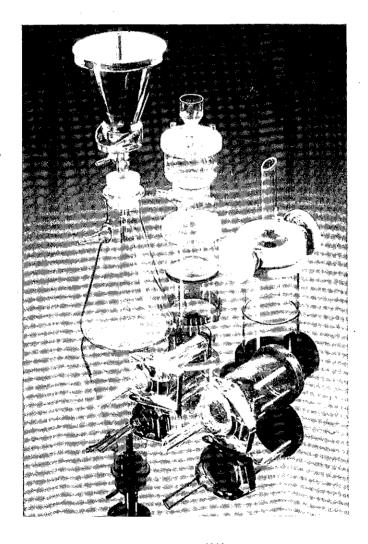
#### ANNALES BTn F7

#### Baccalauréat de technicien

## SCIENCES BIOLOGIQUES option BIOCHIMIE

1985 - 1988



## **ANNALES**

# Baccalauréat de technicien SCIENCES BIOLOGIQUES

Option biochimie

F 7 sessions 1985 - 1988



## upbm-édilion

PUBLICATIONS DE L'UPBM

DIFFUSION: UPBM-EDILION

Lycée d'Enseignement Technologique

4<sup>ème</sup> Avenue - La Duchère 69338 LYON CEDEX 9



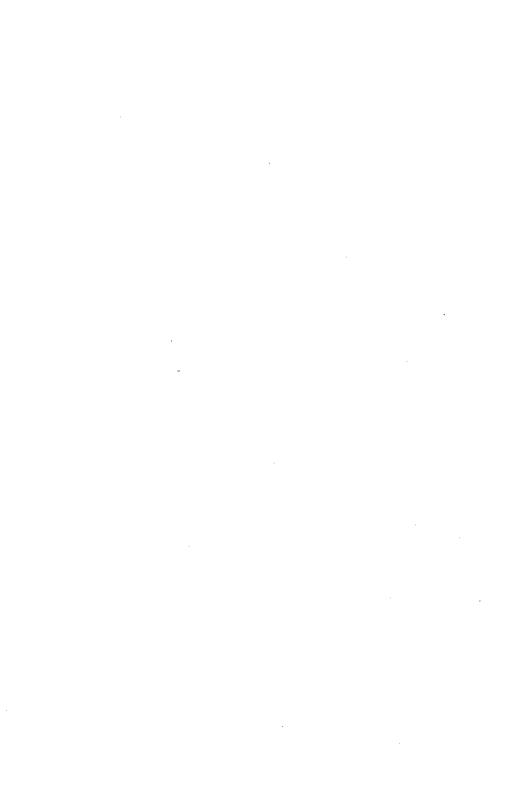
Les annales du Baccalauréat de Technicien BTn F7 option biochimie sessions 1985 à 1988 ont été réalisées par:

Odette TERRY Lycée La Martinière LYON Pierre CORNET Lycée R.J. Valin LA ROCHELLE

Composition et impression : Lycée des Arts Graphiques GUTENBERG ILLKIRCH-GRAFFENSTADEN

Union des Professeurs de Physiologie Biochimie et Microbiologie Lycée d'Enseignement Technologique LA MARTINIERE 4ème Avenue - LA DUCHERE 69338 LYON CEDEX 9

ASSOCIATION REGIE PAR LA LOI DU 1<sup>st</sup> JUILLET 1901 DECLAREE A LA PREFECTURE DU RHONE LE 03.11.72 ENREGISTREE SOUS LE NUMERO 0 10 601



## BTn F7

## Sciences biologiques - option: biochimie

## Sommaire

Règlement d'e	xamen		4
Session 1985	Sommaire détaillé		85.01
Session 1986	Sommaire détaillé		86.01
Session 1987	Sommaire détaillé	***************************************	87.01
Session 1988	Sommaire détaillé	***************************************	88.01



#### REGLEMENT D'EXAMEN (Annexe I de l'arrêté du 16 juin 1983)

NATURE DES EPREUVES	Durée	Coefficient	Coefficient Epreuve de contrôle
PREMIER GROUPE  I - Epreuves d'enseignement général  A <sub>1</sub> Epreuves anticipées de français	4 h 20 min. 3 h 4 h 20 min. c.c.	2 1 1 4 (2+2) 2 1	
B <sub>1</sub> Biochimie	4 h 3 h 3 h	4 3 3	
DEUXIEME GROUPE  I - Epreuves d'enseignement général			
A <sub>6</sub> Mathématiques et physique Epreuves orales de contrôle A <sub>7</sub> Français A <sub>8</sub> Physiologie et chimie	3 h 20 min. 20 min.	3 (1,5+1,5)	3 4
H - Epreuves à caractère professionnel  B <sub>4</sub> Biochimie	5 h 5 h 4 h 20 min.	6 5 4	4
III - Epreuves facultatives			
A <sub>9</sub> Education artistique (art plastiques et art appliqués) ou Seconde langue vivante ou Economie sociale et familiale	3 h 20 min. 30 min. max		
ou Education musicale	30 min. max		

c.c. : contrôle continu

## SESSION 1985

## **Sommaire**

A2 Philosophie: 85 - 1

A3 Physiologie et Chimie: 85 - 2

B1 Biochimie: 85 - 14

B2 Techniques du Laboratoire de

Biochimie: 85 - 22

B3 Microbiologie et Techniques du Laboratoire de

Microbiologie: 85 - 30

A6 Mathématique et Physique: 85 - 35

B4 Biochimie: 85 - 40

B5 Manipulations de Chimie et de Montage: 85 - 48

B6 Bactériologie: 85 - 56

## **A2 PHILOSOPHIE**

1er sujet:

Lorsque je dis: « J'ai raison », mon interlocuteur n'a-t-il plus qu'à se taire?

2º suiet :

Les exigences du droit entrent-elles en conflit avec la nature humaine?

3º sujet :

« Les actes de la pensée paraissent tout d'abord, étant historiques, être l'affaire du passé et se trouver au-delà de notre réalité. Mais, en fait, ce que nous sommes, nous le sommes

aussi historiquement.

Le trésor de raison consciente d'elle-même qui nous appartient, qui appartient à l'époque contemporaine, ne s'est pas produit de manière immédiate, n'est pas sorti du sol du temps présent, mais pour lui c'est essentiellement un héritage, plus précisément le résultat du travail, et, à vrai dire du travail de toutes les générations antérieures du genre humain. (...) Ce que nous sommes en fait de science et plus particulièrement de philosophie, nous le devons à la tradition qui enlace tout ce qui est passager et qui est par suite passé, pareille à une chaîne sacrée (...) qui nous a conservé et transmis tout ce qu'à créé le temps passé.

Or cette tradition n'est pas seulement une ménagère qui se contente de garder fidèlement ce qu'elle a reçu et le transmet sans changement aux successeurs; elle n'est pas une immobile statue de pierre mais elle est vivante et grossit comme un fleuve puissant qui

s'amplifie à mesure qu'il s'éloigne de sa source. » HEGEL

#### Questions:

1) Quelle est l'idée essentielle de ce texte et quelles sont les étapes de son argumentation?

2) Expliquez les expressions suivantes: « les actes de la pensée »... « ce que nous sommes, nous le sommes aussi historiquement ».

3) Dans quelle mesure doit-on respecter la tradition?

## A3 PHYSIOLOGIE ET CHIMIE

#### ACADEMIES DU GROUPE 1

#### A. Physiologie

#### PREMIER SUJET (Le cœur et la circulation)

#### I - Etude morphologique du cœur.

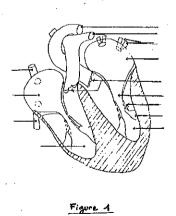
- I-1 Complétez la figure 1 en indiquant le nom de chacune des structures désignées par une flèche.
- I-2 Précisez à l'aide de flèches le trajet du sang dans les différentes cavités cardiovasculaires.

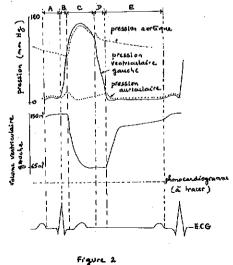
#### II - La révolution cardiaque.

- II 1 Donnez une définition de la révolution cardiaque.
- II-2 A l'aide des différents enregistrements (fig. 2), commentez les évènements A.
   B. C. D. E. de la révolution cardiaque.

Vous indiquerez sur la figure 2, l'ouverture et la fermeture des valvules, le nom des accidents de l'E.C.G.

Vous complèterez l'ensemble des enregistrements en traçant le phonocardiogramme.





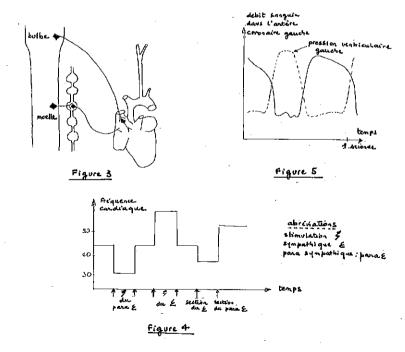
#### III - Régulation du rythme cardiaque.

Le rythme cardiaque est modulé par le système nerveux végétatif. Il s'agit d'un mécanisme de nature réflexe.

- III 1 Rappelez à l'aide d'un schéma les différents éléments constituant un arc réflexe simple et précisez le trajet de l'influx nerveux.
- III 2 La figure 3 représente les voies efférentes d'un réflexe régulateur cardiaque: voie sympatique et voie parasympathique. Précisez les différences d'organisation entre ces voies. Numérotez les différentes synapses et indiquez le médiateur mis en jeu par chacune.
- III 3 A l'aide de la figure 4, indiquez les effets des nerfs sympathiques et parasympathiques sur la fréquence cardiaque.

#### IV - Les artères

- IV 1 Rappelez, à l'aide d'un schéma, la structure d'une paroi artérielle.
- IV 2 La circulation coronaire présente un certain nombre de particularités: gradient de pression élevé, débit élevé, etc...
   Quelle particularité met-on en évidence dans la figure 5?
- IV 3 Quand la fréquence cardiaque augmente, la durée de repos du cœur diminue. Quelle sera l'influence de la tachycardie sur le débit coronaire du ventricule gauche?
- IV-4 Quelles sont les conséquences d'une obstruction d'une artère coronaire?



#### DEUXIEME SUJET (Physiologie nerveuse)

Le cerveau est indispensable à la naissance d'une sensation douloureuse. Les expériences et observations suivantes permettent de préciser quelques aspects des activités nerveuses accompagnant ce type de sensation.

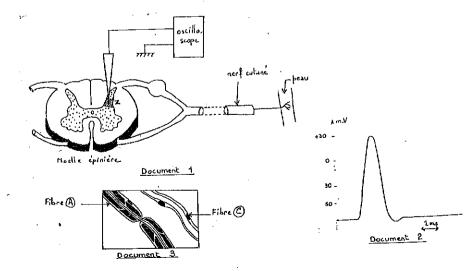
- I-Les diverses expériences présentées ont pour but la pise en évidence du trajet de l'influx nerveux et des neurones impliqués dans les phénomènes douloureux. Le document 1 montre la liaison nerveuse entre la peau et moelle épinière. Un dispositif d'enregistrement est constitué d'une microélectrode de verre implantée dans la zone hachurée (z) et d'une électrode de référence, reliées à un oscilloscope cathodique.
  - I-1 Une forte stimulation électrique au niveau du territoire cutané correspondant provoque une sensation douloureuse brève, apparaissant rapidement, appelée « douleur rapide », puis une sensation douloureuse plus tardive mais plus longue appelée « douleur lente ».

L'un des éléments enregistrés est présenté par le document 2.

Analysez cet enregistrement.

I-2 Le nerf cutané intéressé dans cette expérience est dilacéré. Le document 3 nous montre le résultat d'une observation au microscope. Par ailleurs, on a calculé la vitesse de conduction de l'influx nerveux et mesuré le diamètre de ces fibres. Voici les résultats obtenus:

	Fibres A	Fibres C
Diamètre des fibres	1 μm à 4 μm	0,5 μm à 1 μm
Vitesse de conduction	6 m.s <sup>-1</sup> à 24 m.s <sup>-1</sup>	1 m.s <sup>-1</sup> à 2 m.s <sup>-1</sup>



- I-2.1 Comparer la morphologie de ces deux types de fibres. Comment peut s'expliquer la différence de vitesse de conduction observée. (Précisez les mécanismes de conduction mis en jeu).
- I-2.2 A partir de ces considérations proposer une interprétation des deux types de sensations douloureuses ressenties précédemment?
- I-2 Pour déterminer les relations entre moelle épinière et nerf rachidien, on réalise diverses sections (voir le document 4) et on observe l'amplitude et la direction de la dégénérescence qui en résulte (parties hachurées), ainsi que les concéquences éventuelles sur la sensation de douleur.
  - I- 3.1 Quel renseignement apporte la section 1 sur la place du corps cellulaire correspondant aux fibres qui transitent dans la racine postérieure du nerf? Même question pour la section 2. Quelle conclusion peut-on tirer de la comparaison des résultats des sections 1 et 2?
  - I-3.2 Quel renseignement apporte la section 3 en ce qui concerne la place du corps cellulaire correspondant aux fibres transitant dans la racine antérieure du nerf?
  - I-3.3 Comparer les résultats des sections 1 et 3.

Peut-on dire que les fibres passant dans la racine antérieure et dans la racine postérieure appartiennent au même neurone?

Justifier la réponse.

Représenter schématiquement les neurones intervenant, à ce niveau de la moelle, dans la sensation de la douleur.

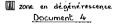
Préciser le sens du trajet suivi par les influx produisant cette sensation.

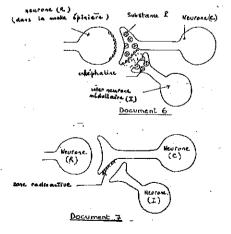
Pour soulager certaines douleurs chroniques, les chirurgiens sont parfois amenés à réaliser une cordotomie selon les indications du document 5 (section de la zone hachurée): la douleur disparaît dans la moitié opposée du corps, au-dessous du niveau de la section.

Analyser et expliquer ce résultat.



Paperiances	consequences immediates
	Perte de la sensibilità declouressa dus turritoire incrud
2	Berte de la sensibilité douloureuse du berretoire inervé
	Berte de la motracti du terretoire inervé. Conservation de An Icossibille doviour eu se





II- C'est grâce à des techniques d'autoradiographie et d'immunofluorescence qu'on a pu localiser au niveau de la zone Z du document 1 deux substances, la substance P et l'enképhaline, selon les indications du document 6.

La substance chimique appelée substance P est contenue dans des vésicules des

terminaisons des neurones (C).

Une forte stimulation du neurone (C) provoque une sensation de douleur associée à une diminution du nombre de ces vésicules et à l'apparition d'influx en direction de l'encéphale.

Une fois libérée, la substance P est rapidement inactivée.

Dans la même zone, on trouve d'autres neurones, les neurones (I) qui produisent une autre substance, l'enképhaline.

Lorsque, préalablement à la stimulation du neurone (C), on a réalisé, dans cette zone, une microinjection d'enképhaline, le nombre de vésicules de substance P ne diminue pas.

- II 1 A partir de ces résultats expérimentaux et de l'analyse du document 6, comparer le lieu d'action et le mode d'action de la substance P et de l'enképhaline.
- II 2 La morphine est un médicament utilisé pour ses propriétés antalgiques (antidouleur).

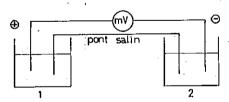
Si on réalise, dans la même région, une microinjection de morphine radioactive, on peut mettre en évidence par une techique classique d'autoradiographie, une zone radioacctive, selon les indications du document 7. Que peut-on en conclure?

Une des deux substances précédemment étudiées a été appelée « morphine naturelle ». Laquelle ? Justifier la réponse.

#### B. Chimie

#### EXERCICE 1

La température est constante et égale à 25° C dans l'exercice. On dissout dans 100 cm³ d'eau pure 1,7 g de nitrate d'argent (on néglige la variation de volume due à la dissolution). On place cette solution dans le compartiment (1) d'une pile, dont voici le schéma.



Dans le compartiment (2), on met 100 cm³ d'une solution saturée de chlorure d'argent. Les 2 électrodes sont des fils d'argent.

- 1°) La fem de la pile, mesurée avec un millivoltmètre à grande résistance interne, est 240 mV. En déduire la concentration en ions Ag + du compartiment (2). Justifier les polarités de la pile.
- 2°) Quel est le produit de solubilité du chlorure d'argent à cette température?

3°) Quelle sera la solubilité du chlorure d'argent si on introduit dans le compartiment (2) 5,85 g de chlorure de sodium dans les 100 cm<sup>3</sup> de solution.

Quelle sera la fem de la pile dans ce cas?

Na = 23 g.mol -1 CI = 35,5 g.mol -1 N = 14 g.mol -1 Ag = 108 g.mol -1 O = 16 g.mol -1 
$$\sim 14 g.mol -1 = 14 g.mol -1 = 16 g.mol -$$

#### EXERCICE 2

On étudie la cinétique de la décomposition de l'eau oxygénée

$$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + \frac{1}{2} O_2$$

la réaction est suivie en dosant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> au cours du temps.

 $[H_2O_2]_O = 1 \text{ mol.} 1^{-1}$ . Si  $x = [H_2O_2]_t$  est la concentration de  $H_2O_2$ Au temps t = 0à l'instant t on trouve

t <sub>(h)</sub>	0,5	1	2	4	6
x mol.1-1	0,794	0,629	0,396	0,156	0,062

- 10) Définir la vitesse de décomposition de l'eau oxygénée.
- 20) Montrer que la réaction est d'ordre 1 par rapport à H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
- 3º) Calculer la constante de vitesse et le temps de 1/2 réaction.
- 4º) Au bout de quelle durée restera-t-il 1/100 de l'eau oxygénée de départ.

#### EXERCICE 3

On désire préparer une solution tampon dont le pH est 9. Pour cela on dispose de 2 solutions: l'une d'ammoniac, l'autre de chlorure d'ammonium. Leurs concentrations molaires sont égales à 0,1 mol.1-1. Le pKa du couple NH<sub>4</sub>+/NH<sub>3</sub> est égal à 9,3 à la température de l'expérience.

- 10) Calculer les volumes de chacune des solutions à mélanger pour obtenir 100 cm³ de solution A de pH=9.
- 2º) Quelles sont les concentrations molaires des espèces en solution.
- 30) Aux 100 cm3 de solution A on ajoute 20 cm3 de solution de soude 0,1 mol-1. Ouel est le pH du mélange.

#### ACADEMIES DU GROUPE 2

### A. Physiologie

#### PREMIER SUJET (L'œil et la vision)

- 1. Structure de la rétine (4points)
  - 1. 1. Annoter le document 1 (document à joindre à la copie)
  - 1.2. Le document 2 représente une coupe de rétine; à partir de ce document, faire un schéma d'interprétation des relations existant entre les structures observées. (sur la feuille à rendre)

Orienter le schéma par rapport aux autres membranes de l'œil et indiquer le sens

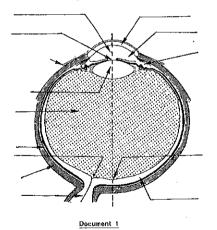
de l'influx nerveux.

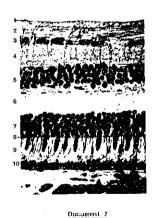
Préciser les modifications de structure qui seraient observées sur la rétine des animaux qui chassent la nuit.

#### 2. Fonctionnement de l'œil (10 points)

#### 2.1. Le champ visuel

- 2.1.1. Définir la notion du champ visuel.
- 2.1.2. Représenter le champ visuel de l'œil droit, en précisant sur le schéma effectué, le côté temporal et le côté nasal. Discuter l'étendue de ce champ.
- 2.1.3. Préciser la méthode expérimentale qui permet de tracer les limites du champ visuel.

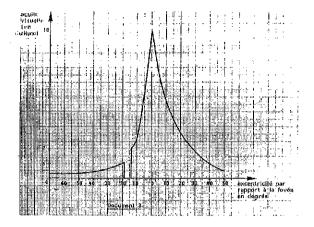




#### 2. 2. L'acuité visuelle

Le document 3 représente les variations de l'acuité visuelle de l'œil droit.

- 2.2.1. Définir l'acuité visuelle.
- 2.2.2. Commenter et analyser cette courbe. Etablir une relation entre cette courbe et la structure histologique de la rétine.



#### 2-3 Formation des images sur la rétine

On déplace un objet dans le champ visuel de l'œil droit (l'œil gauche étant oculté).

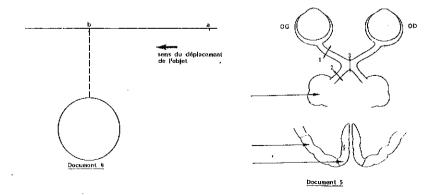
L'œil droit regardant droit devant lui pendant toute l'expérience.

L'objet est introduit latéralement dans le champ visuel et se rapproche du centre de celui-ci.

- 2.3.1. Préciser sur quelles zônes de la rétine se forment les images de l'objet quand il est successivement en a et en b. (document 4)
- 2.3.2. Comment varie la perception de cet objet? Pourquoi?

#### 2-4 Anomalies de la vision

- 2.4.1. Représenter sur deux schémas les coupes sagitales de l'œil normal et de l'œil myope.
- 2.4.2. Tracer pour chaque cas, le trajet des rayons lumineux pour l'œil regardant l'infini.
- 2.4.3. Expliquer sommairement la formation des images dans les 2 cas.
- 2.4.4. Donner les causes de la myopie.



#### 3. Voies optiques (6 points)

Reporter sur le document 5 le trajet des neurones depuis la rétine jusqu'aux hémisphères cérébraux et annoter ce schéma.

- Représenter er noircir les parties du champ visuel de chaque œil devenues insensibles après :
  - une section en 1
  - une section en 2
  - une section en 3

Expliquer comment deux images rétiniennes planes peuvent donner naissance à une image cérébrale en relief.

#### OU

#### **DEUXIEME SUJET (L'excrétion rénale)**

1. (3 points)

Annoter le schéma 1 et lui donner un titre. (p 85.11) (document à joindre à la copie)

2. (4 points)

Le tableau ci-dessous donne pour un sujet normal, la composition comparée du plasma et de l'urine.

Principaux constituants	Plasma sanguin	Urine
eau	900 g. 1 <sup>-1</sup>	950 g. 1 ·1
chlorure de sodium	120 mmol. 1-1	170 mmol. 1-1
phosphates	1,5 mmol. 1-1	75 mmol. 1 -1
sulfates	0,2 mmol. 1-1	2 mmol. 1-1
protides	80 g. 1-1	0
lipides	5 g. 1-1	0
glucose	5 mmol, 1-1	0
urée	5 mmol. 1-1	300 mmol. 1-1
acide urique	180 μmol. 1 -1	360,0 μmol. 1 <sup>-1</sup>
créatinine	80 μmol. 1 -1	10000 μmol. 1-1
ammoniaque	20 μmol. 1 · 1	4000 μmol. 1 -1
acide hippurique	. 0	4 mmol. 1 -1

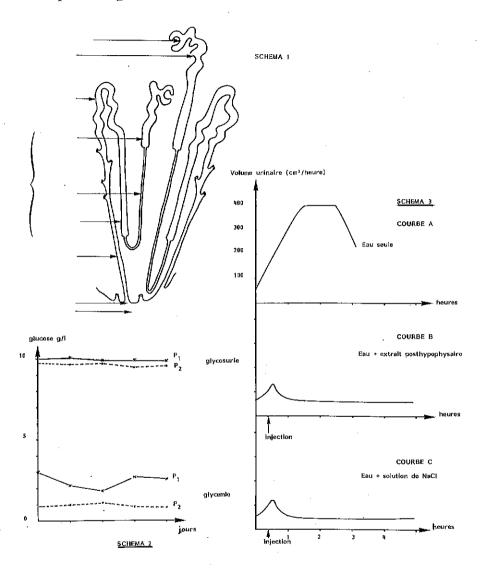
Le comportement du rein vis à vis de ces substances permet de les grouper en 3 catégories. Classer ces substances dans chacune de ces catégories et en déduire les 3 principaux aspects de l'activité du rein.

3. (3 points)

Le schéma 2 représente les valeurs de la glycémie et de la glycosurie chez 2 personnes  $P_1$  et  $P_2$  en fonction du temps.

3.1. Les valeurs de ces paramètres sont-elles physiologiques ou pathologiques. Justifier la réponse.

III - 2 Faire des hypothèses sur l'origine de la glycosurie chez la personne P<sub>1</sub> et la personne P<sub>2</sub>.



#### 4. (7 points)

On réalise une série d'observations et d'expériences:

- Le diabète insipide se traduit par une élimination excessive d'urine très diluée jusqu'à 15 l par jour; cette affection est le plus souvent liée à une lésion de la post-hypophyse.

- Chez un homme normal, l'ingestion de 1,5 l d'eau pure entraîne l'émission urinaire représentée schéma 3 courbe A.
- Chez un homme normal, l'ingestion de 1,5 l d'eau pure, suivie de l'injection intraveineuse d'extraits post-hypophysaires, entraîne l'émission urinaire représentée schéma 3 courbe B.
- Chez un homme normal, l'ingestion de 1,5 I d'eau pure, suivie de l'injection intracarotidienne d'une solution hypertonique de chlorure de sodium, entraîne l'émission urinaire représentée schéma 3 courbe C.

Analyser ces résultats.

#### 5. (3 points)

- Calculer le rapport  $\frac{U}{P}$  de l'ammoniaque ( $\frac{\text{concentration dans l'urine}}{\text{concentration dans le plasma}}$ ).
- Sachant que le débit du filtrat glomérulaire est de 180 1/24 heures et que le volume d'urine excrétée en 24 heures est environ de 1,5 litre, peut-on dire que l'augmentation de la concentration de l'ammoniaque est due exclusivement à la réabsorption de l'eau? Justifier votre réponse.
  Si un autre processus intervient, quel est-il?

#### B. Chimie

#### I - L'ATOME (5 points)

On représente respectivement par  $^{35}_{17}$  X et  $^{88}_{38}$  Y les symboles de deux éléments.

- I 1 Indiquer la structure du noyau puis la structure électronique de chacun de ces atomes.
- I 2 Quelle est la position de chacun de ces éléments dans la classification périodique?
   A quelle famille chimique appartient-il?
   Comparer les électronégativités de X et de Y.
- I 3 En déduire la structure du corps pur de formule X<sub>a</sub> Y<sub>b</sub>.
   Proposer pour a et b les valeurs les plus simples possibles.

#### II - CINETIQUE CHIMIQUE (8 points)

On étudie la cinétique de la saponification de l'éthanoate d'éthyle:

A la date t = 0, on mélange 100 ml d'une solution d'éthanoate d'éthyle de concentration molaire égale à 0,10 mol/l et 100 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium de concentration molaire égale à 0,10 mol/l. Cette solution est maintenue à la température de 30°C. Aux dates indiquées dans le tableau ci-dessous, on effectue un prélèvement de 10 ml de mélange réactionnel, que l'on dose par une solution de chlorure d'hydrogène de concentration molaire égale à 0,010 mol/l. Soit v le volume de solution de chlorure d'hydrogène utilisé pour atteindre l'équivalence mise en évidence par le virage de la phénolphtaléine.

t min	4	9	15	24	37	53	83	143
v ml	44,1	38,6	33,7	27,9	22,9	18,5	13,6	8,9

- Exprimer en fonction de v la concentration molaire en ions hydroxyde OHrestant dans le mélange réactionnel.
- 2.2. Montrer graphiquement que la réaction de saponification est d'ordre global deux (ordre 1 par rapport à l'éthanoate d'éthyle et ordre 1 par rapport aux ions hydroxyde).
- 2.3. Calculer la constante de vitesse de cette réaction.

#### III - COMPOSES PEU SOLUBLES (7 points)

- 3.1. Pour déterminer le produit de solubilité de l'iodate de cadmium Cd (IO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, on ajoute progressivement une solution d'iodate de potassium de concentration molaire égale à 0,3 mol/l à 100 ml d'une solution de nitrate de cadmium de concentration molaire égale à 0,1 mol/l.
  - Il faut ajouter 20,6 ml de la solution d'iodate de potassium pour obtenir l'apparition du premier cristal d'iodate de cadmium.
    En déduire la valeur du produit de solubilité de l'iodate de cadmium.
- 3.2. On ajoute 0,02 mole d'iodate de potassium à 100 ml de solution de nitrate de cadmium de concentration égale à 0,1 mol/l. Montrer qu'il y a formation d'un précipité d'iodate de cadmium. Calculer les concentrations en ions cadmium Cd<sup>2+</sup> et en ions iodate IO<sub>3</sub><sup>-</sup> dans la solution surnageante.

## **B1 BIOCHIMIE**

#### **ACADEMIES DU GROUPE 1**

#### I-ENZYMOLOGIE (30 points)

La phosphorylation du glucose est une réaction endergonique:

$$\Delta$$
 G° = + 13 kJ.mol -1

En incubant un broyat de foie de rat avec du glucose et de l'ATP on observe la formation de glucose -6- phosphate.

- I-1 A partir de la phosphorylation du glucose expliquer ce qu'est un couplage énergétique.
- I-2 La filtration du broyat sur tamis moléculaire (gel filtration) permet d'isoler deux enzymes catalysant cette réaction; l'une (A) sort rapidement de la colonne, l'autre (B) est retardée.
  - I-2-1 Que peut-on dire des masses molaires des enzymes A et B? Justifier la réponse.
  - I 2-2 Donner le nom commun de ces deux enzymes. Citer la classe d'enzymes à laquelle elles appartiennent.
  - I-2-3 Ces deux enzymes ont-elles la même spécificité? Justifier la réponse.
- I-3 Les caractéristiques cinétiques des deux enzymes sont les suivantes:

Enzyme A K<sub>m</sub> glucose: 0,1 mmol.dm<sup>-3</sup> K<sub>m</sub> ATP : 0,2 mmol.dm<sup>-3</sup>

 $\begin{array}{ccc} Enzyme & B & K_m \ glucose: 10 \ mmol.dm^{-3} \\ & K_m \ ATP & : 0.2 \ mmol.dm^{-3} \end{array}$ 

- I-3-1 Définir la constance de Michaelis Km.
- I-3-2 Sachant que les concentrations intracellulaires hépatiques sont de 5 mmol.dm<sup>-3</sup> pour le glucose et 2 mmol.dm<sup>-3</sup> pour l'ATP, indiquer si, dans la cellule, les enzymes A et B agissent dans les conditions d'obtention de la vitesse maximale.
  Quelle serait l'influence d'une augmentation importante de la concen-

Quelle serait l'influence d'une augmentation importante de la concentration du glucose intracellulaire?

I- 4 On admettra que les deux enzymes ont un comportement "michaelien". Le glucose
 -6- phosphate est un inhibiteur non compétitif de l'enzyme A et est sans effet sur l'enzyme B.

A l'aide de ces données, donner l'allure générale des courbes représentant la vitesse de la réaction en fonction de la concentration [S] en glucose (v = f[S]), pour chaque enzyme, en absence et en présence de glucose -6- phosphate.

Indiquez V<sub>max</sub> et K<sub>m</sub> sur les courbes.

I - 5 Après purification complète, l'activité spécifique de l'enzyme A AS<sub>A</sub> est égale à 800 μmol de glucose phosphorylé par min et par mg d'enzyme, celle de l'enzyme B AS<sub>B</sub> est égale à 600 μmol de glucose phosphorylé par min et par mg d'enzyme. Calculer, au temps zéro, la vitesse de la réaction lorsqu'elle est catalysée par l'enzyme A et lorsqu'elle est catalysée par l'enzyme B; les activités enzymatiques sont mesurées séparément dans un milieu réactionnel contenant: 0,1 mg d'enzyme, du glucose à la concentration de 1 mmol.dm-3 et de l'ATP à concentration saturante.

#### II - METABOLISME (50 points)

L'alanine (acide  $\alpha$  -aminé dont  $R=CH_3$ ) peut être dégradée dans les tissus des mammifères en aérobiose suivant les étapes:

- désamination
- dégradation de la chaîne carbonée
- élimination de l'ammoniac

#### II - 1 Désamination

- II 1-1 La L aminoacide oxydase du foie et des reins est une flavoprotéine.
  - II 1-1. 1 Nommer les coenzymes des flavoprotéines et indiquer leur mode de liaison avec la protéine.
  - II 1-1. 2 Ecrire l'équation de la réaction catalysée en précisant les formules.
  - II 1-1. 3 Comment est réoxydé le coenzyme?
- II 1-2 La voie la plus active utilise une aminotransférase suivie de l'action de la glutamate déshydrogénase.
   Montrer en écrivant les équations des réactions que les produits sont les

mêmes que ceux de la réaction précédente.

#### II - 2 Dégradation de la chaîne carbonée

II - 2-1 L'acide  $\alpha$  -cétonique produit par les réactions précédentes subit une "décarboxylation oxydative".

- II-2-1.1 Celle-ci est catalysée par un complexe ou système « multienzymatique ».
   Expliquer cette expression.
- II-2-1.2 Ecrire le bilan en une équation de cette réaction.
- II 2 -1.3 Un des produits est un corps à « haut potentiel d'hydrolyse », définir cette expression.
- II 2 1.4 Que devient l'acide  $\alpha$  -cétonique dans le cas d'un déficit cellulaire en  $O_2$ ?
- II 2 2 La dégradation se poursuit par le cycle des acides tricarboxyliques de Krebs.
  - II 2 -2. 1 Quelle est la localisation cellulaire?
  - II 2 -2.2 Complèter le schéma de la figure 1 (noms et formules manquants, coenzymes ...) (p 85.17)
  - II 2 -2.3 La première réaction fait intervenir un dérivé du coenzyme A. Quel est le rôle de ce dérivé dans cette réaction?
  - II 2 -2. 4 Etablir le bilan en une équation de ce cycle.

#### II-3 Elimination de l'ammoniac

La voie principale est la formation d'urée par les cellules hépatiques.

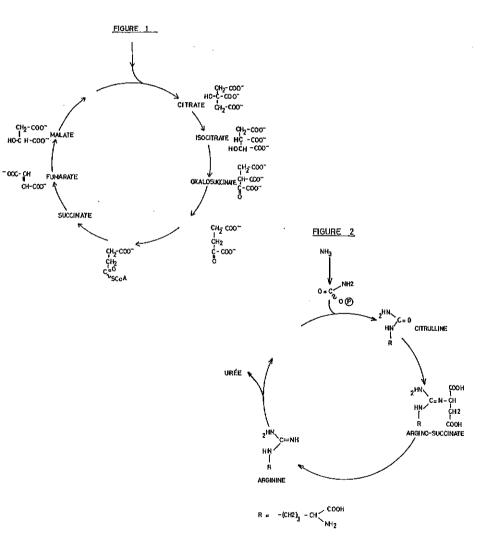
- II 3 -1. Par quel moyen l'ammoniac est-il transporté dans le sang? Ecrire l'équation de la réaction.
- II-3-2. L'ammoniac est transformé en urée dans le foie.
  - II-3-2.1 Compléter le schéma de l'uréogénèse de la figure 2 (noms et formules manquants) (p 85.17)
  - II 3 -2.2 Mettre en évidence sur ce schéma l'origine des groupements -NH<sub>2</sub> de la molécule d'urée formée.
  - II 3 -2. 3 Par quels intermédiaires ce métabolisme est-il en relation avec le cycle des acides tricarboxyliques?
  - II 3 -2, 4 Que devient l'urée formée?
  - II-3-2.5 Faire le bilan de l'élimination d'1 molécule d'ammoniac par l'intermédiaire de ce cycle. Commenter l'aspect énergétique de cette biosynthèse d'urée sachant que les variations d'enthalpie libre à pH 7 et 30° C sont:

 $NH_3 \longrightarrow ur\acute{e}$   $\Delta G'_0 \sim + 14,6 \text{ kJ. mol}^{-1}$ 

## Hydrolyse d'une liaison à haut potentiel de l'ATP: $\Delta G'_0 \sim -30 \text{ kJ. mol}^{-1}$

#### II-4 Bilan énergétique de la dégradation de l'alanine

Dresser le bilan énergétique de la dégradation d'une mole d'alanine dans le cas où la désamination se fait par le mécanisme envisagé dans le paragraphe II - 1-2, la chaîne respiratoire mitochondriale réoxydant les coenzymes.



#### ACADEMIES DU GROUPE 2

#### I - Etude de la fermentation alcoolique (20 points)

- I 1 Un extrait de levures, débarrassé de cellules intactes par filtration, est capable de fermenter le glucose en éthanol. Ecrire les équations des réactions qui permettent la transformation du pyruvate en éthanol, en donnant le nom des enzymes et des coenzymes.
- I 2 Harden et Young ont trouvé que deux fractions d'extraits de levures sont requises pour la fermentation alcoolique: une fraction thermolabile, contenant les enzymes, et une fraction thermostable nécessaire à l'activité de la fraction thermolabile.
   La fraction thermostable contient NAD+, ADP, ATP.
  - I 2-1 Pourquoi les enzymes sont-elles thermolabiles? Préciser l'action de la chaleur sur la structure des enzymes.
  - I 2-2 Nommer les composés suivants: NAD+, ADP, ATP; donner leurs structures schématiques.
  - I 2-3 Ecrire les équations des réactions de la glycolyse dans lesquelles interviennent les composés ADP et ATP, en donnant les formules développées des intermédiaires de la glycolyse ainsi que les noms des enzymes.
  - I 2-4 Quel est le gain net en moles d'ATP par mole de glucose consommé par cette voie fermentaire.

#### Donnée:

#### Séquence des intermédiaires de la glycolyse

Glucose
Glucose - 6 - phosphate
Fructose - 6 - phosphate
Fructose - 1,6 - diphosphate
Dihydroxyacetone phosphate

Glycéraldéhyde - 3 - phosphate 1,3 - disphosphoglycérate 3 - phosphoglycérate 2 - phosphoglycérate Phosphoénolpyruvate Pyruvate

#### IÎ - Etude de la phosphofructokinase (15 points)

La phosphofructokinase a une masse molaire de 360 000 g.mol<sup>-1</sup> et est constituée de plusieurs sous-unités. Elle est soumise à une régulation allostérique.

- II 1 Rappeler (formules développées non demandées) l'équation de la réaction catalysée par la phosphofructokinase.
- II 2 Donner, à l'aide d'un schéma, le principe général de la régulation par rétroinhibition.
   Quel est l'intérêt de cette régulation pour la cellule?
- II 3 Ecrire l'équation de transformation aérobie du pyruvate en acétyl.CoA.
   Recopier et compléter le schéma réactionnel ci-après en précisant le nom et/ou la formule des composés:

Expliquer pourquoi ce phénomène est bloqué en anaérobiose.

- II 4 Le citrate est un inhibiteur allostérique de la phosphofructokinase.
   Donnez l'allure des courbes obtenues pour représenter les variations de V<sub>i</sub> = f([S]) dans le cas d'une cinétique michaelienne et pour une cinétique allostérique.
- Données: v<sub>i</sub>: vitesse initiale de la réaction enzymatique. [S]: concentration en substrat.
  - II 5 Pasteur a montré que chez la levure l'introduction de l'oxygène provoque une diminution de la glycolyse. Montrer comment les effets du citrate sur la phosphofructokinase peuvent contribuer à expliquer ce phénomène.
     Quel est l'intérêt de ce phénomène pour la cellule.

#### III - Etude cinétique de la D-glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (30 points)

La D-glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase du muscle de lapin a une masse molaire de 136 000 g.mol<sup>-1</sup>. Elle est constituée de quatre sous-unités identiques portant chacune un site actif.

1ère série d'expériences: mesure de la vitesse initiale de la réaction V<sub>i</sub> en fonction de la concentration en NAD<sup>+</sup>.

Le milieu réactionnel, contenu dans la cuve d'un spectrophotomètre ayant 1 cm de parcours optique, a un volume de 3 ml.

Les conditions de la réaction sont les suivantes:

- concentration de D-glycéraldéhyde-3-phosphate et de phosphate minéral en excès
- concentration d'enzyme dans le milieu réactionnel: 0,54 μg/ml
- pH du milieu : 8,5 (le milieu est tamponné)
- température 25°C.

Le démarrage de la réaction est obtenu par addition de cosubstrat (on négligera la variation de volume). L'enregistrement en continu de l'absorbance à 340 nm permet de déterminer la vitesse initiale.

	concentr	concentration de NAD+ dans le milieu réactionnel en µ mol.l						
	10	20	40	80	160			
! V <sub>i</sub> ( Δ A.min-1)	1 0,040	0,064	0,091	0,117	0,135			

2ème série d'expériences: mesure de la vitesse initiale de la réaction V<sub>i</sub> en fonction de la concentration en NAD<sup>+</sup> après 1 h d'incubation de l'enzyme en présence d'acide iodo-éthanoïque.

Les conditions expérimentales sont les mêmes que précédemment, à la seule différence que l'enzyme a été pré-incubée en présence d'acide iodo-éthanoïque pendant 1 h avant l'addition de substrat.

La concentration molaire de l'acide iodo-éthanoïque dans le milieu réactionnel est le double de celle de l'enzyme. Le démarrage de la réaction est obtenu par addition de cosubstrat (on négligera la variation de volume).

	concentr	concentration de NAD+ dans le milieu réactionnel en µmol.l-1						
•	10	20	40	80	160			
! V <sub>1</sub> ( Δ A.min <sup>-1</sup> )	! ! 0,020 !	0,032	0,046	0,058	0,068			

- III-1 Ecrire l'équation de la réaction catalysée par la D-glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase en donnant les formules développées des intermédiaires de la glycolyse qui y participent.
- III 2 Justifier le choix de la longueur d'onde.
- III-3 Comment évolue l'absorbance du milieu réactionnel après l'addition de NAD+, Justifier la réponse.
- III-4 Tracer sur le même graphe les courbes:  $\frac{1}{V_i} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$

relatives aux deux séries d'expériences. [S] est la concentration de NAD+. Echelles: abscisse  $1 \text{ cm} = 10 \text{ mmol}^{-1}.1$ ordonnées  $2 \text{ cm pour}......\Delta A.^{-1} \text{min} = 10$ 

- III-5 Déterminer les paramètres cinétiques de l'enzyme qui peuvent l'être à partir de la représentation graphique de la question III-4. Donner leur signification.
- III 6 Indiquer l'effet de l'acide iodo-éthanoïque, sachant que d'autres expériences ont montré que cet effet est irréversible. Proposer une explication de l'effet de l'acide iodo-éthanoïque, sachant qu'il se fixe sur les groupements -SH.
- III 7 Déterminer le nombre de moles de NADH formées par minute dans les 3 ml de mélange réactionnel lorsque les trois substrats de l'enzyme sont en excès (en l'absence d'effecteur).

Donnée: Coefficient d'absorption molaire

6 340 nm
NADH,H+

1 6 300 1.mol<sup>-1</sup>.cm

- III 8 Calculer la concentration de l'enzyme et la concentration des sites actifs de l'enzyme dans le mélange réactionnel (en mol.1-1).
- III-9 En déduire le nombre de moles de NAD+ qui sont réduites en 1 minute par 1 mole de site actif lorsque les 3 substrats de l'enzyme sont en excès (en l'absence d'effecteur).

#### IV. Etude de l'oxdation du D-glycéraldéhyde-3-phosphate. (15 points)

- IV-1 Décrire le mécanisme enzymatique et chimique par lequel une partie de l'énergie produite par l'oxydation du D-glycéraldéhyde-3-phosphate en 3phosphoglycérate peut-être conservée sous forme d'ATP.
- IV 2 Comment s'effectue la réoxydation du NADH,H+ produit au cours de l'oxydation du D-glycéraldéhyde-3-phosphate dans le muscle:
  - en anaérobiose (écrire la réaction)
  - en aérobiose (donner seulement le nom et la localisation du mécanisme qui intervient)
- IV 3 Calculer la variation d'enthalpie libre standard (confondue ici avec la variation d'énergie libre standard  $\Delta G^{O'}$ :
  - de la réaction d'oxydation du D-glycéraldéhyde-3-phosphate catalysé par la D-glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase,
  - de la réaction d'oxydation du lactate catalysée par la lacticodéshydrogénase.

Données:  $\Delta G^{0'} = -n.F$ .  $\Delta E_{0'}$   $\Delta G^{0'} = -96,5$  kJ si n=1 et  $\Delta E_{0'} = 1$  volt n est le nombre de moles d'électrons mis en jeu dans la réaction.

couple d'oxydo-réduction	E <sub>0</sub> ' en volts (pH 7, 30° C)
1,3-diphosphoglycérate + 2 H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → 3-Phosphoglycéraldéhyde + P <sub>1</sub>	- 0,29
pyruvate + 2 H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> lactate	- 0,19
NAD+ + 2 H+ + 2e- NADH, H+	- 0,32

IV-4 Compléter l'équation de la réaction bilan ci-dessous obtenue en faisant la somme des équations des réactions catalysées par la D-glycéraldéhyde-3phosphate déshydrogénase et la lactico-déshydrogénase.

Calculer la variation d'énergie libre standard de cette réaction. Si cette réaction est débutée avec des concentrations équimolaires de tous les composants qui figurent dans l'équation et en présence des deux enzymes, indiquer dans quel sens l'équilibre sera déplacé. Justifier la réponse.

Donnée: Pi est le phosphate inorganique ou phosphate minéral.

## **B2 Techniques du laboratoire de BIOCHIMIE**

#### **ACADEMIES DU GROUPE 1**

#### ANALYSE D'UNE TABLETTE DE CHOCOLAT (40 points)

On se propose de déterminer la teneur en protéines, en sucres réducteurs d'une tablette de chocolat noir de 100 grammes.

#### I - Dosage des protéines par mesure de l'azote total (méthode de Kjeldahl).

#### I-1 Mode opératoire

I - 1.1 Minéralisation

Dans un matra on introduit successivement:

2 g de chocolat.

20 cm3 d'acide sulfurique concentré,

5 g de catalyseur,

2 billes de verre,

On minéralise pendant 2 heures.

I-1.2 Distillation et dosage de l'ammoniac.

On distille la totalité du minéralisat, L'ammoniac est recueilli et dosé au fur et à mesure de sa distillation en présence d'indicateur (mélange de rouge de méthyle et de bleu de méthylène).

On verse  $v_1 = 7,60 \text{ cm}^3$  de solution d'acide sulfurique à 0,102 mol d'  $H_2SO_4/dm^3$ .

#### I-2 Résultats

- I-2.1 Quel est le but de la minéralisation? Qu'obtient-on par cette opération?
- I-2.2 Quelles sont les étapes opératoires ultérieures du dosage de l'azote? Quelles sont les précautions à prendre au cours de ces étapes?
- I 2.3 Pourquoi, dans le protocole précédent, dose-t-on au fur et à mesure de la distillation?
- I-2.4 Faire un schéma annoté d'un dispositif expérimental de distillation.

- I-2.5 Calculer la masse d'azote par g de chocolat.
- I-2.6 En déduire la masse de protéines en g pour 100 g de chocolat.

Données:

- 100 g de protéines contiennent environ 16 g d'azote

- on négligera l'azote non protéique

 $-N = 14 \, \text{g. mol}^{-1}$ 

- II-Dosage des sucres réducteurs du chocolat. 100 g de chocolat contiennent 63 g de glucides dont la majeure partie est constituée de saccharose.
  - II 1 Extraction des sucres réducteurs.

Onpèse un morceau de chocolat, soit m = 4.55 g.

On broie dans un mortier avec 30 cm<sup>3</sup> d'eau distillée chaude. Après décantation, on centrifuge à 1500 tours/min pendant 5 minutes. On recueille le surnageant dans une fiole jaugée de 100 cm<sup>3</sup>, puis on ajoute 5 cm<sup>3</sup> de solution d'acétate de plomb à 100 g. dm<sup>-3</sup> et on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée. On mélange. On laisse reposer et on centrifuge comme précédemment.

Le surnageant est recueilli dans une fiole jaugée de 100 cm<sup>3</sup>. On neutralise et on complète à 100 cm<sup>3</sup> avec de l'eau distillée. On obtient la solution S<sub>1</sub>.

- II 2 Dosage des sucres réducteurs par méthode colorimétrique.
  - II-2.1 Prises d'essai
    - On réalise deux essais à partir de la solution S<sub>1</sub>

 $E_1 = 0.02 \text{ cm}^3$   $E_2 = 0.05 \text{ cm}^3$ 

- On complète à 0,1 cm³ avec de l'eau distillée.

- On ajoute 2 cm3 de solution cupro-alcaline.

- On porte au bain-marie bouillant pendant 20 minutes.

- On refroidit rapidement.

 On ajoute aussitôt 1 cm³ de réactif arséniomolybdique, puis 7 cm³ d'eau distillée.

- On mélange.

- On lit l'absorbance à 700 nm.

#### II - 2.2 Gamme d'étalonnage

A partir d'une solution étalon de glucose 1 g. dm<sup>-3</sup>, on prépare une gamme de 5 tubes contenant:

Tube	G <sub>1</sub>	$G_2$	G <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>5</sub>
Masse de glucose en g par tube	20	40	60	80	100

Les tubes de la gamme sont traités de la même manière et dans les mêmes conditions que les essais.

Présenter dans un tableau la préparation de chacun des tubes de la gamme et exposer le raisonnement pour l'un de ces tubes.

#### II - 2-3 Lecture au spectrophotomètre.

Les absorbances des tubes de la gamme d'étalonnage et des essais sont lues contre un tube témoin-réactif.

G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	$G_3$	G₄	G <sub>5</sub>	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>
0,065	0,125	0,175	0,235	0,3	0,09	0,21

Préciser le rôle et la composition du tube témoin-réactif.

#### II - 3 Résultats

- II-3-1 Comment choisit-on expérimentalement la longueur d'onde à laquelle on fait la mesure ?
- II 3-2 Tracer la courbe d'étalonnage de l'appareil sur papier millimétré.
- II 3-3 Calculer le taux de sucres réducteurs du chocolat (teneur en gammes de sucres réducteurs pour 100 grammes de chocolat).
- II 3-4 Pourquoi le saccharose n'est-il pas dosé dans cette méthode?

Comment le doser par la même méthode colorimétrique à partir de  $S_1$ ?

II - 3-5 Quel est le taux de sucres réducteurs des glucides du chocolat (en g de sucres réducteurs pour 100 g de glucides)?

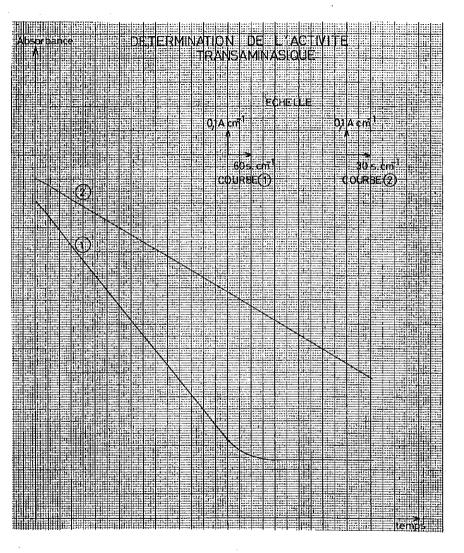
#### Détermination d'une activité transaminasique (20 points)

On mesure l'activité d'une aminotransférase d'un extrait de foie.

A cet effet, on broie 0,58 g de foie de rat dans un tampon, on amène cet extrait à 10 cm<sup>3</sup>, puis on le dilue au 1/10.

Pour mesurer l'activité de l'alanine aminotransférase ALAT (ou GPT), on utilise une méthode cinétique selon le protocole suivant:

 dans une cuve de trajet optique 1 cm, thermostatée à 30°C, on introduit: mélange réactionnel (tampon, alanine, NADH, lactate déshydrogénase): 3,10 cm<sup>3</sup> extrait dilué: 0,50 cm<sup>3</sup> après 5 min: solution d' α-cétoglutarate: 0,10 cm<sup>3</sup>
 L'enregistrement de l'absorbance à 340 nm est reproduit sur la figure jointe.



- I- D'après ce mode opératoire établir le schéma réactionnel et le principe de la mesure de l'activité de cette enzyme.
- II A quelles conditions de concentration doivent satisfaire les différents réactifs présents dans le milieu?
- III- Pourquoi ajoute-t-on l'  $\alpha$ -cétoglutarate après 5 minutes?
- IV Comparer les courbes (1) et (2).

V - L'activité transaminasique peut être calculée à partir de la relation : activité de la transaminase en U.I. par dm<sup>3</sup> d'extrait dilué = K. A A.min<sup>-1</sup>

Données: - 1 U.I.: 1 µmol.min-1

$$\epsilon_{340 \text{ nm}}^{\text{NADH}} = 6300 \text{ dm}^3 \text{.mol}^{-1} \text{.cm}^{-1}$$

D'après les conditions opératoires et les données montrer que K = 1175.

- VI Calculer, en U.I. dm<sup>-3</sup>, l'activité de l'ALAT dans l'extrait hépatique.
- VII En déduire l'activité totale de l'extrait et l'activité par g de foie.

#### **ACADEMIES DU GROUPE 2**

#### A. Détermination de l'activité spécifique d'un extrait uréasique E:

#### I-Cinétique de l'hydrolyse de l'urée: (19 points)

L'évolution de la réaction est suivie par pHmétrie.

#### I-1 Protocole opératoire:

Les électrodes du pH mètre plongent dans de l'eau désionisée ajustée à pH 5,5.

La température est constante.

On introduit 1 cm³ d'extrait E; on souffle à la pipette 1 cm³ de solution d'urée à 2,5 mol.dm<sup>-3</sup> tamponnée à pH 5,5, en déclenchant aussitôt le chronomètre. On verse progressivement, à la burette, une solution d'acide chlorhydrique à 0,100 mol.dm<sup>-3</sup> de telle sorte que le pH reste constant à 5,5 : soit le volume utile noté toutes les 30 secondes. On obtient le tableau suivant :

temps en minutes	0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
volume en cm <sup>3</sup>	0	0,14	0,30	0,46	0,61	0,78	0,92	1,06	1,18
temps en minutes	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5
volume en cm <sup>3</sup>	1,28	1,37	1,44	1,52	1,58	1,64	1,68	1,73	1,77
temps en minutes	9,0	9,5	10,0						
volume en cm³	1,82	1,86	1,90						

Remarque: on admettra que lors de cette manipulation, les ions carbonate formés par l'hydrolyse de l'urée réagissent avec les ions  $H_30^+$  de l'acide chlorhydrique selon l'équation:

 $CO_3^2 - + 2H_30 + \longrightarrow CO_2 + 3 H_2 O$ 

#### I-2 Questions

- 1.2.1. Ecrire l'équation de la réaction catalysée par l'uréase.
- 1.2.2. Tracer la courbe: volume de solution acide en fonction du temps.

  échelle: abcisse: 1 cm = 1 min

  ordonnée: 1 cm = 0.20 cm<sup>3</sup>
- 1.2.3. Quel type de burette prendre pour verser l'acide chlorhydrique?
- 1.2.4. L'unité d'enzyme u est arbitrairement définie dans cette manipulation comme étant la quantité d'enzyme qui catalyse en une minute l'hydrolyse d'une micromole d'urée dans les conditions expérimentales décrites:
  - Montrer comment les variations expérimentales du volume de solution d'acide chlorhydrique versé, permettent d'apprécier l'activité de l'extrait enzymatique.
  - Calculer l'activité de l'extrait E en u.cm<sup>-3</sup>
- 1.2.5. Calculer le nombre de moles d'urée présent dans le mélange réactionnel.
  - Déterminer le pourcentage d'urée hydrolysée au cours des 8 premières minutes de réaction.

## II. Dosage de l'azote protĕique de l'extrait E par la méthode Kjeldahl. (20 points)

## II-1 Protocole opératoire

- 2.1.1.5cm³ d'extrait E sont minéralisés en présence de 20 cm³ d'acide sulfurique concentré (à environ 18 mol.dm-³).
- 2.1.2. La minéralisation terminée, on transvase quantitativement le minéralisat dans une fiole jaugée à 100 cm³. On ajuste à 100 cm³ avec de l'eau désionisée.
- 2.1.3. On effectue la distillation à partir de 10 cm³ de minéralisat dilué, en présence d'une lessive de soude à environ 10 mol.dm³. Le produit de la distillation est recueilli dans 10 cm³ de solution d'acide sulfurique à 0,0205 mol.dm³. Il faut verser 12,50 cm³ de solution d'hydroxyde de sodium à 0,0235 mol.dm³ pour doser l'excès d'acide en présence de rouge de méthyle.

## II-2 Questions

2.2.1. Minéralisation

Indiquer - son but

 Les conditions opératoires et les précautions expérimentales.

#### II - 2-2 Distillation et dosage.

- a) Ecrire les équations des réactions.
- b) Calculer le volume minimum de lessive de soude à utiliser. Comment contrôler expérimentalement que le volume ajouté est suffisant?
- c) Proposer un test pour savoir si la distillation est terminée.
   Donner les précautions opératoires à observer en fin de distillation.
- d) Sachant que les protéïnes renferment 16 % (en masse) d'azote, déterminer la masse de protéînes dans 1 cm³ d'extrait enzymatique E.
- e) En déduire l'activité spécifique de l'extrait E en U.mg<sup>-1</sup>.

  Données: N = 14,0 g.mol<sup>-1</sup>

# B. Dosage de l'urée d'un sérum par la méthode à l'uréase (21 points)

## I - Mode opératoire

Après la réaction enzymatique, on dose les ions ammonium en présence de phénol, d'hypochlorite et en milieu tamponné basique ce qui conduit à la formation d'un composé soluble coloré en bleu (le nitro prussiate de sodium catalyse la réaction de coloration).

#### I - 1 Réaction enzymatique

Dans 2 tubes à centrifuger on introduit:

	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>
sérum (en cm³)	1	1
eau désionisée (en cm³)	1,8	1,8
extrait uréasique (en cm³)	0,2	0
On porte 20 minutes à 37°C puis on ajo	ute:	
tungstate de sodium (en cm³)	1	1
solution d'acide sulfurique (en cm³)	1	1
extrait uréasique E (en cm³)	0	0,2

#### I - 2 Colorimétrie

On utilise une solution étalon mère M de chlorure d'ammonium à 1,785 g.dm<sup>-3</sup>. On dilue la solution M: soit F la solution obtenue.

Les tubes 1 et 2 sont préparés à partir de la solution F. La suite des opérations est portée sur le tableau joint.

Les 4 tubes sont lus contre le tube 0.

N <sup>o</sup> des tubes		0	1	2	В'1	E'2
surnageant de centrifugati	0	0	0	1	1	
solution F	(en cm <sup>3</sup> )	0				
réactif au phénol	(en cm³)	4				
solution de nitroprussiate	(en cm³)	2				
solution d'hypochlorite	(en cm³)	0,5				
eau désionisée	(en cm³)	qsp 20	qsp 20	qsp 20	qsp 20	qsp 20
μg d'urée par tube		0	40	60		
Développement de la color	ration penda	nt 45 minu	ites .			
absorbance lue à 540 nm		0	0, 220	0,335	0, 260	0,010

#### II. Questions

- II-1 Donner les conditions opératoires à respecter pour que la loi de BEER-LAMBERT puisse être appliquée valablement.
- II-2 Indiquer les principales conditions expérimentales à respecter pour ce dosage enzymatique.
- II-3 Expliquer le rôle du tube E<sub>2</sub>.
- II-4 Justifier pour la solution étalon, l'utilisation du chlorure d'ammonium à la place de l'urée.
  - Calculer la concentration de la solution M exprimée fictivement en g d'urée par dm<sup>3</sup>.
  - Proposer une dilution de la solution M pour obtenir la solution F.
  - Complèter le tableau joint en annexe et le rendre avec la copie.
  - Préciser le matériel utilisé pour la dilution de M et la mesure des volumes de F.
- II-5 Déterminer la concentration du sérum en urée exprimée en g.dm-3 et mol.dm-3.

**Données :** 
$$C = 12.0 \text{ g.mol}^{-1}$$
  $O = 16.0 \text{ g.mol}^{-1}$   $N = 14.0 \text{ g.mol}^{-1}$   $Cl = 35.5 \text{ g.mol}^{-1}$ 

# B3 MICROBIOLOGIE et Techniques du laboratoire de MICROBIOLOGIE

## ACADEMIES DU GROUPE 1

Une intoxication collective due à Clostridium botulinum a lieu après ingestion de jambon cru.

- I-Les symptômes caractéristiques amènent à un traitement des malades par sérothérapie.
  - I-1 Comment s'exerce le pouvoir pathogène de Clostridium botulium?
  - I-2 En quoi consiste la sérothérapie; quel est le but recherché?
  - I-3 Actuellement les sérums antibotuliniques sont obtenus chez le cheval, après injection d'une anatoxine.
    Qu'est-ce qu'une anatoxine?
    - Quel est son mode d'obtention?
- II Cinq types sérologiques de Clostridium botulinum peuvent être rencontrés en France: A, B, C, D, E. Il existe donc autant de sérums spécifiques. Pour éviter les inconvénients d'une injection trop massive de protéines étrangères, on effectue une sérothérapie spécifique.

Les restes de l'aliment contaminé servent à l'identification du type de botulisme.

Après broyage dans un diluant approprié et centrifugation, le surnageant obtenu est réparti en sept fractions de 2 ml dans des tubes numérotés, puis subit les opérations indiquées dans le tableau suivant:

- II-1 Justifier le protocole adopté.
- II-2 Que peut-on conclure?

nº tube	1	2	3	4	5	6	7
addition de 0,1 ml de sérum spécifique:	anti A	anti B	anti C	anti D	anti E	_	-
traitement particulier		- contact	- : 30 min à	37° C	-	-	Chauffage 10 min à 100° C
injection du contenu de chaque tube à 2 souris				] 	   ·   		 
survie des souris après 24 heures	non	oui	non	non	non	non	oui

Ш-

III - 1 On réalise une culture de Clostridium botulinum dans des conditions favorables. Soit N nombre de bactéries par millilitre de milieu de culture, on suit l'évolution de log N en fonction du temps.

Temps (;eures)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	
log N.	2	2,6	3,2	3,8	4,4	4,9	5	5	5	5	5	5	4,9	4,5	4	

III - 1.1 Tracer la courbe représentative de log N en fonction du temps, en utilisant l'échelle suivante:

 $1 \text{ cm} = 0.25 \log 1$ 

1 cm = 2 heures

- III 1.2 Commenter l'allure de cette courbe.
- III 1.3 Définir et déterminer le temps de génération pendant la phase de croissance exponentielle. (On prendra  $\log 2 = 0.3$ ).
- III 2 Les Clostridium botulinum cultivent bien sur le milieu V.L. additonné de sang.

Voici la composition du milieu V.L. en grammes par litre:

peptones 10

extrait de viande 3

extrait de levure 6

chlorure de sodium

chlorhydrate de cystéine

glucose 2

gracosc

agar 15

on y ajoute 5% de sang.

- III 2.1 Indique le rôle de chacun des constituants de ce milieu.
- III 2.2 Proposer une technique pour cultiver Clostridium botulinum sur ce milieu coulé en boîte de Pétri,
- III-3 Les Clostridium botulinum donnent des spores ovales en position subterminale et déformantes.

- Π-3.1 Représenter une spore incluse.
- III 3.2 Donner un schéma de la structure de la spore observée en microscopie électronique.
- III 3.3 Quelles sont les propriétés des spores et quelles en sont les conséquences pratiques dans la préparation des conserves familiales?

## ACADEMIES DU GROUPE 2

#### I - Etude d'une intoxication alimentaire (35 points)

Une personne a été victime d'une intoxication alimentaire. On cherche à identifier l'agent bactérien responsable de cette infection dans les aliments composant le dernier repas ayant précédé l'apparition des troubles cliniques. On suspecte entre autres, des crevettes. On procède aux manipulations suivantes:

- 10 g de crevettes sont broyées dans 90 ml d'eau peptonée stérile,
- on procède, à partir du broyat, aux trois recherches suivantes:

#### I-1 Première recherche

- On ensemence des bouillons lactosés biliés au vert brillant (BLBVB) de la manière suivante :
  - . 2 tubes recoivent chacun 1 ml de broyat pur
  - . 2 tubes reçoivent chacun 1 ml de broyat dilué 1/10c
  - . 2 tubes reçoivent chacun 1 ml de broyat dilué 1/100°
  - . 2 tubes reçoivent chacun 1 ml de broyat dilué 1/1000°
- On incube 24 à 48 h à 30°C
- On obtient les résultats suivants:

Tubes	Pur	10-1	10-2	10-3
Résultats	++	+		

#### Questions

- I.1.1 Dans la première recherche, quelle catégorie de germes cherche-t-on à mettre en évidence? Rappeler la définition de ces germes.
  Décrire le principe de cette recherche et le mode de lecture des tubes.
- I.1.2 Donner le nombre de ces bactéries par grammes de crevettes, en se référant à la table de Mac Grady ci-dessous:

Groupe de 3 chiffres	Nombre de bactéries par ml
100	1,2
110	2
200	2,5
210	6
220	25

- I.1.3 Quel est l'intérêt de cette recherche?
- I.1.4 On peut procéder à un test complémentaire à partir des tubes de BLBVB positifs. Comment réaliser pratiquement ce test? Donner les milieux à ensemencer, les conditions d'incubation, les lectures à faire. Quelle conclusion pourrait-on donner si le test était positif?

#### I-2 Deuxième recherche

- On ensemence 0,1 ml de broyat sur une gélose SS, on incube 24 heures à 37°C:
- On ensemence 1 ml de broyat sur un milieu au sélénite de Leifson, on incube 24 heures à 37°C. Au bout de 24 heures, on ensemence une goutte de culture en milieu sélénite sur une gélose SS, on incube 24 heures à 37°C.
- On constate que, dans les deux cas, il n'y a pas de colonies sur les géloses SS, après 24 heures d'incubation.

#### Questions

- I.2.1. Que cherche-t-on à mettre en évidence sur les géloses SS, dans cette manipulation?
- I.2.2. Préciser les rôles respectifs, dans le protocole, du milieu au sélénite et de la gélose SS. Pourquoi procède-t-on à une double manipulation?

#### I - 3 Troisième recherche

Une fraction du broyat est soumise à la température de 80°C pendant 5 minutes, dans un bain-marie. Puis 5 géloses profondes en surfusion sont ensemencées avec le bayat ainsi chauffé. Chaque tube de gélose profonde reçoit un inoculum de 0,1 ml de broyat chauffé.

Composition de la gélose profonde:

- bouillon viande-foie	11
- glucose	2 g
- sulfite de sodium	7 g
- citrate de sodium	0,5 g
- alun de fer et d'ammonium	. 2 g
- gélose	8 g

On incube 24 heures à 37°C.

Après incubation on observe dans les profondeurs des géloses, les résultats suivants :

Tubes	Nombre de colonies entourées d'une auréole noire
1	6
2	4
3	3
4	6
5	6

#### Questions

- I.3.1 Quels caractères de la bactérie sont mis en évidence par le passage préalable du broyat dans un bain-marie à 80°C pendant 5 minutes et par l'existence d'auréoles noires autour des colonies?
- 1.3.2 A quelle catégorie de bactéries appartient le germe ainsi mis en évidence?

  Donner une évaluation de sa concentration par gramme de crevette.
- I-4 Les germes mis en évidence chez ces crevettes peuvent-ils expliquer l'intoxication alimentaire observée?

## II - Croissance bactérienne (13 points)

On étudie la croissance d'une bactérie dans trois milieux différents:

- milieu 1 : un milieu de base glucosé
  milieu 2 : un milieu de base citraté
- . milieu 2: un milieu de base contenant du chloramphénicol.

L'ensemencement initial est de 3.10<sup>5</sup> bactéries par ml. Après 3,5 heures, les bactéries étant encore en phase exponentielle de croissance, on trouve les populations suivantes:

- 4.26, 108 bactéries/ml dans le milieu 1
- 3,80 . 107 bactéries/ml dans le milieu 2
- 1.43 . 106 bactéries/ml dans le milieu 3.

Les cultures dans les milieux 1 et 2 ne présentent pas de temps de latence alors que celui-ci est de 30 min pour la culture dans le milieu 3.

- II-1 Définir le temps de génération G.
- II-2 Exprimer G en fonction de N la population bactérienne au temps t, No la population au temps to, et le temps t.
- II-3 Culculer dans les trois cas le temps de génération de la bactérie ( $\log 2 = 0.3$ )
- II-4 Commenter ces résultats.

## III - Les bactéries et le milieu (12 points)

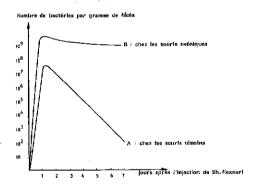
Le malade envisagé dans la partie 1, avait subi avant son intoxication alimentaire un traitement antibiotique pour une autre infection.

- III 1 Définir le terme « antibiotique ».
- III-2 Une expérience permet de mettre en évidence le rôle de la flore intestinale:

On fait ingérer une souche de Shigella flexneri à 2 lots de souris:

- un lot de souris témoins, avec une flore intestinale normale (A).
- un lot de souris axéniques, où la flore intestinale est absente (B).

La figure ci-dessous montre l'évolution du nombre de Shigella flexneri dans les fèces chez les deux lots de souris.



- III 2.1 Déduire de l'analyse des courbes, le rôle de la flore intestinale vis à vis des bactéries ingérées.
- III 2.2 Expliquer les notions de:
  - bactéries commensales
  - bactéries pathogènes
- III-3 Le traitement antibiotique explique-t-il la grande sensibilité du sujet à une intoxication alimentaire?

# A6 MATHEMATIQUE ET PHYSIQUE

## ACADEMIES DU GROUPE 1

#### PHYSIOUE

## I-SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION (8 points)

- I-1 Expliquer la nature du phénomène mis en jeu dans le dosage d'une solution de permanganate de potassium à l'aide d'un spectrophotomètre visible.
   Qu'appelle-t-on:
  - transmittance

(transmission) T

- absorbance

(densité optique) A

- I 2 Donner l'expression de la loi qui lie l'absorbance de la solution à sa concentration. Expliciter tous ses termes et préciser les unités SI, puis les unités usuelles.
- I-3 Dans le but de réaliser un dosage, on étudie, sur une solution de KMnO<sub>4</sub> de concentration constante, la variation de son absorbance en fonction de la longueur d'onde λ de la lumière monochromatique utilisée. On obtient les résultats suivants:

λ(nm) 450 460 470 480 490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590 600

0,060 0,078 0,115 0,152 0,218 0,280 0,345 0,405 0,435 0,405 0,415 0,360 0,245 0,145 0,065 0,045

Pourquoi l'absorbance varie-t-elle avec la longueur d'onde?

(Quel est, dans la loi précédemment citée le terme qui est dépendant de la longueur d'onde).

Tracer le spectre d'absorption de la solution de KMnO<sub>4</sub>:  $A = f(\lambda)$ 

Quelle longueur d'onde choisira-t-on pour effectuer le dosage?

Pourquoi?

I-4 Compléter le tableau suivant:

Les mesures sont effectuées à la longueur d'onde précédemment déterminée

C (mol. m <sup>-3</sup> )	10-2		
$A_1$ pour $1_1 = 10^{-2}$ m		0,140	
$\begin{array}{c} A_2 \\ \text{pour } 1_2 = 4.10^{-2} \text{ m} \end{array}$	0.280		0,140

Calculer la valeur du terme dépendant de la longueur d'onde.

## II - Effet photoélectrique (7 points)

La cathode d'une cellule photoélectrique est constituée par un métal dont le travail d'extraction est de 4.3 eV.

On éclaire avec un faisceau constitué par trois radiations de longueurs d'onde 240 nm, 270 nm et 730 nm.

- II 1 Quelles sont les radiations qui pourront produire l'effet photoélectrique?
- II 2 Calculer l'énergie cinétique maximale (en J et en eV) et la vitesse correspondante des électrons expulsés par la radiation de longueur d'onde 240 nm.

**Donées:** constante de Planck  $h = 6.62 \times 10^{-34} \text{ J.s}$  célérité de la lumière  $c = 3.0 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$  masse d'un électron  $m = 9.1 \times 10^{-31} \text{ kg}$  charge élémentaire  $e = 1.6 \times 10^{-19} \text{ c}$ 

#### III - (5 points)

Le nucléide  $^{210}_{83}$  Bi du bismuth est un émetteur radioactif Le noyau obtenu est le polonium  $_{84}$ Po

- III 1 Ecrire l'équation de la réaction et identifier le type de désintégration.
- III 2 Le polonium est lui-même radioactif. Il émet une particule  $\alpha$ . Ecrire l'équation de réaction. Donner les caractéristiques de la particule  $\alpha$ . Identifier le nucléide obtenu.

On donne:

80Hg 81Tl 82Pb 83Bi 84Po 85At 86Rn

## **MATHEMATIQUES**

1er exercice (11 points)

Soit la fonction numérique définie par:  $f(x) = \frac{x+1}{1-x}$  et (C) la courbe représentative de f dans un repère orthonormé  $(0, \vec{i}, \vec{j})$  (unité: 1 cm)

- 1°) Etudier f (on précisera les asymptotes à (C))
- 2°) Déterminer une équation de la tangente (T) à (C) au point d'abscisse  $x_0 = 0$

- 3°) Tracer la courbe (C), ainsi que la tangente (T).
- 4°) Vérifier que  $f(x) = -1 + \frac{2}{1-x}$
- 5°) Calculer la dérivée de la fonction g définie sur  $]-\infty$ , 1[ par g (x) = -2 ln (1 x). Trouver une fonction F définie sur  $]-\infty$ , 1[ qui admet la fonction f pour dérivée sur cet intervalle.

#### 2ème exercice (9 points)

Le tableau suivant donne, pour l'année indiquée, le nombre x de téléviseurs en service en France (en millions) et le nombre y de spectateurs de cinéma (en millions).

années	1958	1960	1962	1964	1966	1968	1970	1972	1974	1976
x = Nbre de téléviseurs (en millions)	1,6	2,8	4,4	6,5	8,8	10,6	11,9	13	13,8	14,6
y = Nbre de spectateurs (en millions)	390	355	320	280	240	215	190	190	185	177

- 1°) Représenter graphiquement le nuage de points relatifs à cette série double (x, y)
- 2°) Calculer le coefficient de corrélation linéaire r, de cette série double (x, y)
- 3°) Déceminer l'équation de la droite d'ajustement linéaire de y en x par la méthode des moindres carrés.
- 4°) Tracer cette droite dans le repère précédent.

## ACADEMIES DU GROUPE 2

## MATHEMATIQUES (Coef. 1,5)

## Exercice 1: (12 points)

On donne la série statistique double où X est la concentration en g.l-1 de protéines dans le sang et Y l'absorbance du milieu étudié.

numéro de la mesure	1	2	3	4	5	6
concentration de protéines X <sub>i</sub>	1	1,25	5	2,5	10	6
absorbance Y <sub>i</sub>	0,05	0,08	0,27	0,15	0,55	0,35

- I- Représenter graphiquement le nuage de points M<sub>1</sub> (X<sub>i</sub>, Y<sub>i</sub>) dans un repère dont les unités sont: en abscisses, 1 cm pour 0,5 g. l-1 et en ordonnées, 1 cm pour 0,05 unité.
- II- Calculer le cœfficient de corrélation de X et Y.
- III Déterminer par la méthode des moindres carrés une équation de la droite d'ajustement linéaire de Y par rapport à X. Tracer cette droite sur le graphique précédent.
- N.B.: Dans les questions II et III on indiquera sur la copie les formules utilisées.

## Exercice 2: (18 points)

Soit la fonction numérique f de la variable réelle x définie par  $f(x) = 1 \text{ nx} - \frac{1}{x}$ .

- I- Déterminer l'ensemble D de définition de f.
- II Calculer les limites de f(x) quand x tend vers 0 par valeurs supérieures à 0 et quand x tend vers  $+\infty$ .
- III Calculer la fonction dérivée f' de f et en déduire que f est croissante strictement sur D : établir le tableau de variation de f.
- IV-1 Donner les images par f des nombres:

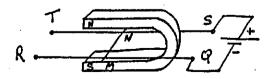
$$\frac{1}{e}$$
; 0,5; 1; 2; 3;  $e^2$ 

- IV-2 Tracer la courbe représentative C de f dans un repère orthonormé (unité 2 cm)
- V On considère la fonction numérique h définie sur ]0, + ∞ [ par h(x) = xlnx - x
- V-1 Calculer la fonction dérivée h' de h.
- V-2 En déduire une primitive F de f.
- N.B.: In x désigne le logarithme népérien de x et e  $\approx$  2,7.

#### PHYSIQUE (ccf. 1,5)

## I- Electromagnétisme (10 points)

Deux tiges de cuivre QR et ST constituent deux rails conducteurs sur lesquels peut rouler une barre cylindrique MN qui ferme le circuit. Un aimant en U crée un champ magnétique B. Les deux rails sont dans un plan horizontal.



I-1 Le générateur a une f e m de 6 V et la résistance total du circuit est  $2\ \Omega$ . Quelle est la valeur de l'intensité I du courant qui traverse le circuit? Indiquer sur le schéma le sens de ce courant.

- I-2 Quelle est la particularité du champ magnétique entre les deux branches de l'aimant? Donnez la direction et le sens du vecteur champ magnétique B entre les branches de l'aimant.
- I-3 La valeur du champ magnétique est B = 0.05 T. La longueur MN est 10 cm. On suppose que la barre est soumise, sur toute sa longueur au champ magnétique. Donner toutes les caractéristiques (intensité, direction et sens) de la force électromagnétique F agissant sur la barre MN.
- I 4 On intervertit les pôles de l'aimant. Que se passe-t-il?

## II-Effet photoélectrique (10 points)

On dispose de deux sources de lumière monochromatique de longueur d'onde :  $\lambda_1 = 0.6$ m et  $\lambda_2 = 0.5$ 

Elles sont successivement utilisées pour éclairer une cellule photoélectrique au potassium. Le seuil photoélectrique de potassium est  $\lambda_0 = 0.54 \, \mu \text{m}$ .

- II-1 Calculer les fréquences associées à ces 3 longueurs d'onde et l'énergie des photons associés.
- II 2 Ou'est-ce que le seuil photoélectrique d'un métal? Quel sera l'effet de chacune des lumières de longueurs d'ondes  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$  sur la cellule?
- II 3 Ouelles est l'énergie cinétique maximale d'un électron émis par la cathode en potassium?

**Données:**  $c = 3 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$  $h = 6.62 \times 10^{-34} \text{ J.s}$ 

III - Radioactivité (10 points)

Par désintégration  $\beta^-$ , le cobalt  $60 \begin{bmatrix} 60 \\ 27 \end{bmatrix}$  donne un nucléide  ${}^{A}_{7}$  X

- III 1 Déterminer X. A et Z en justifiant vos réponses.
- III 2 La période du cobalt 60 est de 5,4 ans. Qu'appelle-t-on période d'un élément radioactif?
- III 3 Calculer la constante radioactive  $\lambda$ .
- III 4 L'activité d'un échantillon est à un instant donné de 9. 10<sup>10</sup> désintégrations par seconde. Quel est le nombre N d'atomes radioactifs contenus dans l'échantillon à cet instant?

Au bout de combien de temps l'échantillon ne contiendra-t-il plus que N atomes radioactifs?

On donne l'extrait du tableau périodique suivant :

25Mn 26Fe 27Co 28Ni 29Cu 30Zn

## **B4 BIOCHIMIE**

## ACADEMIES DU GROUPE 1

SUJET - C -

## I- DOSAGE DE L'ETHANOL D'UN VIN PAR OXYDATION SULFO-CHROMIQUE (70 points)

#### I - 1 Distillation (2 essais)

L'appareil à distiller comprend un ballon de 250 cm³, une colonne à distiller, un réfrigérant et une allonge droite. L'allonge trempe dans une fiole jaugée de 100 cm³ placée dans un bécher rempli d'eau froide.

Introduire dans le ballon:

10 cm3 de vin

50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée quelques grains de pierre ponce.

Boncher le réfrigérant et distiller environ 50 cm³ de solution (la fiole jaugée étant au préalable remplie d'environ 30 cm³ d'eau distillée).

Rincèr ensuite l'allonge et ajuster à 100 cm³ avec l'eau distillée.

## I-2 Préparation de la solution de dichromate de potassium

Peser exactement une masse m = 3,3790 g de dichromate de potassium pur et anhydre.

Transvaser et dissoudre dans une fiole jaugée à 100 ml. Ajuster.

## I-3 Oxydation chromique (2 essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri de 500 cm<sup>3</sup>, introduire:

- 20 cm<sup>3</sup> de la solution de dichromate de potassium
- 10 cm³ d'acide sulfurique concentré (ATTENTION DANGEREUX: utiliser des lunettes de sécurité).

Verser l'acide sulfurique à l'aide d'une éprouvette lentement en agitant et en évitant les projections. Refroidir au fur et à mesure. Lorsque le mélange est suffisamment froid (température de la salle), ajouter: 10 cm³ de distillat alcoolique.

Boucher, agiter doucement. Attendre 15 à 20 minutes que l'oxydation soit totale.

#### I-4 Dosage de l'excès de solution chromique

- Aiouter ensuite:
  - . 300 cm<sup>3</sup> environ d'eau distillée
  - . 30 cm3 d'acide phosphorique pur
  - . 20 gouttes d'indicateur (diphénylaminosulfonate de baryum: indicateur redox).
- Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à la coloration vert franc. Soit V<sub>1</sub> cm<sup>3</sup> versés.

#### I-5 Dosage de la solution de sel de Mohr (2 essais)

- Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri, introduire:
  - . 10 cm<sup>3</sup> de la solution de dichromate de potassium
  - . 5 cm³ d'acide sulfurique concentré (mêmes précautions que précédemment)
  - . 150 cm3 d'eau distillée
  - . 15 cm<sup>3</sup> d'acide phosphorique pur
  - . 20 gouttes d'indicateur redox
- Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à la coloration vert franc. Soit V<sub>2</sub> cm<sup>3</sup> versés.

#### I-6 Résultats

Calculer la concentration massique en éthanol du vin en g. dm<sup>-3</sup>. Calculer le titre volumique de l'éthanol du vin en %.

**Données:** La solution de dichromate de potassium est préparée de telle sorte que  $1~\text{cm}^3$  de cette solution oxyde  $0.01~\text{cm}^3$  d'éthanol pur. masse volumique de l'éthanol  $\mu=0.7936~\text{g. cm}^{-3}$ .

K: 39,1 g. mol-1

Cr: 52 g. mol-1

O: 16 g. mol-1

C: 12 g. mol-1

H: 1g. mol-1

## II - DOSAGE DE LA PHOSPHATASE ALCALINE SERIQUE (50 points)

## II-1 Préparation de la gamme étalon

- On dispose d'une solution mère de paranitrophénol (P.N.P.) de concentration molaire égale à 5.10-3 mol. dm<sup>-3</sup>.
- La diluer pour obtenir une solution étalon de concentration molaire égale à 5.10-2 micromoles de P.N.P. cm<sup>-3</sup>.
- Dans des tubes propres et secs, réaliser la gamme suivante:

Tubes N <sup>0</sup>	0 (Blanc)	1	2	3	4	5	6
Solution de P.N.P. à 5.10 <sup>-2</sup> µmol.cm <sup>-3</sup> (cm <sup>3</sup> )	0	1	2	4.	6	8	10
Eau distillée (cm <sup>3</sup> )	10			,			
Solution d'hydroxyde de sodium à 0, 2 mol.dm <sup>-3</sup> (cm <sup>3</sup> )	1, 1					-	
Quantité de P.N.P. par tube (µmol)	0						,

- Lire les tubes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 contre le blanc à 415 nm.

#### II - 2 Dosage de la phosphatase alcaline

Dans 3 tubes propres et secs (1 témoin et 2 essais), introduire:

- -1 cm<sup>3</sup> de solution de substrat tamponné (pH = 10, 5): le tampon contient les ions Mg<sup>2+</sup> qui sont activateurs et le substrat qui est le P.N.P.P. (paranitrophénylphosphate disodique)
- Préchauffer ces tubes dans un bain thermostaté à 370 C environ 5 minutes.
- Introduire dans les tubes à essai 0, 1 cm<sup>3</sup> de sérum frais à la micropipette et mélanger en évitant de faire mousser la solution.
- -Incuber 30 minutes exactement à 37 °C.
- Retirer ensuite ces tubes et ajouter immédiatement et dans l'ordre, en commençant par les tubes essais: 10 cm<sup>3</sup> de solution hydroxyde de sodium à 0, 2 mol.dm<sup>-3</sup>. Ce produit arrête la réaction enzymatique dans tous les tubes.

Les times essais contiennent un volume de 11, 1 cm<sup>3</sup> et le tube témoin contient un volume de 11 cm<sup>3</sup>. On complète le tube témoin à 11, 1 cm<sup>3</sup> par addition de 0, 1 cm<sup>3</sup> de sérum.

- Mélanger soigneusement les tubes et lire l'absorbance des tubes essai contre le tube témoin à 415 nm.

#### II - 3 Résultat

- Tracer la courbe A = f(P.N.P. en  $\mu$ mol par tube)
- Calculer l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline sérique en unités internationales par litre et en microkatal par litre.
  - 1 U.I. est la quantité d'enzyme qui, à 25 °C, transforme 1 micromole de substrat par minute dans les conditions optimales de pH, force ionique etc.
  - 1 katal est la quantité d'enzyme qui transforme 1 mole de substrat par seconde.

## SUJET - E -

# I - DOSAGE DU FER DANS UN VIN BLANC PAR COLORIMETRIE: METHODE A L'ORTHOPHENANTHROLINE (50 points)

#### I - 1 Etalonnage du photomètre

a) A partir d'une solution étalon à 0, 1 g de fer par dm<sup>3</sup> préparer 100 cm<sup>3</sup> de solution contenant 10 µg de fer par cm<sup>3</sup>. A l'aide de cette solution faire une gamme de 6 tubes correspondant à 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg de fer par tube.

Ajouter dans chaque tube:

- le volume nécessaire de solution étalon diluée
- 3 cm<sup>3</sup> de tampon acétate
- 1 cm<sup>3</sup> de solution d'hydroquinone
- 0, 5 cm<sup>3</sup> de solution de chlorhydrate d'o-phénanthroline

Complèter chaque tube à 10 cm<sup>3</sup> avec de l'eau distillée. Agiter, Laisser réagir 15 minutes.

b) Mesurer l'absorbance pour chaque tube à 510 nm.

## I-2 Dosage

- . Préparer de manière analogue à celle de la gamme d'étalonnage, deux tubes  $(E_1$  et  $E_2)$  contenant respectivement 2 cm $^3$  et 5 cm $^3$  de vin blanc.
- . Mesurer l'absorbance

#### I - 3 Résultats

- a) Remplir un tableau récapitulatif des volumes de solution introduits dans chaque tube et leur absorbance à 510 nm.
- b) Donner la courbe représentative de la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de fer exprimée en μg/ tube.
- c) En déduire la concentration massique du fer en g.dm -3 dans le vin blanc.
- d) Calculer la concentration molaire correspondante en mol.dm-3

#### **Lonnée:**

 $Fe = 56 \text{ g.mol}^{-1}$ 

#### Compléter le tableau suivant:

Nº tube	0	1	2	3	4	5	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>
masse de fer dans le tube (µg)	0	- 10	20	30	40	50		
volume de solution étalon diluée (cm³)								
vin blanc (cm³)								
solution de contrôle C (cm³)								
réactifs (cm³)	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5		
eau distillée (cm³)								
absorbance (A)								

# II - DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL D'UNE SUBSTANCE PROTEIQUE PAR LA METHODE DE KJELDAHL (70 points)

#### II-1 Minéralisation

Dans un matras sec de 30 cm3 introduire:

- mg de substance protéique (pesée exacte voisine de 100 mg)
- environ 0,5 g de sulfate de potassium
- 1 pointe de spatule de mélange catalyseur
- 2 cm³ d'acide sulfurique concentré

Ajouter 2-3 petites billes de verre et minéraliser

## II - 2 Distillation et dosage de l'ammoniac

Laisser refroidir puis reprendre par de l'eau distillée. Placer le minéralisat et les eaux de lavage dans le ballon à distiller.

Ajouter des billes de verre, compléter jusqu'à un volume d'environ 150 à 200 cm<sup>3</sup> avec de l'eau. Alcaliniser par 10 cm<sup>3</sup> de solution concentrée d'hydroxyde de sodium (d: 1,33) en vérifiant l'alcalinisation.

Distiller dans environ 15 cm³ de solution d'acide borique à 40 g/dm³. Doser par la solution d'acide sulfurique de concentration molaire donnée (de l'ordre de 0,05 mol. dm³), en présence de rouge de méthyle ou d'indicateur R - B.

#### II-3 Résultats

Calculer le titre massique en azote total de la substance protéique. Sachant que 1 g de protéine pure contient 0,16 g d'azote, calculer la pureté de la substance protéique.

N.B.: On supposera que la totalité de l'azote dosé est protéique.

## **ACADEMIES DU GROUPE 2**

## SUIET Nº 3

## I - Dosage des chlorures du lait par mercurimétrie (60 points)

#### I-1 Etalonnage de la solution mercurique:

Préparer deux solutions de 100 ml de NaCl à environ 0,1 mol. 1-1 (faire 2 pesées) Dans une fiole d'Erlenmeyer de 50 ml, introduire successivement:

- 1 ml de solution de NaCl environ 0,1 mol. 1-1
- 5 ml d'eau distillée
- 3 à 4 gouttes de solution de diphénylcarbazone

Verser la solution de nitrate mercurique, à la micro-burette, jusqu'au virage de l'indicateur au rose violet.  $V_{-1}$  ml versés.

#### I-2 Dosage des chlorures du lait

I-2.1 On a préalablement procédé à la défécation du lait. Au cours de cette opération le lait a été dilué au 1/2 Le filtrat vous est fourni.

#### I-2.2 Dans une fiole d'Erlenmeyer de 50 ml, introduire:

- 10 ml de filtrat
- 5 ml environ d'eau distillée
- 3 à 4 gouttes de solution de diphénylcarbazone
- 1 ml d'acide nitrique environ Î mol. 1-1

Titrer comme précédemment par la solution de nitrate mercurique.  $V_2$  ml versés.

#### T-3 Résultats

Calculer la concentration des chlorures du lait, l'exprimer:

- en millimoles d'ions Cl- par litre
- en grammes de NaCl par litre

 $Na = 23 \text{ g. mol}^{-1}$ 

 $Cl = 35,5 \text{ g. mol}^{-1}$ 

## II - Dosage colorimétrique du glucose d'une boisson diététique - Méthode à l'orthotoluidine (60 points)

La boisson est garantie à 50 g. l-1; on contrôle deux boissons A et B.

#### II - 2 Réactifs

- solution étalon de glucose à 1 g. l-1
- solution d'acide trichloracétique à 30 g. l-1
- solution acétique d'ortho-toluidine (dangereuse)

- boisson A
- filtration de défécation d'une boisson B

#### II-2 Etalonnage du spectrophotomètre

#### II-2.1 Gamme de dilutions

Effectuer une série de dilutions comme suit :

Tubes	0	1	2	3	4	5
solution étalon de glucose 1 g.l <sup>-1</sup> ml	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Eau distillée ml	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0
Acide trichloracétique ml	4	4	4	4	4	4

#### II-2.2 Gamme colorimétrique

- Préparer une série de 6 tubes en prélevant 1 ml de chacune des dilutions précédentes, et en ajoutant dans chaque tube 10 ml du réactif à l'ortho-toluidine.
- Mélanger, coiffer les tubes à l'aide d'un morceau de papier d'aluminium
- Porter tous les tubes dans un bain-marie bouillant pendant 8 min exactement, Refroidir immédiatement sous un courant d'eau froide.
- Après 10 min de repos, mesurer les absorbances à 630 nm.

## II - 3 Dosage: application à deux boissons diététiques A et B

#### II - 3.1 Défécation de la boisson (A)

Dans un tube à essai introduire:

- 0.5 ml de boisson (A)
- 0.5 ml d'eau distillée
- 4 ml d'acide trichloracétique

Agiter, laisser au repos 5 min, filtrer. Prélever 1 ml du filtrat et le diluer au 1/50e.

Le filtrat de défécation de la boisson (B) sera fourni dilué de la même façon au 1/50e.

#### II - 3.2 Colorimétrie

Préparer les tubes « essais » de la manière suivante :

- 1 ml de filtrat de défécation dilué
- 10 ml de réactif à l'orthotoluidine

Porter au bain-marie bouillant comme précédemment, refroidir, puis laisser reposer 10 min. Mesurer l'absorbance des tubes à 630 nm.

#### II-4 Résultats

- Tracer la courbe d'étalonnage du photomètre (à joindre à la feuille des résultats)
- Calculer les concentrations en glucose des boissons (A) et (B) l'exprimer en grammes.1-1 et en millimoles.1-1

$$C = 12 \text{ g.mol}^{-1}$$

$$0 = 16 \text{ g.mol}^{-1}$$

$$H = 1 \text{ g.mol}^{-1}$$

# **B5 Manipulations de CHIMIE** et MONTAGE

## **ACADEMIES DU GROUPE 1**

SUJET - B-

## PREPARATION DU META NITROBENZOATE DE METHYLE

#### I - INTERROGATION PRELIMINAIRE

- 1°) Esrire l'équation de la réaction de préparation du métanitrobenzoate de méthyle par action du mélange sulfonitrique sur le benzoate de méthyle.
- 2°) Quel est le rôle de l'acide sulfurique.
- 3°) Calculer la masse théorique de métanitrobenzoate de méthyle.
- 4°) Pourquoi obtient-on le dérivé méta?

#### Données:

Benzoate de méthyle:  $\begin{cases} \text{volume utilisé: } 19 \text{ cm}^3 \\ \varrho = 1,09 \text{ g.cm}^{-3} \end{cases}$ 

Acide nitrique concentré:  $\begin{cases} \text{volume utilisé: } 17 \text{ cm}^3 \\ \varrho = 1,38 \text{ g.cm}^{-3} \\ \text{% HNC}_3 \text{ en masse: } 61 \end{cases}$ 

#### II - MANIPULATION

- Dans un ballon tricol de 500 cm³ muni d'une agitation mécanique et d'une ampoule de coulée, placer 19 cm³ de benzoate de méthyle. Dans l'ampoule de coulée placer le mélange froid de 17 cm³ d'acide sulfurique concentré et 17 cm³ d'acide nitrique concentré (LUNETTES DE SECURITE). Refroidir le ballon dans un bain de glace (0°C à 10°C).
- Ajouter le mélange sulfonitrique, en agitant, en maintenant la température entre 5°C et 15°C. L'addition doit durer 20 minutes. Agiter encore 10 minutes après la fin de l'addition.
- Verser le produit dans 150 g de glace. Agiter. Laisser reposer 5 minutes. Filtrer. Laver à l'eau.
- Mettre le produit dans un ballon de 100 cm³ et ajouter 20 cm³ de méthanol glacé.
   Boucher le ballon. Agiter. Laisser reposer. Filtrer. Laver avec 10 cm³ de méthanol glacé. Sécher à l'air. Peser. Prendre le point de fusion.

## III - Compte rendu

Etablir la feuille de marche détaillée de la manipulation: horaire, opérations, justifications et observations.

- On justifiera en particulier:
  - le maintien de la température entre 50 C et 150 C,
  - · le rôle du méthanol.
- Donner la température de fusion du produit obtenu.
- Calculer le rendement de la manipulation

	Masse volumique	Solubilité dans l'eau	Solubilité dans le méthol
Benzoate de méthyle	1, 09 g.cm <sup>-3</sup>	peu soluble	soluble
m.nitrobenzoate de méthyle		très peu soluble	peu soluble
o.nitrobenzoate de méthyle		très peu soluble	soluble
p.nitrobenzoate de méthyle		très peu soluble	soluble

## SUJET - K -

## PREPARATION DU n.BUTANOATE DE n.BUTYLE

## I- INTERROGATION PRELIMINAIRE

Le butanol.1 est oxydé en acide butanoïque, lequel réagit avec un excès de cet alcool pour former du n.butanoate de n.butyle.

- 1°) Ecrire les équations des réactions:
  - du butanol.1 avec le dichromate de sodium en milieu acide sulfurique
  - d'un excès de butanol.1 sur l'acide obtenu précédemment.
- (2) Calculer la masse théorique de n.butanoate de n.butyle.

#### Données:

Butanol.1: 
$$50 \text{ cm}^3$$
 (  $\varrho = 0, 81 \text{ g.cm}^{-3}$ )  
en g.mol<sup>-1</sup>:  
 $C = 12$   $H = 1$   $0 = 16$ 

#### II - Manipulation

- 1°) Préparer avec précautions une solution froide de 40 cm³ d'acide sulfurique concentré dans 40 cm³ d'eau.
  - Introduire cette solution dans un ballon tricol ou réacteur de 500 cm³ équipé d'une agitation mécanique, d'un thermomètre et d'une ampoule de coulée.
  - Ajouter 50 cm3 de n.butanol.
  - Refroidir dans un mélange glace-chlorure de sodium.
- 2°) Préparer une solution de 58 g de dichromate de sodium à deux molécules d'eau dans 65 cm³ d'eau.
  - L'introduire, par l'intermédiaire de l'ampoule de coulée, dans le tricol ou réacteur, en agitant vigoureusement et en veillant à ce que la température reste inférieure à 25°C.
  - En fin d'opération, le mélange devient visqueux : laisser la température atteindre 35°C pour accélérer la réaction.
- 3°) Diluer l'émulsion dans un volume égal d'eau.
  - Laisser reposer le mélange jusqu'à séparation aussi complète que possible.
  - Décanter.
- 4°) Laver la phase organique trois fois avec 10 cm<sup>3</sup> d'eau.
  - Sécher sur sulfate de magnésium anhydre.
- 5°) Rectifier le produit dans un appareil sec.
  - Noter la température d'ébullition.
  - Prendre l'indice de réfraction.

## III - Compte rendu

- 1°) Etablir la feuille de marche de la manipulation.
- 2°) Faire le calcul du rendement de la réaction.
- 3°) Prendre l'indice de réfraction.

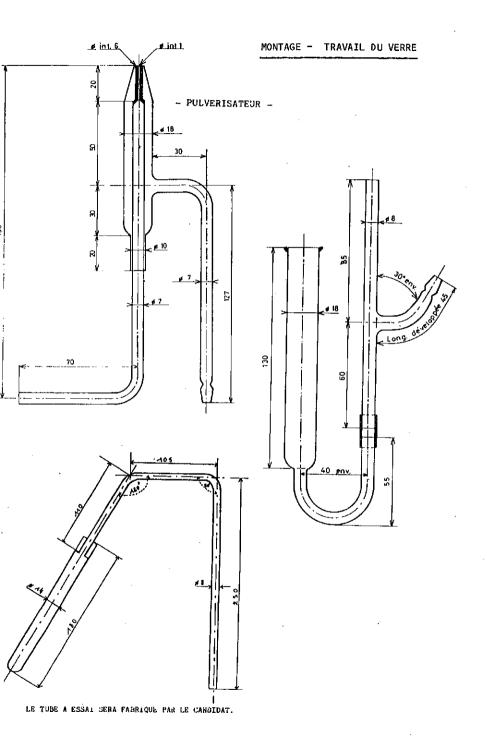
## Fiche technique

$$H = 1 \text{ g.mol}^{-1}$$
;

$$C = 12 \text{ g.mol}^{-1};$$

$$O = 16 \text{ g.mol}^{-1}$$

	densité	solubilité dans l'eau à 20°C		
butanol.1	0,81	7,9 g dans 100 cm <sup>3</sup>		
acide butanoïque	0,96	5,6 g dans 100 cm <sup>3</sup>		
n.butanoate de n.butyle	0,87	très peu soluble		



## ACADEMIES DU GROUPE 2

## **PREPARATION**

## SUIET N°2

#### PREPARATION DU NITRO-3 BENZOATE DE METHYLE

Interrogation préliminaire: (sans document) durée: 20 minutes

- I- Ecrire l'équation de nitration du benzoate de méthyle.
- II Calculer les fractions molaires des matières premières utilisées:

17 g de benzoate de méthyle

13 ml d'acide nitrique (d = 1,33 à 53 %)

III - Calculer la masse maximale de nitro-3 benzoate de méthyle obtenu. Indiquer l'expression du rendement.

Données: Masses molaires atomiques (g.mol-1)

$$C = 12$$
;  $O = 16$ ;  $H = 1$ ;  $N = 14$ 

#### Mode opératoire: (documents autorisés) 3 h 40

- Dans un ballon à réaction équipé d'un thermomètre, d'une agitation mécanique, d'une ampoule de coulée, mélanger 17 g (15,6 ml) de benzoate de méthyle et 34 ml d'acide sulfurique concentré. Abaisser la température de cette solution vers 5°C à l'aide d'un mélange réfrigérant.
- Préparer un mélange nitrant en versant peu à peu, en agitant, 13 ml d'acide sulfurique concentré dans 13 ml d'acide nitrique. Le refroidir dans la glace et l'additionner lentement à la solution de benzoate de méthyle en agitant et en maintenant la température du milieu entre 0 et 10°C.
- Quand l'addition est terminée, laisser le milieu à température ambiante pendant environ 15 minutes.
- Verser le milieu réactionnel dans 80 g de glace pilée en agitant bien.
- Filtrer le produit cristallisé sur büchner et le laver à l'eau en vérifiant le pH des eaux de lavage.
- Terminer par un lavage avec 40 ml d'éthanol refroidi dans la glace, et essorer à l'aide d'un tapon.
- Recristalliser le produit brut dans l'éthanol.
- Stocker le produit pur dans une capsule tarée.
- Prendre le point de fusion du produit purifié au Banc Kofler.

## Compte rendu:

- I Nitration:
  - Pourquoi maintient-on une température inférieure à 10°C?
  - Quels sont les corps présents dans le mélange obtenu en fin de nitration?

## II - Lavages:

- Quels corps élimine-t-on:
- . par lavage à l'eau?
  - . par lavage à l'éthanol?
- Noter les volumes d'eau utilisés et le pH correspondant.

#### III - Recristallisation:

Noter: le volume d'éthanol utilisé la température de fusion

## SUJET N° 3

### PREPARATION DE L'ETHANOATE DE METHYLE -3 BUTYLE

## (- Interrogation préliminaire

- Ecrire l'équation de la réaction d'estérification à partir de l'acide éthanoïque et du méthyl -3 butanol -1.
- Calculer la masse théorique d'ester.
- Préciser le rôle de l'acide sulfurique.

Données: masses molaires atomiques exprimées en g. mol. 1-1

C = 12; H = 1; O = 16

Volumes utilisés: acide éthanoïque: 50 cm³ (  $\varrho=1,05$  g/cm³) méthyl-3 butanol-1: 40 cm³ (  $\varrho=0,81$  g/cm³)

## II - Mode opératoire

- Dans un ballon de 250 cm³ verser doucement et en agitant, 40 cm³ de méthyl-3 butanol-1, 50 cm³ d'acide éthanoïque et 1cm³ d'acide sulfurique concentré.
  - Chauffer à reflux pendant 1 h. Agiter assez souvent.
- Refroidir d'abord sous courant d'eau, puis dans l'eau glacée.
   Verser le contenu du ballon dans une ampoule à décanter, laver par 2 fois avec 50 cm³ d'eau glacée et agiter vigoureusement. Laisser décanter et éliminer la phase aqueuse. Relever le pH.
- Laver ensuite avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium jusqu'à cessation de l'effervescence. Laver 2 fois avec 50 cm³ d'eau. Après chaque lavage éliminer la phase aqueuse et contrôler au papier pH.
- Verser l'ester brut dans un bécher et dessécher avec 5 g de sulfate de sodium anhydre. Attendre 15 minutes. Filtrer au dessus du ballon à distiller.

- Distiller l'ester. Recueillir la fraction passant au dessus de 137° C. Peser.
- Calculer le rendement; mesurer l'indice de réfraction du produit obtenu.

  Données:

méthyl-3 butanol-1:  $\Theta$  eb = 128° C d = 0,81 très peu soluble dans l'eau

acide éthanoïque :  $\Theta$  eb = 118° C d = 1,05

éthanoate de méthyl - 3 butyle d = 0.87 très peu soluble dans l'eau

## III - Compte rendu

- Donner la composition du mélange à la fin de la réaction d'estérification.

- Rôles des lavages : - à l'eau

 à l'hydrogénocarbonate de sodium (indiquer le volume utilisé)

Donner les pH relevés.

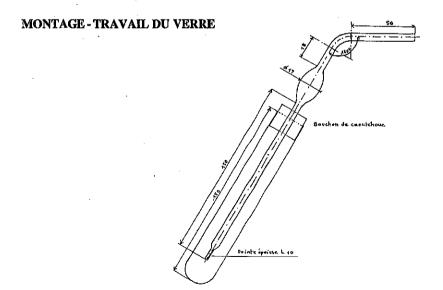
- Distillation

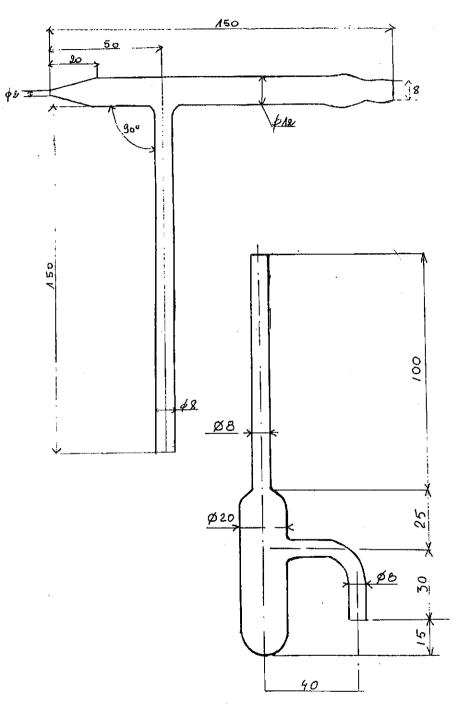
Température du palier de distillation.

Indiquer: masse d'ester purifié

rendement

indice de réfraction





85.55

# **B6 BACTERIOLOGIE**

## ACADEMIES DU GROUPE 1

SUJET - B -

1er JOUR

#### PREMIERE EPREUVE:

#### Colimétrie

## I - Dénombrement des coliformes d'un milieu liquide (riche en bactéries)

A partir d'une dilution 10-6 du produit initial réalisez:

- a) une série de dilutions jusque 10-9.
- b) un dénombrement des coliformes sur milieu solide : gélose désoxycholate, en double couche. Utilisez 2 boîtes pour chacune des 3 dilutions réalisées.

#### II - Identification des coliformes:

A partir d'un tube positif de bouillon bilié lactosé au vert brillant, réalisez:

- a) une recherche d'Escherichia coli, par une méthode en milieu liquide.
- b) un isolement sur gélose lactosée EMB.

#### DEUXIEME ÉPREUVE:

## Analyse bactériologique d'une semi-conserve

Identification d'une souche, isolée d'une semi-conserve altérée. Celle-ci après purification est présentée sur gélose nutritive inclinée.

- 1°) Réalisez les tests et observations nécessaires à l'orientation de son identification.
- 2°) Procédez à l'identification complète du germe. Vous établirez une demande écrite des milieux nécessaires à la réalisation de cette épreuve avec justification.

#### 2ème JOUR

#### Colimétrie

#### I - Dénombrement des coliformes

Lecture et interprétation des résultats obtenus sur les milieux solides. Conclusions.

#### II - Identification des coliformes

- a Lecture et interprétation des résultats.
- b Examen des colonies obtenues sur la gélose E.M.B.

## Analyse bactériologique d'une semi-conserve

#### Identification de la souche

Lecture de la galerie d'identification. Conclusion.

## SUJET G

#### 1er JOUR

1ère EPREUVE:

## Contrôles bactériologiques d'un lait

- I Réalisation de l'épreuve de la réductase microbienne.
   Discuter le résultat obtenu.
- II Dénombrement des coliformes totaux par la méthode en milieu solide. Réaliser des dilutions jusqu'à 10-3, un seul essai par dilution. Incuber 24 h à 30 ou 37°C.

#### 2ème EPREUVE:

#### Recherche des salmonelles dans un lait

A partir d'une culture d'enrichissement sur bouillon au sélénite, on a réalisé un isolement sur milieu SS. Décrire les colonies suspectes.

A partir de l'une de ces colonies réaliser une identification après examens microscopiques.

#### 3ème EPREUVE:

#### Isolement des coliformes

Isolement réalisé sur gélose EMB à partir d'une culture positive sur bouillon lactosé bilié au vert brillant. Incuber 24 h à 30 ou 37°C.

## 2ème JOUR

## Dénombrement des coliformes totaux

Déterminer le nombre de bactéries par cm<sup>3</sup> de lait. Conclure

#### Recherche des salmonelles dans un lait

Résultat de l'identification. Conclusion.

## Isolement des coliformes

Aspect des colonies isolées. Orientation

## SUJET I

#### 1er JOUR

#### ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON DE LAIT EN POUDRE

#### 1ère EPREUVE:

Dans l'échantillon de lait en poudre reconstitué qui est fourni, dénombrer les Clostridium sulfito-réducteurs dans le produit pur et ses dilutions 10-1, 10-2.

#### 2ème EPREUVE:

Lors de la recherche des coliformes dans ce lait, un des tubes de bouillon bilié lactosé au vert brillant s'est révélé positif.

A partir de ce tube, effectuer:

- un isolement sur milieu Eosine Bleu de méthylène
- un test de Mackenzie (ou un test équivalent en milieu liquide)

#### 3ème EPREUVE:

Recherche des bactéries pathogènes dans ce lait en poudre.

Une souche pure de bactéries, isolée de ce lait, est présentée sur une gélose nutritive. Réaliser les tests et les ensemencements nécessaires à l'orientation et à l'identification de cette bactérie.

#### 2ème JOUR

#### 1ère EPREUVE:

Dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs:

- lecture
- description des colonies
- conclusion

#### 2ème EPREUVE:

Lecture des ensemencements réalisés (isolement EMB, test de Mackenzie ou équivalent)
Conclusion.

## 3ème EPREUVE

Lecture et interprétation de la galerie d'identification ensemencée. Identification de la souche.

## SUJET - L -

#### 1er JOUR

#### 1ère EPREUVE:

## Contrôles bactériologiques d'un lait cru

Ce contrôle est effectué sur un échantillon de lait cru prélevé à la laiterie avant tout traitement.

- 1°) Epreuve de la réductase microbienne
- 2°) Numération des coliformes sur milieu solide (se limiter aux dilutions 1 - 10-1, 10-2, 10-3)
- 3°) Sur un frottis réalisé avec un lait suspect, recherchez la présence de mycobatéries.
- 4°) On a réaliser à partir du culot de centrifugation d'un lait, un enrichissement sur milieu sélénite de Leifson, en vue d'une recherche de Salmonella.

A partir de cet enrichissement sur milieu sélénite, effectuez un isolement sur le milieu de votre choix;

#### 2ème EPREUVE:

Identification d'une entérobactérie isolée d'un lait et présentée sur gélose nutritive.

#### 2è JOUR

#### 1ère EPREUVE:

- Numération des coliformes
- Lecture de l'isolement. Orientation Conclusion.

#### 2ème EPREUVE:

- Lecture de la galerie d'entérobactéries.
- Conclusion.

## **ACADEMIES DU GROUPE 2**

## SUJET Nº 1

#### 1er JOUR (durée 2 h 30)

- I- Des contrôles bactériologiques sont effectués dans une laiterie sur un échantillon de lait cru destiné au traitement thermique pour la pasteurisation.
  - a) Effectuer tout d'abord un dénombrement de la flore totale aérobie et aéro-anaérobie facultative sur gélose au lait écrémé.
     (se limiter aux ensemencements des dilutions 10-3 et 10-4).
  - b) Rechercher parallèlement la réductase microbienne par la réaction au bleu de méthylène. Conclure.
  - c) Effectuer, enfin, une coloration de Ziehl-Neelsen sur un frottis effectué à partir d'un culot de lait d'aspect normal.

    Interpréter ce résultat.
- II Sur ce même échantillon de lait, on a pratiqué un isolement d'une bactérie suspecte d'être à l'origine de troubles gastriques.

Sur cette souche fournie sur gélose nutritive

- Effectuer les examens macroscopiques et microscopiques.
- Poursuivre l'analyse en vue de l'identification des colonies après avoir établi la liste des milieux nécessaires et l'avoir remise au jury.
- Faire un compte-rendu des manipulations et observations effectuées.

#### 2ème JOUR (durée 1 h 30)

- I- Contrôle sur un échantillon de lait cru
  - dénombrement des germes totaux
  - interprétation finale des résultats
- II Identification de la bactérie isolée du lait cru:

Identifier la souche bactérienne, responsable des troubles gastriques, après avoir réalisé les tests biochimiques nécessaires.

## SESSION 1986

# Sommaire

A2 Philosophie: 86 - 2

A3 Physiologie et Chimie: 86 - 3

B1 Biochimie: 86 - 10

B2 Techniques du Laboratoire de

Biochimie: 86 - 14

B3 Microbiologie et Techniques du Laboratoire de

Microbiologie: 86 - 18

A6 Physique et Mathématique: 86 - 20

B4 T.P. de Biochimie: 86 - 24

B5 Préparation et Montage: 86 - 34

B6 T.P. de Microbiologie: 86 - 41

# **A2 PHILOSOPHIE**

## ACADEMIES DU GROUPE 1

#### 1er SUJET

Peut-il y avoir un mauvais usage de la raison?

#### 2º SUIET

Dans quelle mesure l'homme occupe-t-il une place particulière dans la nature?

#### 3° SUJET

Il ne serait pas raisonnable de croire que les peuples se sont d'abord jetés entre les bras d'un maître absolu sans conditions et sans retour, et que le premier moyen de pourvoir à la sûreté commune qu'aient imaginé des hommes fiers et indomptés a été de se précipiter dans l'esclavage. En effet, pourquoi se sont-ils donnés des supérieurs, si ce n'est pour les défendre contre l'oppression et protéger leurs biens, leurs libertés et leurs vies, qui sont, pour ainsi dire, les éléments constitutifs de leur être? Or, dans les relations d'homme à homme, le pis qui puisse arriver à l'un étant de se voir à la discrétion de l'autre, n'eût-il pas été contre le bon sens de commencer par se dépouiller entre les mains d'un chef des seules choses pour la conservation desquelles ils avaient besoin de son secours? Quel équivalent eût-il pu leur offrir pour la concession d'un si beau droit? Et s'il eût osé l'exiger sous le prétexte de les défendre, n'eût-il pas aussitôt reçu la réponse: « Que nous fera de plus l'ennemi? » Il est donc incontestable, et c'est la maxime fondamentale de tout le droit politique, que les peuples se sont donné des chefs pour défendre leur liberté et non pour les asservir. « Si nous avons un prince, disait Pline à Trajan (1), c'est afin qu'il nous préserve d'avoir un maître. »

(1) Trajan: empereur romain

JEAN-JACQUES ROUSSEAU.

#### Questions:

- 1 Quelle est l'idée générale du texte ? Précisez, en respectant la structure logique de ce texte, les étapes de son argumentation.
- 2 Expliquez: « un maître absolu »; « se voir à la discrétion de l'autre »; « quel équivalent (...) pour la concession d'un si beau droit »; « la maxime fondamentale de tout le droit politique ».
- 3-Essai personnel: Comment comprenez-vous la différence que Pline établit entre un « prince » et un « maître », et qu'est-ce qui permet, selon vous, à un peuple d'éviter que le prince ne devienne un maître?

# A3 PHYSIOLOGIE ET CHIMIE

#### **ACADEMIES DU GROUPE 1**

#### PHYSIOLOGIE

#### 1er SUJET Physiologie neuromusculaire

#### I - Physiologie du nerf

Pour préciser les caractéristiques de la propagation du message nerveux, on porte, sur un nerf sciatique de grenouille, une stimulation supérieure au seuil d'excitation et on enregistre l'activité électrique selon les indications de la figure 1.

Dans chacune des quatre expériences illustrées par cette figure, le stimulus unique présente les mêmes caractéristiques; par contre la distance séparant les électrodes stimulatrices des électrodes réceptrices est de plus en plus grande.

I-1 Analysez les tracés a, b, c, d.

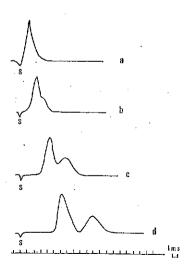
#### Figure 1

Dispositifs d'enregistrement

S: électrodes de stimulation OC: oscillographe cathodique

# S d2 R1 R2 à potentiel fixe d1 · 25 mm . S d2 · 60 mm . S d3 · 85 mm . R1 . 26 mm . R2 . S d4 · 150 mm . R1

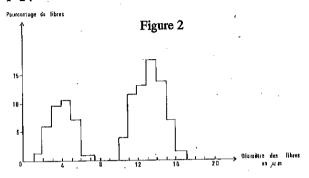
#### Enregistrements



I-2 Les fibres nerveuses du nerf sciatique de la grenouille n'ont pas toutes le même diamètre.

Leur distribution (ou pourcentage de fibres de même diamètre) est exprimée par la figure 2.

- Analyser la figure 2.
- Quelle relation peut-on trouver entre les résultats obtenus en I 1 et ceux en I 2?



I-3 Comment peut-on mesurer les vitesses de conduction de l'influx? Quelles sont les valeurs obtenues?

#### II - Transmission neuromusculaire.

Présentez un schéma soigneusement annoté d'une synapse neuromusculaire et expliquez le fonctionnement d'une telle synapse.

#### III - Physiologie du muscle.

On porte sur un muscle strié squelettique quatre stimulations d'intensité croissante (1, 2, 3, 4) et, pour chacune, on enregistre à l'intérieur de la fibre musculaire, la variation de la teneur en ions calcium libres, ainsi que, simultanément, par l'intermédiaire d'un myographe, les réponses mécaniques du muscle. La figure 3 présente les résultats obtenus.

III - 1 Analysez ces enregistrements. Quelle relation peut-on établir entre les deux phénomènes?
Justifier votre réponse.

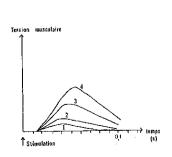


Figure 3

Ca<sup>2\*</sup> libres

\*\*Stimulation 91 [45]

III - 2 Par une technique histochimique, on peut suivre les variations de composition chimique des fibres musculaires sur des coupes transversales de tels muscles. A cette fin on utilise, d'une part, un colorant spécifique du glycogène et, d'autre part, un colorant spécifique de l'adénosine triphosphate.

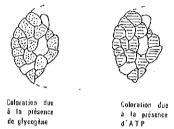
Les documents de la figure 4 montrent l'aspect de telles coupes:

- pour une portion de faisceau de fibres musculaires au repos (figure 4a),
- pour une portion de faisceau de fibres musculaires après excitations répétées d'une seule des fibres du nerf afférent à ce muscle (figure 4b).

Analysez et expliquez ces résultats.

Figure 4





 a) Coupes transversales partielles d'un muscle strié au repos b) Coupes transversales partielles
 d'un muscle strié après activité

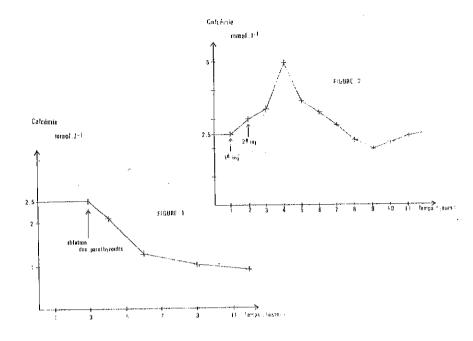
#### 2 cmc SUJET Le calcium dans l'organisme

La calcémie est une constante du milieu intérieur. Le calcium est utilisé par les cellules, notamment par les cellules musculaires.

- I- Des expériences pratiquées sur des lapins permettent d'étudier le rôle des glandes parathyroïdes et de la thyroïde dans le maintien de la calcémie.
  - I Rôle des glandes parathyroïdes dans le maintien de la calcémie.

#### Expériences:

- Expérience 1: On pratique l'ablation des parathyroïdes et on suit l'évolution de la calcémie en fonction du temps. Les résultats sont portés sur la figure 1.
- Expérience 2: On injecte à un animal normal des extraits parathyroïdiens et on suit l'évolution de la calcémie en fonction du temps (figure 2).
- Expérience 3: On observe les mêmes résultats que dans l'expérience 2 en injectant le liquide dans lequel on a maintenu en état fonctionnel des parathyroïdes isolées.



#### Questions

- I-1.1 Interpréter chacune de ces expériences.
- I-1.2 Proposer une autre expérience permettant d'obtenir des résultats en accord avec ceux des expériences 2 et 3?

#### I-2 Rôle de la thyroïde dans le maintien de la calcémie

#### Expériences

- Expérience 4: On réalise une prise de sang chez un lapin A soumis à un régime riche en calcium et on injecte immédiatement ce sang à un lapin B dont la calcémie est normal: on constate une baisse de concentration en calcium sanguin.
- Expérience 5: On obtient le même résultat si on injecte à un lapin normal une substance extraite des cellules de la thyroïde.

Questions: Analyser ces résultats. Que peut-on en déduire quant au rôle de la thyroïde dans le maintien de la calcémie?

#### I - Rôle des reins dans le maintien de la calcémie.

#### II - 1 Relation entre calcémie et calciurie

Le tableau suivant présente les valeurs de la calciurie observées chez un homme pour différentes valeurs de la calcémie.

Calcémie en mmol.1-1	Calciurie en mmol.1-1
< 1,75	0
1,75 à 2,50	traces à 2,5
2,50 à 3	2,50 à 3,75
>3	> 3,75

Par ailleurs, on sait qu'il se forme 170 litres de filtrat glomérulaire en 24 heures et que le volume moyen d'urine excrétée est de 1,5 litre en 24 heures.

- II-1.1 Déduire de ces données les mécanismes mis en jeu au niveau des reins pour éliminer le calcium.
- II-1.2 Quelle est la contribution des reins dans le maintien de la calcémie?

#### II-2 Action des parathyroïdes sur l'excrétion rénale du calcium.

#### Observations expérimentales:

- L'injection d'extraits parathyroïdiens, entraîne une diminution rapide de la calciurie parallèlement à l'augmentation de la calcémie.
- L'ablation des parathyroïdes chez un chien entraîne une augmentation de la calciurie parallèlement à la diminution de la calcémie.

#### Questions

Analyser ces résultats.

Quelle étape de la formation de l'urine, déterminant la calciurie, semble contrôlée par les parathyroïdes? (Justifier la réponse)

- Rôle du calcium dans la contraction musculaire

#### Observations expérimentales:

- On constate que l'arrivée d'un influx nerveux à la surface d'une cellule musculaire striée fait augmenter brusquement la concentration en calcium dans le hyaloplasme et que, parallèlement, la concentration en calcium dans le réticulum sarcoplasmique diminue.
- Pendant la phase de relâchement d'une fibre musculaire striée, les variations de concentration en calcium s'inversent par rapport aux observations décrites précédemment.
- L'activité ATPasique de la myosine augmente en présence d'une quantité importante de calcium dans le hyaloplasme, alors qu'elle est nulle en absence de calcium.

Question A partir de ces résultats, expliquer le rôle du calcium dans les phases de contraction et de relâchement d'une fibre musculaire squelettique.

#### **CHIMIE**

#### I-SOLUBILITES, COMPLEXES

Les produits de solubilités de AgBr et AgCl à 25 ° C sont respectivement  $Ks = 10^{-12}$ ,  $Ks' = 10^{-10}$ , les concentrations étant exprimées en mol. dm<sup>-3</sup>

- I 1 Calculer en mol. dm -3 la solubilité de chacun des sels.
- I-2 On introduit progressivement de la poudre de nitrate d'argent dans une solution contenant à la fois NaCl et NaBr tous deux à la concentration de 0,10 mol.dm<sup>-3</sup>. Quel est celui des deux sels qui précipite le premier. Pourquoi?
- I-3 Quelle est la concentration en Br quand le second sel commence à précipiter.
- I-4 Le précipité AgCl peut être « dissous » par addition d'une solution d'ammoniac.
   Il donne le complexe [Ag (NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] + de constante de dissociation K<sub>D</sub> = 6 × 10-8 à 25 ° C.
   On veut dissoudre 0,10 mol de AgCl dans 1,0 l de solution d'ammoniac.
   Quel doit être la concentration minimale de la solution d'ammoniac, pour que cette « dissolution » du chlorure d'argent soit effective. (Cette question est indépendante des précédentes).

#### II - OXYDO-REDUCTION

- II-1
- II 1.1 En milieu acide, MnO<sub>4</sub>-, peut agir comme oxydant sur certains réducteurs. Ecrire l'équation de réduction et MnO<sub>4</sub>- en Mn<sup>2+</sup>, en milieu acide.
- II 1.2 On réalise une demi-pile en plongeant une lame de platine dans une solution de permanganate de potassium, de sulfate de manganèse II et d'acide sulfurique telle que:

$$\begin{bmatrix} MnO_4 \end{bmatrix} = 0,1 \text{ mol.dm}^3$$
 
$$\begin{bmatrix} Mn^{2+} \end{bmatrix} = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$$
 Quel est le potentiel d'électrode ? 
$$E_0 MnO_4 / Mn^{2+} = 1,52 \text{ V à pH} = 0.$$

- II-2 Une deuxième pile est constituée d'une plaque de fer plongeant dans une solution de sulfate de fer II, de concentration inconnue; écrire l'équation d'oxydation de Fe en Fe<sup>2+</sup>.
- II 3 Pour déterminer la concentration en Fe<sup>2+</sup>, on associe l'électrode décrite au II 2 avec l'électrode du II 1.2. Un voltmètre de qualité nous donne la valeur de la fem de la pile ainsi réalisé:
  E = 1,69 V.
  - II 3.1 Faire le schéma de la pile.
  - II 3.2 Le pôle + de la pile étant l'électrode de platine, écrire l'équation de la réaction rédox correspondant au fonctionnement de la pile.

II - 3.3 Quelle est la concentration de la solution de sulfate de fer II, on donne:  $E^{\circ}_{Fe^{2+}/Fe} = -0.44 \text{ V}.$ 

#### III - ACIDE BASE

- III 1 Une solution d'acide méthanoïque de concentration 10-1 mol.dm-3 à un pH égal à 2,4.
  - III-1.1 Ecrire l'équation de la réaction de l'acide méthanoïque sur l'eau.
  - III 1.2 Calculer les concentrations de toutes les espèces chimiques en solution. En déduire le  $pK_n$  du couple acidobasique considéré,
  - III-1.3 Quel est le degré de dissociation de l'acide méthanoïque dans cette solution?
- III 2 A 40 cm³ d'acide méthanoïque 10-1 mol.dm³, on ajoute 10 cm³ de méthanoate de sodium 10-1 mol.dm³.
  - III 2.1 Calculer la concentration de l'ion Na<sup>+</sup> dans la solution.
  - III 2,2 Quelles sont les concentrations de HCOO et HCOOH en solution?
  - III 2.3 En déduire le pH du mélange.

Les approximations seront justifiées.

NB: TOUTE FORMULE UTILISEE DEVRA ETRE DEMONTREE

## **B1 BIOCHIMIE**

#### ACADEMIES DU GROUPE 1

#### I- Propriétés des enzymes

Voici le nom de plusieurs enzymes:

- a phosphomonoestérase,
- b phosphoglucose phosphotransférase ou phosphoglucomutase
- c acyl-CoA synthétase,
- $d \beta$  -galactosidase,
- e hexokinase,
- f succinate déshydrogénase,
- g phosphotriose isomérase,
- h lactate déshydrogénase,
- i alanine aminotransférase ou glutamate pyruvate transaminase.
- I-1 Classer ces enzymes dans chacune des cinq catégories suivantes: oxydoréductases, transférases, hydrolases, isomérases, synthétases, en définissant le type de réaction catalysée dans chaque catégorie.

#### Pour chaque catégorie:

- écrire sous forme chimique l'équation de la réaction catalysée par l'une des enzymes citée ci-dessus.
- définir les caractères de spécificité de cette enzyme.
- I-2 L'enzyme h utilise le coenzyme pyridinique NAD+.

L'enzyme i utilise le coenzyme phosphopyridoxal.

Ces deux coenzymes se différencient par leur mode de liaison avec l'apoenzyme e par leur rôle. Préciser ces modes de liaison et expliquer le rôles de ces coenzymes.

I-3 Expliquer de quelle façon les enzymes permettent d'accélérer les vitesses de réaction Définir le site actif et montrer son importance.

# II - Dosage de l'activité d'un extrait enzymatique de l'alanine aminotransférase (alat) ou glutamate - pyruvate transaminase (gpt)

Le foie est un organe riche en ALAT. A partir d'une masse m = 1,261 g de foie, on a préparé 10 cm<sup>3</sup> d'extrait enzymatique. Cet extrait est dilué au 1/10 pour le dosage.

Le mélange réactionnel est préparé comme suit :

- Solution tampon pH 7,4
- cx cétoglutarate (ou 2-oxo-glutarate)
- alanine
- NADH
- lactate déshydrogénase (LDH)

2 cm³ préincubés à 25°C et placés dans une cuve spectrophotométrique de 1 cm de trajet optique.

Au temps zéro, on rajoute  $0.5~\rm cm^3$  d'extrait dilué au  $1/10~\rm et$  préincubé à  $25~\rm C$ . Après agitation, on suit l'évolution de l'absorbance à  $340~\rm nm$ :

<sup>t</sup> min	1	2	3	4
A <sub>340 nm</sub>	0,50	0,36	0,22	0,12

- II-1 Ecrire la succession des deux réactions se produisant (formules non demandées) en précisant quelle enzyme catalyse chaque réaction. Quel est l'intérêt de la deuxième réaction? Justifier le choix de la longueur d'onde à laquelle est effectuée la mesure, en présentant les propriétés spectrales du coenzyme utilisé.
- II-2 Expliquer le rôle du tampon et le rôle de la température, à l'aide de courbes justificatives interprétées de façon précise.
- II-3 Tracer sur papier millimétré la courbe : absorbance à 340 nm en fonction du temps.
- II-4 Pour pouvoir déterminer l'activité de l'ALAT hépatique à partir de cette expérience, indiquer:
  - laquelle des deux réactions doit présenter la vitesse limitante ?
  - comment doivent être les concentrations en substrats ? (justifier les réponses). Montrer, alors, que la variation d'absorbance lue est proportionnelle à la variation de concentration en substrat dans le mélange réactionnel et en déduire la formule littérale exprimant la vitesse de la réaction en fonction de la variation d'absorbance.
- II-5 Interpréter avec soin l'allure de la courbe tracée.
- II 6 Calculer la concentration d'activité catalytique de l'ALAT dans l'extrait, exprimée en microkatal par dm³, puis l'activité ALAT par gramme de tissu hépatique.

$$\epsilon$$
 NADH = 6,22.10<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>. dm<sup>3</sup>. cm<sup>-1</sup>,

1 katal est l'activité d'une quantité d'enzyme qui catalyse la trasformation d'une mole de substrat par seconde. II-7 Pour confirmer le diagnostic d'une hépatite, on dose l'activité ALAT du plasma. Justifier ce dosage.

#### I - FERMENTATION ALCOOLIQUE

- III-1 Fermentation du glucose et du fructose par les levures
  - III 1.1 A l'aide des données du tableau joint, écrire sous forme chimique l'ensemble des réactions de la glycolyse en partant de ces deux oses. (Les coenzymes seront notés sous forme symbolique).

**TABLEAU** 

Données pour reconstituer le schéma complet de la glycolyse.

24 1			
	Nom de l'enzyme catalysant la réaction	Type de réaction catalysée	Nom ou formule du substrat de la réaction
Réaction 1	Hexo-6-kinase	phosphorylation du substrat en 6	
Réaction 2		isomérisation aldose-cétose	
Réaction 3	phosphofructose-1-kinase	·	
Réaction 4	aldolase	rupture d'une liaison C-C	
Réaction 5	phosphotriose isomérase	isomérisation aldose-cétose	
Réaction 6		oxydoréduction phosphorylante	н С ОН Н С ОН Н С ОН Н С ОН
Réaction 7	phosphoglycérate kinase	phosphorylation du coenzyme	
Réaction 8		mutation du phosphoryl	3-phospho-glycérate
Réaction 9	énolase	élimination d'une molécule d'eau	COO - H - C - O - P H - C - OH H
Réaction 10	pyruvate kinase		

- III 1.2 Au cours de cette voie sont formés plusieurs composés à haut potentiel énergétique.
  - Les citer.
  - Définir le terme « à haut potentiel énergétique » (haut potentiel d'hydrolyse).
  - Définir la notion de couplage énergétique à partir de l'étude détaillée des réactions 6 et 7.
- III 1.3 Ecrire sous forme chimique les équations des réactions poursuivant la glycolyse pour permettre le fermentation alcoolique.
   Dans quelle condition se produira cette fermentation?
   Définir le terme de fermentation et en montrer l'intérêt pour la cellule.
- III 1.4 Etablir le bilan moléculaire et énergétique de la fermentation d'une molécule de glucose et d'une molécule de fructose par les levures.
- III- 1.5 Qu'observera-t-on si les levures sont placées dans des cuves avec système d'aération du milieu? Placer sur un schéma simplifié les voies biochimiques successives qui seront alors utilisées pour transformer le saccharose, en indiquant leur localisation cellulaire.

Quels changements subira le bilan moléculaire et énergétique de la transformation d'une molécule de glucose ou de fructose dans ces conditions?

#### III-2 Application à la production biotechnologique d'éthanol.

La production industrielle mondiale d'éthanol par voie biotechnologique représente 300 000 tonnes par an et utilise le pouvoir de fermentation alcoolique des levures du genre Saccharomyces.

Les matières premières utilisées varient selon les pays:

- A saccharose du jus de canne à sucre au Brésil
- B amidon de maïs aux USA
- C cellulose de bois au Canada.

Les étapes de production peuvent être résumées ainsi:

- libération d'oses à partir de glucide initial
- fermentation alcoolique de ces oses.

L'équipement enzymatique des levures comprend:

- saccharose et maltose perméases
- saccharase et maltase (hydrolases)

Selon la matière première utilisée, on est obligé d'ensemencer aussi par des bactéries du genre Clostridium qui sécrètent les enzymes:

- amylase, catalysant l'hydrolyse de l'amidon en diholosides,
- cellulase, catalysant l'hydrolyse de la cellulose en oses.

Pour chacune des matières premières A, B, et C:

- Indiquer avec quels microorganismes on ensemence le milieu contenant cette matière première et justifier ces choix.
- Expliquer le devenir du glucide initial jusqu'au stade des oses et préciser quels oses sont formés.

(ces équations de réaction sont à préciser mais les formules chimiques ne sont pas demandées).

# B2 TECHNIQUES DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

#### ACADEMIES DU GROUPE 1

Analyse d'un lait cru écrémé

#### I-Dosage des chlorures du lait par mercurimétrie :

- I-1 Quel est le principe de ce dosage? Ecrire les équations de réaction.
- I-2 On dispose d'une solution étalonnée de nitrate de mercure (II) de concentration égale à 20 mmol. l-1, c'est la solution A.
   Par dilution, on veut préparer, à partir de cette solution A, 50 ml de solution B de telle manière que 1 ml de cette solution corresponde à exactement 1 mg d'ions chlorure.
  - I-2.1 Quelle est la concentration de la solution B en mmol.l-1 de nitrate de mercure II?
  - I-2.2 Comment est effectué l'ajustage? Précisez le matériel à utiliser et les précautions à prendre.
- I-3 Le mode opératoire du dosage est le suivant:

Défécation du lait: dans une fiole jaugée de 100 ml, on introduit

E = 20 ml de lait

1 ml de solution d'hexacyanoferrate  $\Pi$  de potassium à 150 g.J-1

1 ml de solution d'acétate de zinc à 300 g.l-¹ on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée et on filtre après 10 min de repos.

Dosage: dans une fiole d'Erlenmeyer, on introduit:

E' = 25 ml de filtrat de lait

1 ml de solution d'acide nitrique à environ 1 mol.l-1 10 gouttes de diphénylcarbazone en solution alcoolique,

on dose avec la solution B jusqu'au virage: soit V = 4,85 ml, le volume versé.

- I-3.1 Quel est le but de la défécation du lait? Pourquoi est-elle indispensable?
- I-3.2 Quelle est la quantité d'ions chlorure (exprimée en mg) contenue dans
   E' = 25 ml de filtrat de lait?
   En déduire la concentration des ions chlorure dans le lait
  - en g.l-1
  - en mmol.l-1.

I-3.3 La teneur en chlorure est souvent exprimée en grammes de chlorure de sodium pour 100 g de lait.

Calculer cette valeur pour le lait analysé.

Données: Na =  $23 \text{ g.mol}^{-1}$ 

 $Cl = 35,45 \text{ g.mol}^{-1}$ 

masse volumique du lait analysé = 1,036 g.ml<sup>-1</sup>

#### II - Dosage colorimétrique des protéines du lactosérum par la méthode du biuret :

Le lactosérum ou « petit lait » est obtenu par égouttage du lait caillé. Il renferme principalement les albumines et globulines du lait alors que le caillé contient la caséine.

- II-1 Quel est le principe du dosage des protéines par la méthode du biuret?
- II-2 Comment détermine-t-on la longueur d'onde utilisée pour la mesure des absorbances?
- II-3 La gamme d'étalonnage est faite à partir d'une solution étalon d'albumine bovine à 10 grammes de protéines par litres. Les dilutions sont réalisées en fioles jaugées de 20 ml dans du sérum physiologiques (solution de chlorure de sodium à 9 g.l-1).
  - II-3.1 Comment préparer une gamme de dilutions de façon à obtenir des prises d'essai de 1 ml contenant respectivement:
    1 2 3 4 5 mg de protéines?
  - II-3.2 Pourquoi utilise-t-on du sérum physiologique comme solvant?
- II-4 La réaction colorée se fait de la manière suivante:

étalon: 1 ml de chacune des dilutions préalablement préparées.

essai : 1 ml de solution de lactosérum dilué au demi et, pour tous les cas, 4 ml de réactif de coloration (réactif de Gornall).

Les absorbances lues à 540 nm, après 30 min à l'obscurité, sont

pour la gamme respectivement:

0,12 0,24 0,35 0,48 0,59 pour l'essai 0,31

- II-4.1 Faire un tableau de colorimétrie résumant toutes les informations utiles.
- II-4.2 Tracer la courbe d'étalonnage sur papier millimétré.
- II 5 Calculer la concentration massique en grammes de protéines par litres de lactosérum.
- II 6 Un dosage préliminaire de l'azote total du lait par la méthode de Kjeldahl a donné le résultat suivant:

Concentration massique (N) = 5.76 g.l-1.

Déterminer la concentration massique de l'ensemble des protéines du lait sachant qu'elles referment en moyenne 15,6 % d'azote (en masse).

- II 7 Déterminer le pourcentage de protéines du lait présentes dans chaque fraction :
  - II 7.1 lactosérum
  - II 7.2 caillé.

On considérera que le volume de lactosérum obtenu par égouttage est égal au volume de lait de départ.

#### III - Détermination de l'activité phosphatasique du lait :

Le lait cru contient plusieurs enzymes dont la phosphatase alcaline.

La destruction de la flore pathogène du lait se fait habituellement par pasteurisation, c'est-à-dire par chauffage à 72 ° C, pendant quelques secondes. Cette température correspondant à l'inactivation totale de la phosphatase, le dosage de cette enzyme est une méthode de contrôle de la pasteurisation.

Une mesure de l'activité de la phosphatase alcaline du lait peut se pratiquer de la

manière suivante:

- dans un tube à essai, on introduit;
  - 5 ml de solution tamponnée (pH = 9,6) de substrat (le substrat étant le nitro-4-phénylphosphate disodique: PNPP),
- on place le tube au bain thermostaté à 37 ° C, pendant 5 minutes, puis on ajoute:
  - 1 ml de lait à tester;
- on agite et, après incubation de 30 minutes à 37 ° C, on ajoute:
  - 1 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 1 mol.1-1.

Un témoin est mené parallèlement dans les mêmes conditions avec du lait bouilli.

- III-1 Quel est le principe de ce dosage?
- III 2 Pourquoi utilise-t-on une solution tamponnée?
- III 3 Pourquoi place-t-on les tubes 5 minutes, puis 30 minutes à 37 ° C? Ces temps doivent-ils être mesurés avec précision?
- III-4 Quelle condition doit remplir la concentration de substrat pour effectuer ce dosage?
- III-5 Quelle coloration observe-t-on dans le tube essai si la réaction est positive? Ouels seraient les résultats obtenus:
  - avec du lait pasteurisé?
  - avec du lait cru?

Justifier les réponses.

- III 6 Quelle est la composition du témoin? Pourquoi la réaction est-elle négative dans ce cas?
- III-7 Comment est arrêtée la réaction enzymatique?

III-8 La quantité de paranitrophénol (nitro-4-phénol) libéré dans le tube essai réalisé avec le lait cru est de 18 microgrammes.

Calculer l'activité phosphatasique du lait analysé en unités internationales (UI) par litre de lait.

**Données:** 1 UI: 1  $\mu$  mol.min<sup>-1</sup>  $M_{\text{nitro-4-phénol}} = 139 \text{ g.mol}^{-1}$ 

# B3 MICROBIOLOGIE ET TECHNIQUES DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

#### **ACADEMIES DU GROUPE 1**

#### A. MICROBIOLOGIE GENERALE

#### I - Besoins nutritionnels d'une bactérie

Afin d'étudier les besoins nutritionnels de 3 souches A, B et C, on les ensemence sur les 3 milieux suivants:

- milieu 1: , mileu de base

 $K_2H ext{ PO}_4$  = 1 g  $NO_3 ext{ K}$  = 0,5 g  $Mg ext{ SO}_4$ ,  $7_20$  = 0,2 g  $CaCl_2$  = 0,1 g NaCl = 0,01 g  $FeCl_3$  = 0,01 g Eau distillée = 1 l

- . On ajoute à ce milieu de base stérilisé à l'autoclave, 1 g de glucose stérile.
- milieu 2: milieu 1 (base + glucose) + 4 g d'hydrolysat de caséine.
- milieu 3 : milieu 1 (base + glucose) + 4 g d'hydrolysat de caséine + 2 g d'extrait de levure.

Les résultats obtenus après incubation, sont les suivants:

•	milieu 1	milieu 2	milieu 3
souche A	+	. +	
souche B	enante.	+	+
souche C	_	Section 201	

- I-1 Indiquer le rôle des constituants des milieux 1, 2 et 3.
- I-2 Déduire des résultats, les besoins nutritionnels des 3 souches A, B et C.
- I-3 Dans certains cas, une vitamine peut être dosée par son effet sur la croissance d'une bactérie.
  - a) Quelle caratéristique doit posséder la bactérie utilisée?

- b) Donner le principe du dosage.
- c) Quel est l'intérêt d'un tel dosage?

#### II - Pouvoir pathogène du bacille tétanique

- 1ère expérience: On injecte à un cobaye C<sub>1</sub> par voie sous-cutanée une culture de bacilles tétaniques. L'animal meurt en quelques jours. Après autopsie, on observe des lésions organiques, mais aucun bacille n'est trouvé en dehors du point d'inoculation.
- 2º expérience: On injecte à un cobaye C<sub>2</sub>, un filtrat stérile de culture de bacilles tétaniques. L'animal meurt en quelques jours en présentant des symptômes rappelant ceux du tétanos et des lésions voisines de celles observées dans la première expérience.
- II-1 Quelles conclusions peut-on tirer de ces deux expériences?
- II 2 Quelle est la cause du pouvoir pathogène du bacille tétanique? Donner ses propriétés.
- II 3 Une personne est atteinte du tétanos.
   Quel est le traitement utilisé pour combattre la maladie?
   Donner le principe de ce traitement.

#### B. TECHNIQUES DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

#### Recherche de streptocoques fécaux

On se propose de rechercher et dénombrer les streptocoques fécaux dans une eau de consommation par la technique de filtration.

- I-Décrire la méthode de filtration en s'aidant, éventuellement, d'un schéma de montage.
- II On filtre 50 cm³ d'eau à analyser. La membrane est déposée sur le milieu de Slanetz dont la composition est la suivante:

Hydrolysat trypsique de caséine	20,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Phosphate disodique	4,0 g
Azide de sodium	0,4 g
Chlorure de triphényltétrazolium	0.1 g
Glucose	2,0 g
Agar	10,0 g
Eau	1,01

- II-1 Indiquer le rôle de l'azide de sodium et du chlorure de triphényltétrazolium.
- II-2 Après incubation 48 h à 37°C, on observe la présence de colonies rouge violacé. Que signifie ce résultat et comment le confirmer? Que peut-on soupçonner en ce qui concerne la qualité hygiénique de l'eau?

# A6 PHYSIQUE ET MATHEMATIQUES

#### ACADEMIES DU GROUPE 1

#### A. Physique

#### I - RADIOACTIVITE

Dans cet exercice, les constantes suivantes seront utiles.

Constante de Planck: h = 6,62.10-34 J.s

Célérité de la lumière dans le vide: c = 3.108 m.s-1

Charge élémentaire:  $e = 1,6.10^{-19}$  C

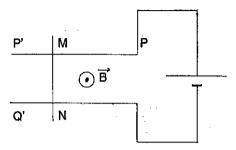
On donne aussi le tableau suivant:

Nom de l'élément	Symbole	Numéro atomique
Mercure	Hg	80
Thallium	TÌ	81
Plomb	Pb	82
Bismuth	Bi	83
Polonium	Po	84
Astate	At	85

- I-1 Il existe de nombreux isotopes radioactifs du Bismuth, leur nombre de masse étant compris entre 209 et 214. Donner les nombres minimal et maximal de neutrons pour le Bismuth.
- I-2 Une partie des atomes  $^{214}_{83}$  Bi subissent une radioactivité $\beta$ . Ecrire l'équation de la réaction.
- I-3 L'autre partie des mêmes atomes subit une radioactivité  $\alpha$ . Ecrire l'équation de la réaction.
- I-4 L'émission des particules α s'accompagne généralement d'un autre rayonnement. Préciser lequel. Quelle est sa cause. Quelle est sa nature?
- I-5 L'analyse de ce rayonnement montre l'existence de plusieurs raies dont la plus intense a une énergie de 0,49 Me V. Calculer sa longueur d'onde.
- I-6 L'isotope  $^{214}_{83}$  Bi possède une période radioactive de 20 min. Si l'on considère  $10^{-3}$  g de cet isotope, quelle masse en reste-t-il au bout de 10 minutes? au bout d'un jour?

#### II - ELECTROMAGNETISME

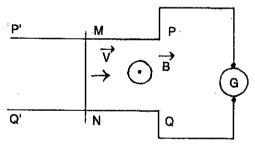
Deux rails métalliques, parallèles, horizontaux, de résistance négligeable, PP' et QQ', sont reliés à un générateur de courant continu. Sur ces deux rails, une tige métallique MN peut glisser sans frottement, en restant perpendiculaire aux rails. L'ensemble est plongé dans un champ magnétique uniforme perpendiculaire au plan des rails.



- II 1 Indiquez le sens du courant. Précisez la direction et le sens de la force électromagnétique qui s'exerce sur MN.
- II 2 Calculez la norme de cette force.

AN: ||B|| = 0.5 T; I = 5 A; MN = 0.1 m

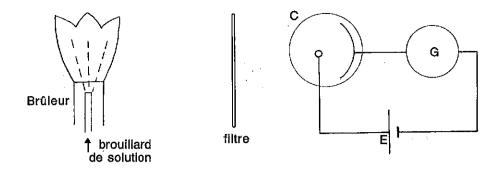
- II 3 La direction du vecteur champ magnétique B a tourné d'un angle de 30° autour de QQ'. Précisez de nouveau la direction et le sens de la force qui s'exerce sur MN et calculez sa norme.
- II 4 Le champ magnétique est à nouveau celui défini au II 1 et II 2. Le générateur est remplacé par un galvanomètre. MN est déplacé d'un mouvement uniforme vers la droite de 0,10 m en 0,10 s.



- II 4.1 Indiquez le sens du courant induit dans le circuit. Justifiez,
- II 4.2 Enoncez la relation donnant E, la force électromotrice moyenne, en fonction de ||B||, MN et ||V||. (v est la vitesse de déplacement de MN) Calculez E.

#### III - PHOTOMETRIE DE FLAMME

On dose le sodium d'une solution par photométrie de flamme. Schématiquement l'appareil peut être représenté de la façon suivante.



- III-1 Expliquez quel phénomène atomique se produit lorsque la solution est vaporisée dans la flamme. Quelles sont la nature et la fonction du dispositif électrique C, G, E du circuit électrique.
- III 2 On dispose de filtres marqués: Na, Ca, Li, K. Lequel doit-on utiliser? Justifiez votre réponse.
- III-3 Quel est l'ordre de grandeur des concentrations déterminées?

#### MATHEMATIQUES

#### 1er exercice

Soit f fonction numérique définie par  $f(x) = \frac{x^2 + 3}{x + 1}$ 

- 1°) Déterminer l'ensemble de définition de f
- 2°) Vérifier que, pour tout x de l'ensemble de définition,  $f(x) = x 1 + \frac{4}{x+1}$
- 3°) Etudier les variations de la fonction f
- 4°) On appelle ( $\mathscr{C}$ ) la courbe représentative de la fonction f dans le plan rapporté à un repère orthonormé (O,  $\vec{l}$ ,  $\vec{j}$ ) avec  $||\vec{l}|| = ||\vec{j}|| = 1$  cm
  - a) Démontrer que la droite ( $\Delta_1$ ) d'équation y = x -1 est asymptote à la courbe ( $\mathscr C$ ).
  - b) Démontrer que la droite ( $\Delta_2$ ) d'équation x = -1 est asymptote à la courbe ( $\mathscr{C}$ ).
- 5°) Tracer la courbe (8).

- 6°) On considère la fonction g définie sur ]-1;  $+\infty$  [ par g (x) = 4 ln (x + 1), où ln désigne le logarithme népérien.
  - a) Déterminer la fonction dérivée de g.
  - b) En déduire une fonction primitive F de f sur ]-1;  $+\infty$  [

2º exercice

On sait que la tension u aux bornes d'un générateur qui débite dans un circuit vérifie une loi : u=E-Ri

u étant la différence de potentiel exprimée en volts E la force électromotrice exprimé en volts R la résistance interne du générateur exprimée en ohms i l'intensité du courant exprimée en ampères

En faisant varier un rhéostat, on a obtenu le tableau statistique suivant donnant les valeurs in de l'intensité et un de la différence de potentiel au cours de la ne expérience.

i <sub>n</sub> en ampères	1	2	3	4	5	6
u <sub>n</sub> en volts	36	28	22	16	10	5

1°) Représenter graphiquement cette série statistique ( $i_n$ ,  $u_n$ ) dans un repère orthogonal dont les unités sont:

en abscisses:

3 cm pour 1 ampère 5 cm pour 10 volts

en abscisses: en ordonnées:

- 2°) Calculer le coefficient de corrélation linéaire de la série (i<sub>n</sub>, u<sub>n</sub>). Donner une interprétation du résultat.
- 3°) Déterminer par la méthode des moindres carrés une équation de la droite de régression de u en i. Représenter cette droite par le repère précédent. En déduire la force électromotrice du générateur E et sa résistance interne R.
- 4°) Donner une estimation de u pour i = 3,75 ampères.

N.B.: Tous les calculs et les formules utilisées devront figurer sur la copie.

## **B4 T.P. DE BIOCHIMIE**

#### ACADEMIES DU GROUPE 1

#### 1er SUJET

#### I - Dosage du lactose dans la poudre de lait maternisé: méthode de Bertrand

Le candidat dispose d'une solution lactée à 16 g de poudre de lait par dm<sup>3</sup>.

#### I-1 Défécation du lait

Dans une fiole jaugée de 100 cm3, introduire dans cet ordre:

- 50 cm³ de solution lactée
- 2 cm<sup>3</sup> de solution d'acétate de zinc
- 2 cm<sup>3</sup> de solution d'hexacyanoferrate II de potassium
- de l'eau distillée q.s.p. 100 cm<sup>3</sup>

Filtrer la solution obtenue sur filtre sans cendre

#### I-2 Oxydation du lactose et lavage du précipité de Cu<sub>2</sub>O

Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire:

- 20 cm<sup>3</sup> de solution cuivrique (A)
- 20 cm³ de solution tartro-sodique (B)
- E=10 cm³ de filtrat de défécation
- 10 cm3 d'eau distillée
- Agiter. Porter à ébullition douce et maintenir celle-ci pendant 3 minutes exactement
- Laisser reposer; le surnageant doit être bleu
- Préparer et laver un filtre d'Allihn (verre fritté, porosité 4)
- Laver le précipité par décantation, à l'eau distillée bouillie, en évitant tout contact avec l'air
- Répéter les lavages jusqu'à obtention d'un surnageant incolore (au moins 3 fois)

#### I-3 Réoxydation du Cu<sub>2</sub>O et dosage du sel de fer II formé

- Laver la fiole à vide
- Dissoudre dans la fiole d'Erlenmeyer le précipité de Cu<sub>2</sub>O par 20 ml de solution de sulfate de fer III acide
- Verser cette solution sur le filtre

- -Rincer à 2 reprises avec 10 cm<sup>3</sup> de solution de fer III acide.
- Faire passer sur le filtre.
- Rincer à l'eau distillée bouillie.
- Refroidir.
- Doser au moyen de la solution de permanganate de concentration molaire connue (voisine de 20 mmol.dm<sup>-3</sup>) jusqu'à coloration stable 20 secondes environ.
- N.B.: 2 dosages seront effectués à partir du même filtrat. Entre chaque dosage, laver toute la verrerie avec une solution d' HCl au 1/2, puis 2 fois à l'eau distillée.

# II - Dosage des phosphates dans la poudre de lait maternisé par la méthode de Briggs II - 1 Etalonnage de l'appareil

#### II-1-1 Réalisation de la gamme colorimétrique

- a A partir d'une solution étalon mère à 1 g de phosphore par litre, préparer 50 cm³ d'une solution étalon fille à 20 mg de phosphore par dm³.
- b Réaliser la gamme colorimétrique suivante :

Tube n°	0	1	2	3	4	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	$C_2$
Solution fille (en cm³)	0	1	2	3	4	2 cm³ de filtrat	2 cm <sup>3</sup> de filtrat	2 cm <sup>3</sup> de C	2 cm <sup>3</sup> de C
Eau distillée (en cm³)	6	5	4	3	2	5	5	5	5
ATCA (en cm <sup>3</sup> )	1	1	1	1	1	Ö	0	0	0
Réactif molybdique (en cm³)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Hydroquinone (en cm³)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Sulfite de sodium (en cm³)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tube de P/tube (en µg)									

#### II-1-2 Lecture de la gamme

Après 30 min de repos, lire chacun des tubes au spectrophotomètre, contre le tube 0, à une longueur d'onde de 720 nm.

#### II-2 Dosage

#### II-2-1 Précipitation des protéines

Dans un tube à essai, introduire:

- 10 cm3 de la solution lactée précédente
- 10 cm³ d'ATCA (acide trichloracétique).
- Bien mélanger.
- Filtrer sur filtre sans cendre.

#### II - 2 - 2 Dosage colorimétrique

Opérer sur 2 cm<sup>3</sup> de filtrat (deux essais  $E_1$  et  $E_2$ ).

#### II-3 Contrôle à l'aide d'une solution étalon C de phosphates

- II 3 1 Préparer une solution C par pesée de dihydrogénophosphate de potassium de la façon suivante:
  - peser exactement environ 110 mg de dihydrogénophosphate de potassium,
  - dissoudre complètement dans de l'eau distillée, compléter à 100 cm³,
  - diluer au 1/10.
- II-3-2 Réaliser le dosage colorimétrique sur 2 cm<sup>3</sup> de la solution C (deux essais  $C_1$  et  $C_2$ ).

#### III - Expression des résultats

III-1 Calculer au moyen de la table jointe, la concentration massique de la solution lactée, en lactose.

En déduire la masse de lactose par gramme de poudre de lait (titre massique)

#### III - 2 Teneur en phosphates:

- a Construire la courbe d'étalonnage sur papier millimétré.
- 5 Déterminer: la quantité de phosphore contenue dans les tubes « essais ».
   la masse de phosphore par gramme de poudre de lait
- c Calculer la concentration p de la solution C donnée par la colorimétrie. Commenter le résultat.

**Données:**  $P = 31 \text{ g.mol}^{-1}$   $H = 1 \text{ g.mol}^{-1}$   $O = 16 \text{ g.mol}^{-1}$  $K = 39.1 \text{ g.mol}^{-1}$ 

#### TABLEAU DE CORRESPONDANCE

#### KMnO<sub>4</sub> 0,02 mol/dm<sup>3</sup> - Lactose hydraté (Méthode de Bertrand)

KMnO <sub>4</sub>	LACTOSE	KMnO <sub>4</sub>	LACTOSE HYDRATE	KMnO <sub>4</sub>	LACTOSE
0,02 mol.dm <sup>-3</sup>	HYDRATE	0,02 mol.dm <sup>-3</sup>		0,02 mol.dm <sup>-3</sup>	HYDRATE
cm <sup>3</sup>	mg	cm <sup>3</sup>	mg	cm <sup>3</sup>	mg
3,2	14,9	9,0	43,6	8	73,6
4	15,8	2	44,6	15,0	74,7
6	16,9	4	45,6	2	75,7
8	17,8	6	46,7	4`	76,8
4,0	18,8	8	47,7	6	77,8
2	19,8	10,0	48,7	8	78,9
4	20,7	2	49,7	16,0	80,0
6	21,7	. 4	50,7	2	81,0
. 8	22,7	6	51,8	4	82,1
5,0	23,6	. 8	52,8	6	83,2
2	24,6	11,0	53,8	8	84,3
4	25,6	2	54,8	17,0	85,4
6	26,6	4	55,8	2	86,4
8	27,6	6	56,9	4	87,5
6,0	28,5	8	57,9	6	88,5
2	29,5	12,0	58,9	8	89,6
. 4	30,5	2	60,0	18,0	90,7
6	31,5	4	61,0	2	91,7
8	32,5	.6	62,1	4	92,8
7,0	33,5	8	63,1	6	93,9
2	34,5	13,0	64,2	. 8	95,0
4	35,5	2	65,2	19,0	96,1
6	36,5	4	66,3	2	97,1
8	37,5	6	67,3	4	98,2
8,0	38,5	8	68,4	6	99,3
2	39,5	14,0	69,4	8	100,4
4	40,5	2	70,5	20,0	101,5
6	41,6	4	71,5	2	102,6
8	42,6	6	72,6	4	103,7
	<u> </u>		<u> </u>	6	104,9
	•		<u> </u>		·

#### FEUILLE DE RESULTATS

#### I - Dosage du lactose dans la poudre de lait

	· 1er essai	2ème essai
V <sub>MnO<sub>4</sub></sub> - (cm <sup>3</sup> )		

Concentration massique de la solution lactée, en lactose.

Calcul:

Masse de lactose par gramme de poudre de lait.

Calcul:

#### II - Dosage des phosphates dans la poudre de lait

n° du tube	0	1	2	3	4	$\mathbf{E}_1$	E <sub>2</sub>	$\mathbf{C_1}$	$C_2$
Quantité de P/tube en μg									
Absorbance (à 720 nm)									

Joindre la courbe d'étalonnage du colorimètre de cette feuille.

- Masse de phosphore par gramme de poudre de lait

Calcul:

- Concentration massique en phosphore de la solution C.
  - Masse de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pesée, m =
  - Calcul

#### 2º SUJET

Dosage de l'éthanol et du glucose dans un filtrat de fermentation (Solution S)

#### I - Dosage de l'éthanol par oxydation sulfochromique

#### I-1 Distillation: (deux essais)

L'appareil à distiller comprend un ballon de 250 ml, une colonne à distiller, un réfrigérant et un allonge droite. L'allonge trempe dans une fiole jaugée de 250 ml placée dans un bécher plein d'eau froide.

Introduire 50 ml de la solution S dans le ballon, 50 ml d'eau distillée et quelques grains de pierre ponce.

Brancher le réfrigérant et distiller 70 à 80 ml de solution (la fiole jaugée étant remplie au préalable avec 150 à 160 ml d'eau distillée). Rincer ensuite l'allonge et ajuster à 250 ml.

#### I-2 Oxydation chromique (deux essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri de 500 ml, introduire:

- 20 ml de solution de dichromate de potassium
- 10 ml d'acide sulfurique concentré (dangeureux)

#### LUNETTES DE SECURITE

Verser l'acide sulfurique à l'aide d'une éprouvette, lentement et en agitant. Refroidir au fur et à mesure. Lorsque le mélange est suffisamment froid (environ 20° C), ajouter:

- 10 ml de distillat alcoolique

Boucher, agiter doucement, attendre 15 à 20 minutes que l'oxydation soit totale.

#### I-3 Dosage de l'excès de solution chromique

#### Ajouter ensuite:

- 300 à 350 ml d'eau distillée
- 30 ml d'acide phosphorique pur
- -20 gouttes d'indicateur (diphénylaminosulfonate de baryum: indicateur rédox)

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à coloration au vert franc. Soit  $V_1$  ml versé.

#### I-4 Dosage de la solution de sel de Mohr (deux essai)

#### Opérer sur:

- 10 ml de solution de dichromate
- 5 ml d'acide sulfurique concentré
- 150 ml d'eau distillée
- 15 ml d'acide phosphorique pur
- 20 goutte d'indicateur rédox

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à coloration au vert franc. Soit  $V_2$  ml versé.

#### II - Dosage du glucose par méthode enzymatique

#### II - 1 Etalonnage de l'appareil

#### II-1.1 Préparation de la gamme étalon

- Préparer, par pesée exacte de glucose pur et anhyre, 100 ml de solution étalon contenant 4 g de glucose par litre.
- Préparer une gamme de solutions étalons dont les concentrations sont comprises entre 0,5 et 4 g de glucose par litre. Utiliser de l'eau distillée pour réaliser ces dilutions.

#### II-1.2 Réaction colorée

Mélanger - 0,1 ml de solution étalon préalablement diluée au 1/20

- 1 ml de réactif à la glucose-oxydase

Laisser reposer 20 minutes à la température du laboratoire et réaliser la lecture des absorbances à 550 nm dans les 30 minutes qui suivent.

#### II-2 Dosage du glucose dans la «solution S» (deux essais)

Traiter comme précédemment 0,1 ml de solution S préalablement diluée au 1/20.

Soit A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> les absorbances mesurées à 550 nm.

- III-1 Calculer la concentration massique en éthanol de la solution S en g.I-1,
- III-2 Calculer la concentration massique en glucose de la solution S en g.l-1.

Données: 1 litre de la solution de dichromate utilisée oxyde 7,936 g d'éthanol pur.

#### FEUILLE DE RESULTATS

I - Calculer la concentration massique en éthanol de la solution S

V <sub>1</sub> ml	V <sub>2</sub> ml	concentration massique en éthanol de la solution S
· ·		g.l <sup>-1</sup> .
		g.l-1.

Concentration	massique	en	éthanol	1:

e éthanol =

g.l-1.

Calcul:

#### II - Dosage du glucose

 II - 1 Tableau précisant le mode de préparation des solutions étalons et les mesures effectuées.

n° des tubes	étalons	Essais
Concentration en glucose en g.l -1		
Absorbances 550 nm		

Joindre la courbe d'étalonnage de l'appareil à cette feuille.

II-2 Calculer la concentration massique en glucose de la solution S en g.l-1.

#### 3 eme SUJET

#### I - Dosage d'un extrait enzymatique en cours de purification

Dans le but d'isoler l'alanine aminotransférase (ALAT ou GPT) hépatique, on a :

- \* broyé et homogénéisé un foie d'animal; on obtient un extrait brut appelé E1;
- provoqué dans E<sub>1</sub> la précipitation fractionnée des protéines. Après centrifugation, le surnageant contient l'alanine aminotransférase.

#### le candidat dispose

. d'une dilution au demi du surnageant, appelée E2.

On détermine l'activité spécifique de  $E_2$  par un dosage des protéines et par la mesure de l'acitivité de l'ALAT.

#### I-1 Dosage des protéines par la méthode de GORNALL

#### I-1.1 Gamme d'étalonnage

- Diluer 10 fois la solution protéique étalon de concentration massique Q = 50 g.l<sup>-1</sup>, avec de l'eau « physiologique ».
- Préparer une gamme d'étalonnage allant de 0 à 5 mg de protéines par tube.
- Compléter à 1 ml avec de l'eau « physiologique ».
- Ajouter 4 ml de réactif de GORNALL.
- Laisser la couleur se développer 30 min à l'obscurité et à la température de laboratoire avant de mesurer les absorbances à 540 nm.

#### I-1.2 Dosage des protéines sur E2.

Les tubes essais seront traités comme la gamme étalon en opérant sur 0.5 ml de  $E_2$ .

Deux essais sont exigés.

#### I-2 Détermination de l'activité ALAT de l'extrait E2.

Le candidat dispose des réactifs et du mode opératoire d'un coffret de mesure par la méthode spectrophotométrique U.V..

La détermination sera faite à la température du laboratoire.

Diluer l'extrait  $E_2$  par l'addition de  $\hat{2}$  ml d'eau « physiologique » à 0,5 ml de  $E_2$  avant de pratiquer la mesure.

#### II - Dosage des chlorures seriques par mercurimètre

- II-1 Etalonnage de la solution mercurique de concentration molaire  $c_{\rm Hg}{}^{2+}$  voisine de 0,05 mol.1-1
  - Préparer 2 solutions différentes de chlorure de sodium par pesées exactes d'environ 0,58 g à dissoudre dans un volume final de 100 ml.
  - Prélever 2 ml, compléter à environ 10 ml avec de l'eau déminéralisée. Ajouter: solution d'acide nitrique à environ 1 mol.1-1; 15 gouttes solution de diphénylcarbazone; 6 à 8 gouttes.
  - Verser la solution mercurique, placée dans une microburette, jusqu'au virage de l'indicateur.

#### Π-2 Dosage (2 essais)

- Déprotéinisation: dans un tube à centrifuger mesurer:

7 ml d'eau déminéralisée.

1 ml sérum à la pipette « à sec ».

1 ml de solution de tungstate de sodium à 100 g.l-1

1 ml de solution d'acide sulfurique (2/3 mol H+.l-1)

#### Agiter et centrifuger.

 Doser, dans les mêmes conditions que l'étalonnage, 5 ml de surnageant (sans addition de solution d'acide nitrique).

**Données:**  $Cl^{-} = 35.5 \text{ g.mol.}^{-1}$  Na<sup>+</sup> = 23.0 g.mol<sup>-1</sup>

#### FEUILLE DE RESULTATS

#### I - Etude d'un extrait enzymatique

#### I-1 Dosage des protéines

 Tableau précisant le mode de préparation des solutions étalons et les mesures effectuées.

•	Etalons	E <sub>2</sub>		
Tubes		1 er 2 ème essai essai		
quantités de protéines en mg par tube				
absorbances mesurées à 540 nm				

- Joindre la courbe d'étalonnage à cette feuille
- Concentrations en protéines exprimées en g,l-1

pour  $E_2 =$ 

#### I-2 Détermination de l'activité ALAT de l'extrait E2.

- Tableau des absorbances relevées

Absorbances à 340 nm	
Temps	_

- Calcul de l'activité de l'extrait E<sub>2</sub> en unités internationales par litre.
- Déduire de l'ensemble des résultats précédents

\* l'activité spécifique de l'extrait E2

#### II-1 Dosage des chlorures

II-1 Etalonnage:

· m	V	C <sub>Hg</sub> +
m <sub>1</sub> =	$V_1 =$	c <sub>1</sub> Hg <sup>2+</sup> =
m <sub>2</sub> =	$V_2 =$	c <sub>2</sub> Hg <sup>2+</sup> =

Calculs:

V<sub>1</sub> ≃

 $v_2 =$ 

Calculs des concentrations

CCl- en mol.l-1

<sup>C</sup>Cl- en g.l-1 du sérum

# **B5 PREPARATION ET MONTAGE**

#### ACADEMIES DU GROUPE I

#### PREPARATION

#### PREMIER SUJET

Préparation du chloro-2 méthyl-2 propane

#### I - Interrogation préliminaire

Le chloro-2 méthyl-2 propane ou chlorure de butyle tertiaire est préparé à la température du laboratoire par action de l'acide chlorhydrique concentré sur le méthyl-2 propanol-2.

- 1°) Ecrire l'équation de la réaction.
- 2°) Donner les caractéristiques de l'action d'un acide minéral sur un alcool tertiaire.
- 3°) Calculer la masse théorique de chloro-2 méthyl-2 propane obtenu.

#### Données

Méthyl-2 propanol-2:

 $32 \text{ cm}^3$ 

d: 0,78

Acide chlorhydrique concentré:

d: 1,18

HC1 (% en masse) 35 %

H = 1

C = 12

C1 = 35.5

0 = 16

(en g.mol-i)

#### II - Manipulation

- 1°) Introduire dans une ampoule à décanter 32 cm³ de méthyl-2 propanol-2 pur (d: 0,78), 85 cm³ d'acide chlorhydrique concentré (densité 1,18 à 35 % en masse) et 10 g de chlorure de calcium sec. Agiter le mélange de temps en temps durant 25 minutes, doucement pendant les premières minutes puis de plus en plus vigoureusement. Manœuvrer l'ampoule à décanter de façon à éviter toute surpression importante à l'intérieur.
- 2°) Au bout de 25 minutes, laisser reposer le mélange jusqu'à ce que les phases se séparent bien et éliminer la phase aqueuse acide. Laver l'halogénure avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium puis deux fois avec 15 cm³ d'eau.

- 3°) Sécher l'halogènure pendant environ 10 minutes sur 5 g de chlorure de calcium anhydre.
- 4°) Filtrer sur le ballon à distiller. Distiller très doucement. Recueillir la fraction passant entre 49-51° C correspondant au chloro-2 méthyl-2 propane dans un récipient de 150 cm³ taré, refroidi dans un bain de glace.
- 5°) Peser.
- 6°) Déterminer l'indice de réfraction.

#### III - Compte rendu

- 1°) Etablir la feuille de marche
- 2°) Noter les résultats: volume
  - température d'ébullition
  - indice de réfraction
- 3°) Calculer le rendement.

**Donnée:** chloro-2 méthyl-2 propane: d = 0,846

#### 2° SUJET

Préparation de la dibenzylidène acétone ou diphényl - 1,5 pentadiène - 1,4 one - 3

#### I - Interrogation préliminaire

- 1 Le benzaldéhyde réagit sur l'acétone (ou propanone) en milieu alcalin pour donner le produit à synthétiser, par une réaction de double condensation avec élimination d'eau. Equation globale de la réaction?
- Calculer la masse théorique du produit obtenu.
   Quantités mises en jeu:

Benzaldéhyde: 14 cm<sup>3</sup>

 $Q = 1.050 \text{ g/cm}^3$ 

Acétone : 5 cm<sup>3</sup>

 $\varrho = 0.785 \text{ g/cm}^3$ 

Masses molaires atomiques en g. mol-1:

C = 12

H = 1

0 = 16

Dibenzylidène acétone

$$\bigcirc$$
 - CH = CH - C - CH = CH -  $\bigcirc$ 

#### II - Manipulation

Principe: Le benzaldéhyde réagit sur l'acétone selon le bilan réactionnel suivant :

$$2 \stackrel{\bigcirc}{\bigcirc} - \stackrel{\bigcirc}{\stackrel{\bigcirc}{\bigcirc}} + CH_3 - \stackrel{\bigcirc}{\stackrel{\bigcirc}{\bigcirc}} - CH_3 \xrightarrow{OH^-} \stackrel{\bigcirc}{\bigcirc} - CH = CH - \stackrel{\bigcirc}{\bigcirc} - CH = CH - \stackrel{\bigcirc}{\bigcirc} + 2H_2O$$

#### Technique:

- Dans un tricol de 500 cm³ muni d'une agitation mécanique, d'une ampoule de coulée, et d'un thermomètre, introduire 150 cm³ d'une solution froide d'hydroxyde de sodium à 100 g.dm³ et 120 cm³ d'éthanol à 95 % en volume.
- Agiter mécaniquement et plonger le tricol dans un bain d'eau.
   Maintenir la température entre 20 et 25°C.
- Préparer une solution de 14 cm³ de benzaldéhyde pur et 5 cm³ d'acétone, et l'introduire dans l'ampoule de coulée.
- En verser la moitié dans le contenu du ballon toujours en agitant: il se forme un précipité.
- Après 10 minutes, ajouter le reste. Continuer l'agitation pendant 30 minutes.
- Filtrer sur Büchner le précipité formé et le laver à l'eau froide en contrôlant le pH.
- Recristalliser dans l'éthanol. Sécher sur papier. Peser.
- Prendre la température de fusion du produit pur. (sur banc Köfler)

#### III - Compte rendu:

 Etablir la feuille de marche détaillée de la manipulation: horaire, opération, justifications et observations.

#### On précisera en particulier:

- le rôle de l'éthanol introduit en début de préparation
- le rôle du lavage à l'eau froide et le contrôle de la fin de ce lavage.
- le but de la recristallisation (préciser ce que deviennent les impuretés)
- Faire un tableau récapitulatif des résultats
  - masse et température de fusion du produit brut
  - aspect physique, masse, rendement et température de fusion du produit pur.

Produit	¢ g. cm-³	température de fusion	température ébullition	solubilité dans l'eau	solubilité dans l'éthanoi
éthanol	0,795	-112°C	78°C ·	totalement soluble	
benzaldéhyde	1,050	-26°C	178°C	très peu soluble	très soluble
acétone	0,785	- 95°C	56°C	très soluble	très soluble
dibenzylidène acétone				insoluble	très peu solu- ble à froid, plus soluble à chaud

#### 3ème SUJET

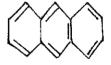
#### Préparation de l'anthraquinone

#### I - Interrogation préliminaire

- 1°) Donner l'équation de la réaction du trioxyde de chrome avec l'anthracène
- 2°) Calculer la masse théorique d'anthraquinone obtenue.

#### Données:

anthracène masse 4 g



$$-C = 12$$
 H = 1 O = 16 Cr = 52 (en g.mol<sup>-1</sup>)

#### II - Manipulation

#### A - Mode opératoire

1°) Dans un ballon de 500 cm³ à 3 tubulures introduire 4 g d'anthracène, 50 cm³ d'acide acétique pur.

Adapter au ballon un réfrigérant à reflux et une ampoule à brome plongeant jusqu'au fond du ballon. Chauffer à ébullition pour dissoudre l'anthracène au maximun.

Préparer une solution avec 7,5 g de chrome (VI) oxyde, 6 cm³ d'eau, 30 cm³ d'acide acétique pur.

Supprimer le chauffage et laisser couler la solution précédente de telle façon que l'ébulition continue dans le ballon (l'addition doit durer 15 minutes environ).

Chauffer encore environ 15 minutes après l'addition.

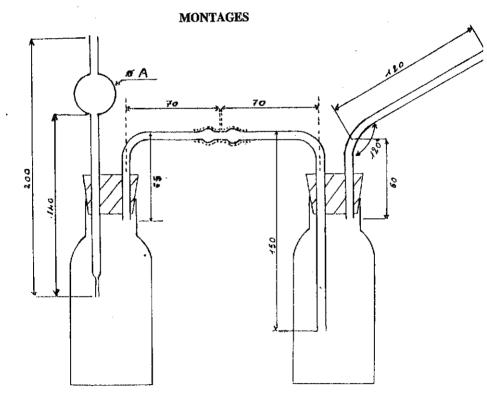
Laisser refroidir puis verser le contenu du ballon dans 250 cm³ d'eau froide. Filtrer sur büchner. Laver le précipité avec 50 cm³ d'eau chaude, 50 cm³ de solution d'hydroxyde de sodium à 100g.dm³, 200 cm³ d'eau froide. Essorrer. Sécher sur papier filtre.

Recristalliser l'anthraquinone dans l'acide acétique bouillant. Filtrer sur büchner. Laver à l'éthanol. Essorer. Sécher sur papier filtre.

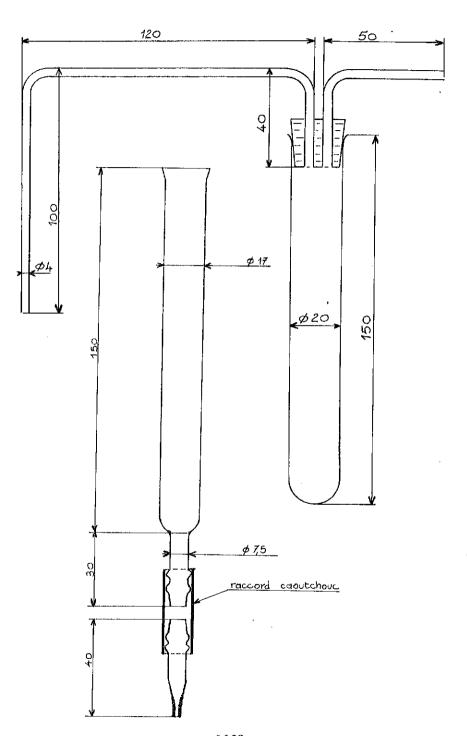
2°) Mesure du point de fusion d'une substance inconnue (X).

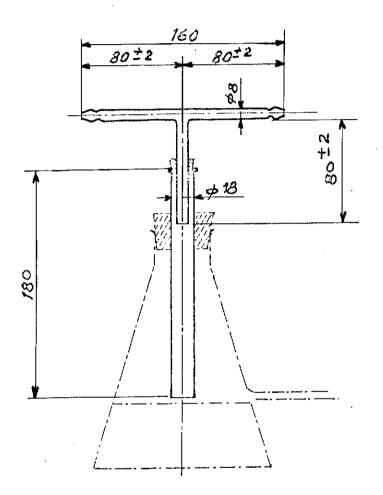
#### B-Compte rendu

- 1°) Rédiger la feuille de marche. Indiquer en particulier le rôle de l'acide acétique, le rôle des lavages successifs.
- 2°) Calculer le rendement de la préparation.
- 3°) Donner le point de fusion de la substance inconnue (X).



Le O A. La cote sera fixée par le centre d'examen





# **B6 T. P. DE MICROBIOLOGIE**

## ACADEMIES DU GROUPE 1

1er SUJET
1e JOUR

Analyse d'une crème glacée

#### 1re EPREUVE

#### Dénombrement de la flore totale et des coliformes

L'échantillon présenté a été préalablement transvasé dans un flacon stérile contenant des billes de verre et placé à 37° C.

1°) Dénombrez la flore totale mésophile par la méthode en double couche.

Milieux proposés: gélose au lait papaïné.

Dilutions à ensemenser: 10<sup>-3</sup> et 10<sup>-4</sup> (deux boîtes par dilution).

2°) Dénombrez les coliformes par la méthode en milieu liquide.

Milieu proposés: bouillon lactosé bilié au vert brillant.

Dilutions à ensemenser: 10<sup>1</sup>, 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup> (deux tubes par dilution).

#### 2e EPREUVE

## Recherche de bactéries pathogènes

25 cm³ d'un échantillon de glace ont subi un préenrichissement dans 75 cm³ de bouillon ordinaire uncubé à 37° C, puis 1 cm³ de cette culture a été ensemencé dans un bouillon au sélénite de Leifson incubé à 43° C pendant 24 h.

A partir de ce bouillon sélénite, réalisez l'isolement des bactéries sur un milieu d'isolement au choix.

#### 3º EPREUVE

#### Identification d'une bactérie

Identification d'une bactérie isolée à partir d'un échantillon de crème glacée.

Cette souche pure est présentée sur une gélose nutritive.

Réalisez les tests et les ensemencements nécessaires à l'identification de cette bactérie,

#### 2e JOUR

#### 1re EPREUVE

- 1°) Flore totale: résultats et commentaires.
- 2°) Coliformes = résultats et commentaires.

#### 2º EPREUVE

- 1°) Lecture de l'isolement et commentaires.
- 2°) Réalisez le (ou les) test (s) nécessaires à une orientation du diagnostic.

#### 3¢ EPREUVE

Lecture et identification de la souche.

#### 2º SUJET

1er JOUR

#### 1re EPREUVE

A partir d'un lait pasteurisé, soupçonné de mauvais conditionnement, effectuez la numération en milieu solide des bactéries aérobies mésophiles.

Faites des dilutions jusqu'à 10<sup>-4</sup> en se limitant à un seul essai par dilution.

#### 2º EPREUVE

A partir d'une eau suspectée de contamination fécale:

- 1°) Réalisez un isolement sur milieu Eosine-Bleu de Méthylène et un test de Mackenzie en partant d'un tube de bouillon lactosé au bromocrésol pourpre, ensemencé avec 1 cm³ d'eau diluée 10-³, incubé 24 h à 37° C et mis à votre disposition.
- 2°) Procédez à l'identification d'une bactérie isolée de cette eau et présentée sur gélose inclinée.

#### ₽ JOUR

#### PREMIERE EPREUVE

Résultats et commentaires.

#### DEUXIEME EPREUVE

- °) 1.1 Lecture de l'isolement et du test de Mackenzie.
  - 1.2 Commentaires.
- 2°) Résultats de l'identification et commentaires.

#### S SUJET

er JOUR

#### PREMIERE EPREUVE

## analyse bactériologique d'une viande hachée

- °) La colimétrie et l'identification des staphylocoques sont effectuées à partir d'un broyat au 1/10 en solution « tryptone-sel ».
  - a) colimétrie: procéder au dénombrement en milieu solide des coliformes et des coliformes fécaux sur 1 cm³ de la suspension mère et des dilutions 10-1 et 10-2 (1 essai par dilution).
  - b) staphylocoques entérotoxiques: une colonie suspecte prélevée sur un milieu de Baird-Parker a été ensemencée sur gélose nutritive, après avoir réalisé un Gram, effectuer le test de la coagulase ou de la thermonucléase.
- (2°) La recherche de Salmonella s'effectue à partir d'un broyat de 25 g de viande hachée. Après un pré-enrichissement et un enrichissement, un isolement a été réalisé sur gélose désoxycholate citrate lactose et une colonie suspecte repliquée sur la gélose nutritive présentée.
  Identifier cette souche.

#### DEUXIEME EPREUVE

Réalisation de l'antibiogramme d'une entérobactérie par la méthode de diffusion, à partir l'une culture en bouillon.

la liste des antibiotiques sera donnée au moment de l'épreuve)

#### 2º JOUR

#### PREMIERE EPREUVE

### Analyse bactériologique d'une viande hanchée

- 1°) a) Dénombrement des coliformes et de coliformes fécaux. Commentaires.
  - b) Résultats et conclusions.
- 2°) Lecture de la galerie ensemencée (le sérotypage est exclu) et identification de la bactérie.

#### DEUXIEME EPREUVE

Lecture de l'antibiogramme. Conclusion

# SESSION 1987

# **Sommaire**

A2 Philosophie: 87 - 2

A3 Physiologie et Chimie: 87 - 3

B1 Biochimie: 87 - 10

B2 Techniques du Laboratoire de

Biochimie: 87 - 15

B3 Microbiologie et Techniques du Laboratoire de

Microbiologie: 87 - 19

A6 Mathématique et Physique: 87 - 24

B4 T.P. de Biochimie: 87 - 28

B5 Preparation et Montage: 87 - 41

B6 T.P. de Microbiologie: 87 - 48

## A2 PHILOSOPHIE

## **ACADEMIES DU GROUPE 1**

#### PREMIER SUJET

Etre raisonnable, est-ce adopter le juste milieu?

#### DEUXIEME SUJET

Les hommes font-ils librement leur histoire?

#### TROISIEME SUJET

Ce qui fait la difficulté, c'est que l'équitable, tout en étant juste, n'est pas le juste selon la loi, mais un correctif de la justice légale. La raison en est que la loi est toujours quelque chose de général, et qu'il y a des cas d'espèce pour lesquels il n'est pas possible de poser un énoncé général qui s'y applique avec rectitude. Dans les matière, donc, où on doit nécessairement se borner à des généralités et où il est impossible de le faire correctement, la loi ne prend en considération que les cas les plus fréquents, sans ignorer d'ailleurs les erreurs que cela peut entraîner. La loi n'en est pas moins sans reproche, car la faute n'est pas à la loi, ni au législateur, mais tient à la nature des choses, puisque par leur essence même la matière des choses de l'ordre pratique revêt ce caractère d'irrégularité. Quand, par suite, la loi pose une règle générale, et que là-dessus survient un cas en dehors de la règle générale, on est alors en droit, là où le législateur a omis de prévoir le cas et a péché par excès de simplification, de corriger l'omission et de se faire l'interprète de ce qu'eût dit le législateur lui-même s'il avait été présent à ce moment, et de ce qu'il aurait porté dans sa loi s'il avait connu le cas en question. De là vient que l'équitable est juste, et qu'il est supérieur à une certaine espèce de juste, non pas supérieur au juste absolu, mais seulement au juste où peut se rencontrer l'erreur due au caractère absolu de la règle. Telle est la nature de l'équitable : c'est d'être un correctif de la loi, là où la loi a manqué de statuer à cause de sa généralité.

ARISTOTE

#### **QUESTIONS**

- 1°) Quelle est l'idée directrice de ce texte ? Mettez en évidence les principales étapes de son argumentation.
- 2°) D'après ce texte, qu'est-ce-qu'une cotion équitable ? Donnez-en brièvement un exemple.
- 3°) Expliquez : « la loi est toujours quelque chose de général ».
  - « Par leur essence même la matière des choses de l'ordre pratique revêt ce caractère d'irrégularité ».
- 4°) Faut-il toujours défendre le principe de l'existence de lois, malgré leur inévitable imprécision ?

# **43 PHYSIOLOGIE ET CHIMIE**

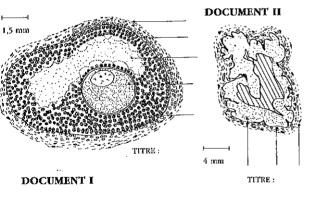
## CADEMIES DU GROUPE 1

## A. Physiologie

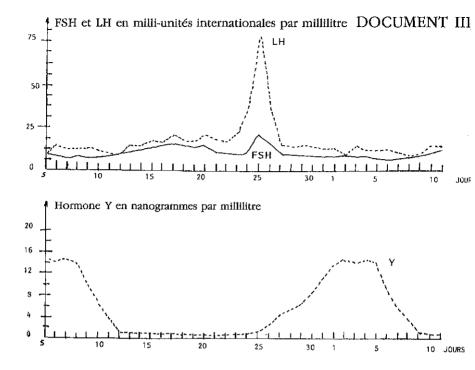
#### REMIER SUJET

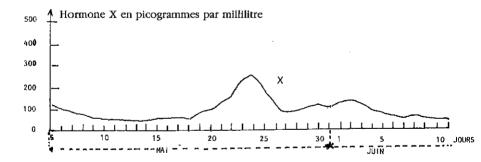
#### hysiologie sexuelle

I - Complétez les documents I et II en proposant un titre pour chacun d'eux et en indiquant le nom de chacun des éléments désignés par une flèche.



- I Les hormones antéhypophysaires FSH et LH, ainsi que les hormones ovariennes X et Y sont dosées dans le plasma d'une femme du 5 mai au 11 juin (document III).
  - II 1 Précisez sur ce document, le nom des hormones X et Y ainsi que la durée du cycle étudié. Situez également sur ce document, les évènements remarquables tels que menstruation et ovulation.
  - II 2 Indiquez à quel moment du cycle, les structures schématisées sur les documents I et II sont fonctionnelles.
  - II 3 Analysez comparativement les courbes du document III en relation avec les différentes phases d'un cycle sexuel.





III - Des expériences réalisées chez des femelles de singe Rhésus présentant une activité menstruelle et une régulation hormonale très proches de celles de la femme, ont permis de préciser certains aspects de la régulation de l'activité antéhypophysaire.

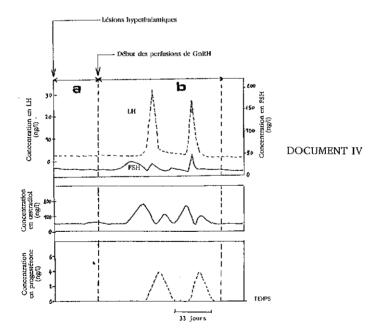
- \* Expérience A : après ablation des ovaires ou ovariectomie, les concentrations plasmatiques en FSH et LH sont décuplées en quelques semaines.
- \* Expérience B: L'administration d'œstradiol dans le sang restaure les concentrations plasmatiques en FSH et LH alors que des injections de progestérone n'ont aucun effet apparent.

- \* Expérience C : chez des femelles ovariectomisées, il est possible de faire apparaître un pic de LH par injection d'œstradiol dans la mesure où les deux conditions suivantes sont respectées :
  - le taux d'œstradiol dans le sang doit atteindre une valeur seuil.
  - cette valeur seuil doit être maintenue de 36 à 42 heures.

A partir de l'analyse de ces expériences, précisez la double influence de l'œstradiol sur les sécrétions antéhypophysaires.

IV - Des lésions de certaines zones hypothalamiques précises entraînent une évolution des sécrétions antéhypophysaires et un arrêt de l'activité ovarienne, comme l'indique la partie a du document IV.

Chez ce même animal, après perfusion, en quantité et à fréquence adéquates, de GnRH, substance extraite de l'hypothalamus, on obtient les résultats schématisés en b, document IV.



- IV 1 Analyser ces résultats. Quelles relations établissez-vous entre hypothalamus et antéhypophyse ?
- IV 2 La contraception orale consiste à prendre, par exemple, des pilules constituées d'un mélange d'œstrogènes et de progestagènes pendant 21 jours du cycle, puis le traitement est arrêté pendant 7 jours.

- IV 2.1 A partir de vos connaissances et des résultats fournis dans ce sujet, exp. quez ce qu'il adviendra des taux sanguins d'hormones ovariennes antéhypophysaires durant cette prise de pilule.
- IV 2.2 Donnez une explication de l'effet contraceptif de ces stéroïdes de synthès
- . IV 2.3 Quelle est la conséquence de la suspension du traitement pendar 7 jours ? Justifiez votre réponse.

#### DEUXIEME SUJET

#### Le rein

#### I - Structure du rein.

I - 1 La figure 1 représente une coupe sagittale du rein. Indiquez le nom de chacune des structures numérotées de 1 à 6.

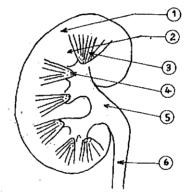


Figure 1

- I 2 Présentez un schéma soigneusement annoté d'un néphron et de sa vascularisation.
- I 3 Sur une reproduction agrandie de la figure 1, vous situerez le néphron par rapport à l'organisation générale du rein.

#### II - Les mécanismes rénaux fondamentaux.

- II 1 La filtration glomérulaire.
  - Par microponction, on prélève l'urine primitive contenue dans la capsule de Bowman: sa composition qualitative et quantitative est identique à celle du plasma, à l'exception des protéines et des lipides qui sont absents.
  - Une baisse de pression sanguine dans l'artère irriguant la capsule de Bowman provoque l'arrêt de la production d'urine primitive.

Quelles caractéristiques essentielles de la filtration glomérulaire pouvezvous déduire de ces résultats ?

#### II - 2 Les mécanismes tubulaires.

Ils seront étudiés à l'aide de deux substances: le glucose et l'acide para-amino-hippurique (PAH).

- II 2.1 Cas du glucose: la figure 2 représente le glucose filtré ou excrété en mg/min en fonction de la glycémie.
  - Tracez sur la même figure la courbe représentant le glucose réabsorbé.
  - Justifiez ce tracé en définissant ce qu'est une réabsorption et en précisant son mécanisme dans le cas du glucose.
  - Définissez le transport maximal du glucose (Tm) et déterminez-le graphiquement.
  - Une glycosurie peut exister chez les sujets hyperglycémiques, mais elle peut être rencontrée chez des malades présentant une glycémie normale. Comment expliquez-vous la glycosurie observée dans chacun des cas?

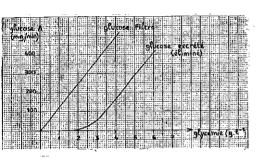


Figure 2

#### II - 2.2 Cas de l'acide para-amino-hippurique (PAH).

L'excrétion urinaire du PAH en fonction de sa concentration plasmatique est schématisée sur la figure 3. En étudiant les courbes a et b, quel mécanisme tubulaire mettez-vous en évidence ? Justifiez votre réponse et tracez la courbe correspondante sur la figure 3.

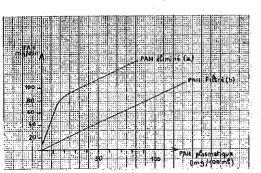


Figure 3

III - Rein et hormones.

Après avoir rappelé la définition d'une hormone, citez les lieux de synthèse de l'ADH et de l'aldostérone et précisez leurs effets au niveau rénal.

## **CHIMIE**

#### I - PILE ET COMPLEXE

Pour déterminer la constante de dissociation de l'ion complexe dicyanoargentate I Ag (CN), on réalise les 2 demi-piles suivantes :

- démi-pile 1 : 100 cm<sup>3</sup> d'une solution à 4.10<sup>-2</sup> mol.dm<sup>-3</sup> de nitrate d'argent dans laquelle on trempe une électrode d'argent.
- Demi-pile 2:100 cm³ d'une solution aqueuse à 4.10⁻³ mol.dm⁻³ de nitrate d'argent à laquelle on a ajouté 260 mg de cyanure de potassium, la solution reste homogène et il n'y pas de variation de volume appréciable lors de l'addition du solide.
   On trempe dans la solution une électrode d'argent.

On relie les 2 demi-piles à l'aide d'un pont ionique et on mesure la f.e.m obtenue avec un voltmètre à grande résistance interne.

- I 1 Donner l'expression littérale du potentiel de chaque électrode. En déduire la polarité de la pile.
- I 2 Calculer la concentration en ions Ag <sup>+</sup> dans la solution de la demi-pile 2 après addition du cyanure de potassium, si la f.e.m mesurée est égale à 1,08 volts.
- I 3 Donner l'expression de la constante de dissociation de l'ion complexe formé Ag (CN)<sup>-</sup>2 et calculer sa valeur à la température de l'expérience. (On ne tiendra pas compte de la réaction des ions CN<sup>-</sup> sur l'eau) **Données :** K : 39 g.mol<sup>-1</sup> C : 12 g.mol<sup>-1</sup> N : 14 g.mol.<sup>-1</sup>

 $\frac{RT}{F}$  lnx = 0,06 lg x

#### II - ACIDOBASICITE

- A) Pour doser une solution de monoéthylamine, on en prélève 20 cm³. L'équivalence acidobasique est obtenue par un volume versé de solution d'acide chlorhydrique à 0,20 mol.dm⁻³, de 12 cm³.
  - II A.1 Ecrire l'équation de la réaction et calculer la concentration de la solution de monoéthylamine. Quel volume de monoéthylamine gaz faut-il dissoudre dans 500 cm³ d'eau pure pour obtenir cette solution?
  - II A.2 Le pH initial de la solution basique est 11,9. En déduire le pKa du couple CH <sub>3</sub>CH <sub>2</sub>NH+<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub> CH<sub>2</sub> NH<sub>2</sub> et le coefficient d'ionisation de la monoéthylamine dans la solution initiale.

B) On veut préparer une solution tampon de pH = 11 avec la solution de monoéthylamine précédente. Quel volume de chlorure d'hydrogène faut-il dissoudre dans 1,0 l de solution de monoéthylamine précédente? **Données:** Produit ionique de l'eau Ke = 10<sup>-14</sup> et Vmolaire = 24 dm³ dans

les conditions de l'expérience.

#### III - SOLUBILITE

Pour déterminer le produit de solubilité de l'hydroxyde de magnésium Mg (OH)<sup>2</sup>, on ajoute progressivement une solution de soude de concentration 10<sup>-3</sup> mol.dm<sup>-3</sup> à 100 cm<sup>3</sup> de solution de chlorure de magnésuim Mg Cl<sub>2</sub> de concentration 10<sup>-3</sup> mol.dm<sup>-3</sup>. Il faut ajouter 11 cm<sup>3</sup> de solution de soude pour obtenir l'apparition d'un précipité. En déduire le produit de solubilité de Mg (OH),

## **B1 BIOCHIMIE**

## **ACADEMIES DU GROUPE 1**

## I - ENZYMOLOGIE

#### I - 1 Etude de l'acétylcholine estérase

L'acétylcholine estérase catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine en acide acétique et en choline

$$(H_3C - N_1^+ - CH_2 - CH_2OH)$$
 $CH_3$ 

- I 1.1 Ecrire la réaction correspondante en précisant la formule chimique des composés.
- I 1.2 Dans des conditions convenables de température et de pH, trois solutions de concentrations croissantes en acétylcholine sont incubées en présence d'acétylcholine estérase.

La quantité de produit apparu, déterminée par acidimétrie, donne une expression de la vitesse initiale de la réaction  $(V_i)$ .

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

[S] en mol.dm <sup>3</sup>	2.10-4	4.10-4	8.10⁴
v <sub>i</sub> en unités arbitraires (U.A)	0,122	0,180	0,233

- I 1.2/1 Expliquer l'influence du pH et de la température sur la réaction enzymatique, à l'aide de courbes justificatives interprétées de façon précise.
- I 1.2/2 Construire, sur papier millimétré, la courbe

$$\frac{1}{\text{vi}} = f(\frac{1}{\text{S}})$$

Determiner les deux constantes cinétiques de la réaction enzymatique; donner leur signification.

Echelles:  $0.5.10^3 \text{ mol}^{-1}.\text{dm}^3 = 1 \text{cm}$ 1 U.A<sup>-1</sup> = 1 cm

I-1.3 On réalise la même expérience en présence d'ésérine à différentes concentrations: 2.10<sup>-7</sup>, 4.10<sup>-7</sup> et 6.10<sup>-7</sup> mol.dm<sup>-3</sup>. Les résultats obtenus sont les suivants:

 $4.10^{-4}$  $8.10^{-4}$ [S] en mol.dm<sup>-3</sup>  $2.10^{-4}$ vi avec ésérine à 0,084 0,133 0.1922.10-7 mol.dm<sup>-3</sup> (U.A.) vi avec ésérine à 0,063 0,107 0,161 4.10-7 mol.dm-3 (U.A.) vi avec ésérine à 0,138 0,088 6.10-7mol.dm-3 (U.A.)

- I 1.3/1 Construire sur le même graphique qu'au I 1.2/2 les courbes  $\frac{1}{v_i} = f(\frac{1}{S}) \text{ pour les différentes concentrations en ésérine.}$
- I 1.3/2 Quel est l'effet exercé par l'ésérine sur l'acétylcholine estérase ? Justifier la réponse.
- I 1.3/3 Quelle est l'influence de la concentration en ésérine sur la réaction enzymatique ?
- I 2 La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G 6 P DH) catalyse la réaction :

  D-glucose-6-phosphate + NADP + \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 6-phospho-gluconolactone + NADPH + H +

  Le coefficient d'extinction molaire du NADPH, à 340 nm, est de 6,22 10³dm³.mol-1.cm-1. Les autres composés n'absorbent pas à cette longueur d'onde. On se propose de purifier la G 6 P DH de Bacillus subtilis. Pour tester le degré de pureté de la préparation après chaque étape de purification, on ajoute une partie aliquote de la préparation à une solution de D-glucose-6-phosphate et de NADP +, qui restent en excès pendant tout le temps de la mesure, dans une cuve de 1 cm³.
  - La longueur du trajet optique de la cuve est de 1 cm.
  - I 2.1 Après un certain nombre d'étapes de purification, on ajoute 100 μg de protéine au mélange réactionnel. Après 3 minutes, l'absorbance enregistrée à 340 nm est 0,18.
     Calculer l'activité spécifique de la préparation de G 6 PDH (en U.I. par mg de protéine) à ce stade de la purification.
  - I 2.2 Après de nouvelles opérations de purification, 1 μg de protéine, ajouté au mélange réactionnel, entraîne, après 30 secondes, une absorbance de 0.18.
    - Calculer l'activité spécifique de la préparation de G 6 (p)DH à ce stade de purification.
    - Par rapport au stade précédent, combien de fois a-t-on purifié l'enzyme?
  - I 2.3 Après de nouvelles tentatives de purification, on ne parvient pas à obtenir une activité spécifique plus élevée. Interpréter.
     Sachant que la masse molaire de la G 6 P DH est de 80 000 g.mol-1.
     Calculer son activité molaire spécifique.
- DONNEE : 1 U.I. est l'activité d'une quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'1 µmol de substrat par minute.

## II - METABOLISME L'acétyl - cœnzyme A : Origines - Devenirs

- II 1 Origines
- II 1.1 La molécule d'acétyl cœnzyme A peut provenir du pyruvate.
- II 1.1/1 Citer les précurseurs du pyruyate dans l'organisme (sans détails).
- II 1.1/2 Ecrire la réaction globale de la transformation du pyruvate en acétyl -CoA (substrat et produit sous forme chimique).

- Comment appelle-t-on cette réaction? Justifier la réponse.
- Préciser les coenzymes nécessaires.
- Cette réaction est catalysée par un complexe multienzymatique.
  - \* Qu'est-ce-qu'un complexe multienzymatique?
  - \* Comment s'appelle-t-il dans ce cas?
- II 1.2 La molécule d'acéty-cœnzyme A peut provenir de la dégradation des acides gras.
   Exemple : dégradation de l'acide myristique (acide organique saturé à 14 atomes de carbone)

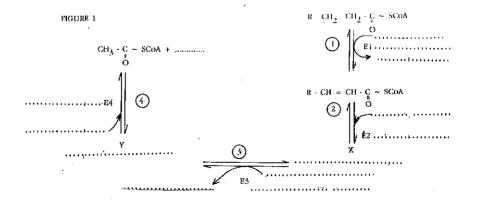
#### II - 1.2/1 Activation

$$R - CH_2 - CH_2 - COOH + \dots + \dots + R - CH_2 - CH_2 - C \sim SCOA + \bigcirc \sim \bigcirc + \dots$$

- Reproduire et compléter cette réaction en précisant les noms de l'enzyme E, des substrats, des produits et des cœnzymes.
- Préciser le rôle de chacun des coenzymes et donner la structure schématique de l'un deux.
- Indiquer la localisation cellulaire de l'activation.

#### II - 1.2/2 Dégradation de l'acide myristique activé

- Dans quel organite cellulaire a lieu cette dégradation ?
- Dans un premier temps une séquence de 4 réactions permet de détacher un fragment en C<sub>2</sub> libéré sous forme d'acétyl-CoA conformément à la figure 1.
- Compléter la figure 1 (noms des enzymes, cœnzymes, substrats, produits, formules des composés X, Y, Z)
- Citer la classe d'enzymes à laquelle appartiennent les enzymes  ${\rm E}_1$  et  ${\rm E}_2$ .
- Ecrire le bilan moléculaire global de la séquence de réaction 1 2 3 4.
- Le produit Z est finalement totalement transformé en acétyl-CoA par une série de réactions analogues.



- Ecrire le bilan moléculaire du catabolisme de l'acide myristique en acétyl-CoA.

#### I - 2 Devenirs

II - 2.1 L'acétyl-coenzyme A est normalement dégradé dans le cycle de Krebs.

$$2 \text{ CO}_2 + \text{HSCoA} + 3 (\text{NADH} + \text{H}^+) + \text{FADH}_2 + \text{GTP}$$

Puis en aérobiose les coenzymes d'oxydo-réduction sont réoxydés au niveau de la chaîne respiratoire.

- Montrer, à l'aide d'un schéma commenté, le fonctionnement de la chaîne respiratoire.
- Calculer la variation d'énergie libre standard ( $\Delta G'_O$ ) liée au transfert de 2 moles d'électrons entre les systèmes rédox successifs.

Donné : 
$$\Delta G'_{O} = -nF\Delta E'_{O}$$
  
 $\Delta G'_{O} = -96.5 \text{ kJ.mol}^{-1} \text{ si } n = 1 \text{ et } \Delta E'_{O} = 1 \text{ volt}$ 

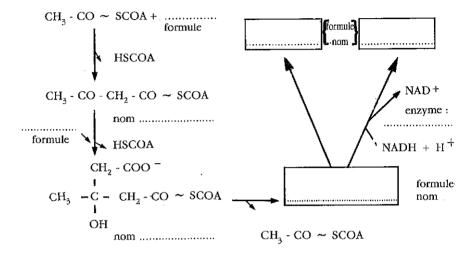
Couples rédox	E' <sub>O</sub> (pH <sub>7</sub> ; 30°C) en volt
cyt c Fe <sup>3+</sup> / cyt c Fe <sup>2+</sup>	+ 0,26
$cyt a + a_3Fe^{3+} / cyt a + a_3Fe^{2+}$	+ 0,29
cyt c <sub>1</sub> Fe <sup>3+</sup> / cyt c <sub>1</sub> Fe <sup>2+</sup>	+ 0,23
cyt bFe <sup>3+</sup> / cyt bFe <sup>2+</sup>	+ 0,04
NAD+ / NADH + H+	- 0,32
FAD / FADH 2	~ 0,1
$^{1}/_{2}$ O <sub>2</sub> / O <sup>2</sup> -	+ 0,82

Quelles sont les étapes pouvant correspondre à la phosphorylation d'un ADP?
 Justifier la réponse. Quel nom donne-t-on à ce processus?

Donnée : la variation d'énergie libre lors de la synthèse d'une mole d'ATP est  $|\Delta G_O'| = 30 \text{ kJ}$ 

- Combien de moles d'ATP sont synthétisées lors de la réoxydation d'une mole de NADH + H<sup>+</sup> ? d'une mole de FADH<sub>2</sub>?
- Etablir le bilan énergétique de la dégradation complète d'une mole d'acide myristique en  $CO_2$  et  $H_2O$ .
- II 2.2 L'acétyl-coenzyme A peut donner lieu à la formation de corps cétoniques.
  - Préciser les conditions de la cétogénèse.
  - Le mécanisme de formation des corps cétoniques est résumé sur la figure 2.
     La compléter.

#### FIGURE 2



- L'insuline agit indirectement sur la cétogénèse.

\* Indiquer la nature chimique de cette hormone et son lieu de sécrétion.

\* Favorise-t-elle ou non la cétogénèse?

Justifier succinctement la réponse.

II - 2.3 L'acétyl-cœnzyme A est aussi le point le départ de synthèses.

Donner un exemple (aucun détail n'est demandé).

# B2 TECHNIQUES DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

## ACADEMIES DU GROUPE 1

## Dosage du LACTOSE d'un lait maternisé selon 3 méthodes

Chaque partie du sujet peut être traitée indépendamment des autres, mais l'ensemble des résultats fera l'objet d'une conclusion générale.

La teneur en lactose du lait peut être déterminée par 3 méthodes différentes :

- dosage direct du lactose par la méthode de Bertrand
- dosage après action de la β-galactosidase soit des aldohexoses formés par la méthode à l'ortho-toluidine soit du glucose formé après action de la glucose -6-P-déshydrogénase.

## I - Dosage du lactose par la méthode de Bertrand.

# I - 1 Préparation de la solution de permanganate de potassium nécessaire au dosage :

L'étalonnage d'une solution de permanganate de potassium a donné  ${}^{\rm C}Mn{}^{\rm C}_4=0,0215~{\rm mol.dm^{-3}}$  à 0,8 % près. Comment préparer 100 ml de solution ajustée à 20,0 mmol.dm<sup>-3</sup> ?

## I - 2 Dosage du lactose du lait.

## Mode opératoire :

Défécation :

Dans une fiole jaugée à 200 cm³, on introduit dans l'ordre :

- + 20 cm3 de lait
- + 2 cm³ de solution d'hexacyanoferrate II de potassium (ferrocyanure de potassium)
- + 2 cm³ de solution d'acétate de zinc
- + de l'eau distillée q.s.p. 200 cm<sup>3</sup>.

On agite, on laisse reposer 5 minutes, puis on filtre sur filtre sans cendres.

- Dosage :

Oxydation du lactose et lavage du précipité de Cu2O:

Dans une fiole d'Erlenmeyer, on introduit :

- + 20 cm3 de solution de cuivre II
- + 20 cm³ de solution tartro-sodique
- + 10 cm³ de filtrat de défécation
- + 10 cm³ d'eau distillée.

Après exactement 3 minutes d'ébullition douce, le précipité est lavé par décantation à l'eau distillée bouillie en évitant tout contact avec l'air.

Réoxydation du Cu20 et dosage du composé de fer II formé :

 $40~\rm cm^3$  de solution acide d'ions fer III sont versés en 3 fois, dans le récipient contenant le précipité de Cu<sub>2</sub>O. Après lavage, la solution obtenue est dosée par la solution de permanganate de potassium à exactement 20,0 mmol.dm<sup>-3</sup>.

- I 2.1 Pourquoi faut-il éliminer les protéines du lait ? Une minéralisation aurait-elle été possible ? (Justifier)
- I 2,2 Expliquer le rôle de chacun des réactifs nécessaires au dosage.
- I 2.3 Calculer la concentration molaire en lactose de lait analysé sachant que le volume de solution de permanganate de potassium versé a été de 14,95 cm³.

**Données :** Extrait de la table donnant la correspondance entre le volume de  ${\rm KMnO_4}$  à 20 mmol.dm $^{-3}$  en cm $^3$  et la masse de lactose **hydraté** en mg. (1 molécule d'eau par molécule de lactose).

KMnO <sub>4</sub> (20,0 mmol.dm <sup>-3</sup> ) en cm <sup>3</sup>	Lactose hydraté en mg
14,4	71,5
14,6	72,6
14,8	73.6
15,0	74,7
15,2	75,7
15,4	76,8

M (lactose): 342 g.mol<sup>-1</sup> M (O) : 16 g.mol<sup>-1</sup> M (H) : 1 g.mol<sup>-1</sup>

II - Dosage colorimétrique après action de  $\ln \beta$  -galactosidase. La réaction utilisé est la suivante :

$$CH_2OH$$
 $CH_2OH$ 
 $C$ 

On admet que l'introduction de la solution enzymatique n'entraîne aucune dilution du lait.

#### Mode opératoire :

- Déprotéinisation :

Dans un tube à centrifuger, on introduit :

+ 1 cm³ de lait dilué 100 fois, ayant subi l'hydrolyse enzymatique.

+ 1 cm3 de solution d'acide trichloracétique (TCA).

Après agitation, on centrifuge à grande vitesse pendant 5 minutes.

On récupère le surnageant.

- Dosage colorimétrique

Le dosage est réalisé suivant le tableau :

					·····	
N° tube	0	1	2	3	Т	E
Solution étalon de glucose (cm³)	0,5 cm³ d'eau distillée	0,5 cm³ de solution mère diluée au·1/10	0,5 cm³ de solution mère diluée au 1/4	0,5 cm³ de solution mère diluée au 1/2		
Solution de TCA (cm³)					0,5	
.Surnageant (cm³)						
Réactifs (cm³)			4,5			
ρ glucose (solution étalons)						
Absorbance -	0	0,060	0,160	0,300	0	0,125

L'essai E est lu contre le tube T.

- II 1 Compléter la réaction enzymatique.
- II 2 Indiquer le principe de la méthode à l'ortho-toluidine. Justifier la défécation.
- II 3 Comment préparer 50 cm³ de chacune des solutions étalons utilisées à partir d'une solution mère à 1,8 g de glucose par dm3.
- II 4 Tracer la courbe  $A = f(\varrho \text{ glucose})$ . En déduire la concentration molaire en lactose du lait.

Données: M (glucose) = 180 g.mol<sup>-1</sup>

La réaction colorée est identique pour tous les hexoses.

## II - Dosage enzymatique du glucose libéré par la $\beta$ -galactosidase.

Mode opératoire :

Déprotéinisation :

Dans un tube à centrifuger, on introduit : - 1 cm³ d'acide perchlorique

- 0,1 cm³ de lait dilué au 1/1000

ayant subi l'hydrolyse enzymatique

On centrifuge à grande vitesse pendant 5 minutes puis on prélève le surnageant.

#### - Dosage enzymatique:

On utilise le mélange réactionnel suivant :

- + Tampon triéthanolamine pH 7,5
- +  $Mg^{2+}$ , SO  $\frac{2}{4}$
- + NAD+
- + ATP
- $+ E_1 = Hexokinase$
- + E<sub>2</sub> = Glucose-6-P-déshydrogénase

et on prépare les tubes suivants :

·	Témoin	Essai
Réactifs	5 cm <sup>3</sup>	5 cm <sup>3</sup>
Eau didistillée	1 cm <sup>3</sup>	
Surnageant		1 cm <sup>3</sup>

#### - Lecture :

La lecture est effectuée au spectrophotomètre à 340 nm après 45 minutes d'incubation à 25°C.

Le schéma réactionnel est le suivant :

Glucose + ATP 
$$\xrightarrow{E_1}$$
 G-6-P + ADP  $\xrightarrow{E_2}$  Acide-6-P gluconique + NADH, H+

- III 1 Déduire de ce mode opératoire le principe de la méthode utilisée.
   Indiquer le rôle de chacun des réactifs du mélange.
- III 2 Déterminer la concentration molaire en lactose sachant que :
  - la cuve de lecture a 1 cm d'épaisseur,
  - le coefficient d'absorbance linéique (ou absorbance molaire linéique) du NADH à 340 mn est de 6,22.103 mol-1.dm3.cm-1,
  - la différence d'absorbance Essai/Témoin est de 0,178.

#### **IV - Conclusions**

- IV 1 Les 3 valeurs trouvées sont-elles concordantes?
- IV 2 Citer deux raisons qui justifient l'abandon des deux premières méthodes?
   Quels sont les avantages et inconvénients de l'utilisation des enzy-

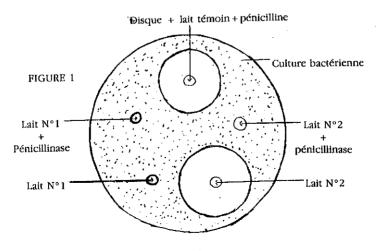
mes dans le cas du dosage de substrats?

# B3 MICROBIOLOGIE ET TECHNIQUES DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

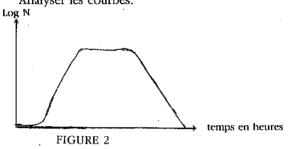
## ACADEMIES DU GROUPE 1

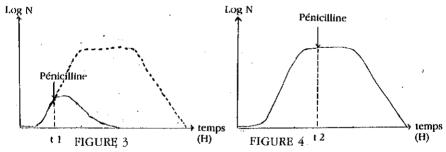
#### I - PREMIERE PARTIE

- I 1 Pour rechercher la présence d'un antibiotique, la pénicilline, dans des laits destinés à l'alimentation humaine, on utilise la méthode des disques (diffusion en gélose).
  - I 1.1 Pourquoi doit-on rechercher la présence d'antibiotiques dans un lait ?
  - I 1.2 Donner le principe de la méthode utilisée.
  - I 1.3 Une souche de Bacillus stearothermophilus, sensible à la pénicilline, est introduite dans un milieu gélosé glucosé et coulé en boîte de Pétri.
    Des disques de papier sont imprégnés d'un lait témoin additionné de pénicilline et des laits 1 et 2 à analyser, puis déposés sur la gélose. Après 2 h 30 d'incubation à 37°C, on obtient les résultats présentés sur la figure 1.
    - a) Quel est l'intérêt du disque témoin?
    - b) Quel est le rôle de la pénicillinase?
    - c) Interpréter les résultats obtenus pour les laits 1 et 2.



- I 2 Bacillus stearothermophilus est un bacille Gram positif,
  - I 2.1 Indiquer le principe de la coloration de Gram en précisant le rôle de la paroi.
  - I 2.2 Quels sont les principaux constituants de la paroi des bactéries Gram positif ?
- I 3 On veut étudier l'action de la pénicilline sur Bacillus stearothermophilus.
   Dans une culture de Bacillus en milieu non renouvelé, on mesure le nombre
   N de bactéries par ml de milieu en fonction du temps t en heures.
  - I 3.1 On trace la courbe de croissance log N = f(t) (figure 2).
     Reproduire cette figure, y délimiter les différentes phases.
     Commenter et analyser.
  - I 3.2 On ajoute à la culture de la pénicilline :
    - au temps t<sub>1</sub>, on obtient la courbe de la figure 3.
    - au temps t<sub>2</sub>, on obtient la courbe de la figure 4. Analyser les courbes.





I - 3.3 Sachant que la pénicilline empêche la biosynthèse d'un constituant essentiel de la paroi, interpréter les résultats obtenus en I - 3.2.

#### H - DEUXIEME PARTIE

Trois heures après l'ingestion de crème glacée, les enfants d'une collectivité présentent des troubles digestifs (diarrhées, vomissements) et des douleurs abdominales.

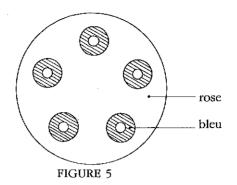
Afin de déterminer l'origine de cette infection alimentaire, on réalise l'analyse suivante :

 II - 1 0,1 ml d'une dilution de la crème glacée à 0,1 g/ml est étalée sur un milieu de Baird Parker, dont la composition est la suivante :

- Peptone trypsique de caséine	10 g
- Extrait de viande	5 g
- Extrait de levure	2 g
- Pyruvate de sodium	10 g
- Glycocolle	12 g
- Chlorure de lithium	
- Agar	14 g
- Tellurite de potassium	10 ml
- Emulsion de jaune d'œuf	50 ml
- Eau distillée	q.s.p 1000 ml

- II 1.1 Donner le rôle des constituants du milieu et son intérêt.
- II 1.2 Après 48 heures d'incubation à 37°C, on observe des colonies de 0,5 à 2 mm de diamètre, bombées, noires, brillantes, entourées d'un halo clair et d'un liseré blanc opaque.
  Justifier l'aspect de ces colonies. A quel type de bactéries correspondent-elles?
- II 1.3 A la surface du milieu de Baird Parker, on observe 25 colonies suspectes.
   Exprimer le résultat du dénombrement par gramme de crème glacée.
- II 2 Pour confirmer le résultat précédent, 5 colonies sont soumises au test de la thermonucléase.
- II 2.1 Donner le principe de cette recherche.
- II 2.2 Le test est ainsi réalisé :
  - Une colonies suspecte sur le milieu de Baird Parker est ensemencée dans un tube de bouillon cœur-cervelle et incubée 24 heures à 37°C.
  - Une fraction du bouillon est chauffée 15 minutes à 100°C
  - 5 gouttes de ce bouillon refroidi sont déposées dans 5 cupules creusées dans un milieu à l'ADN et au bleu de toluidine présenté en boîte de Pétri.
  - Après 4 heures d'incubation à 37°C, on obtient les résultats représentés sur la figure 5.

Interprétez ces résultats. Conclure.

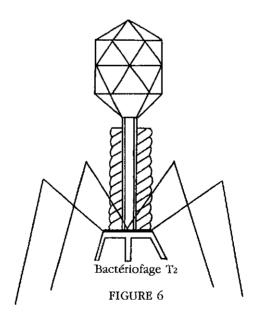


II - 2.3 Quel autre test peut être associé à la recherche de la thermonucléase? Quel serait le résultat sur les bactéries testées précédemment.

#### III - Troisième partie

Escherichia coli est sensible au bactériophage  ${\rm T_2}$  dont la structure est représentée sur la figure 6.

III - 1 Légender ce schéma.



III - 2 A l'aide des courbes de la figure 7, schématiser les différentes étapes de l'infection d'Escherichia coli par le bactériophage T2.

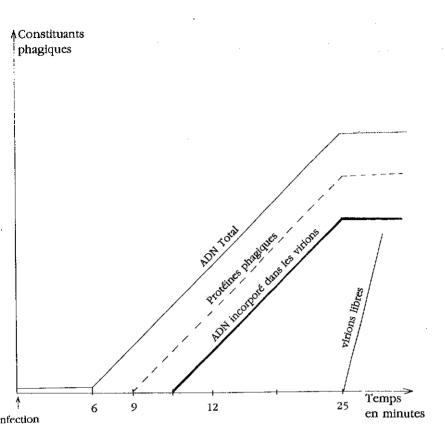


FIGURE 7

# A6 MATHEMATIQUES ET PHYSIQUE

## **ACADEMIES DU GROUPE 1**

## **MATHEMATIQUES**

On étudie la croissance d'une culture bactérienne en milieu liquide non renouvelé

#### Première partie

Des mesures du nombre  $N_i$  de bactéries par millilitre sont effectuées à divers instants  $t_i$  (i entier naturel,  $0 \le i \le 7$ ) On obtient le tableau suivant où 1n  $N_i$  désigne le logarithme népérien de  $N_i$ .

t <sub>i</sub> en heures	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
$y_i = 1n N_i$	9,15	9,30	9,38	9,50	9,65	9,72	9,85

- 1 Représentez le nuage de points de coordonnées (ti, yi) dans un repère orthogonal.
  4 cm représentent 1 heure sur l'axe des abscisses
  10 cm représentent 1 unité sur l'axe des ordonnées et on pourra se contenter des ordonnées supérieures à 9.
- 2 Déterminer le point moyen de ce nuage.
- 3 Calculer le coefficient de corrélation linéaire de la série (t,y). Que peut-on conclure?
- 4 Déterminer par la méthode des moindres carrés une équation de la droite de régression de y en t.
   On écrira y = 1n N = at + b où a et b seront exprimés à 10<sup>-2</sup> près par excès.
- 5 Représenter graphiquement cette droite dans le plan rapporté au même repère.
- 6 En déduire l'expression de N (t) en fonction de t, puis une estimation du nombre de bactéries par millilitre à l'instant t = 4.

## Deuxième partle

On suppose que le nombre N(t) de bactéries par millilitre à l'instant t vérifie l'équation différentielle: ft ≥ 0  $\{N'(t) = 0.2 \text{ N (t)}\}$ 

1 - Déterminer la solution générale de cette équation différentielle

2 - Déterminer la solution particulière vérifiant la condition N (o) = 10<sup>4</sup> bacté ries par millilitre.

## l'roisième partie

Soit la fonction N de la variable t définie par

$$\begin{cases} t \ge 0 \\ N(t) = 10^4 e^{-0.2} t \end{cases}$$

1 - Etudier les variations de cette fonction N

2 - Représenter graphiquement cette fonction dans le plan rapporté à un repère orthogonal d'unités :

3 cm pour 1 heure sur l'axe des abscisses

5 cm pour 10<sup>4</sup> sur l'axe des ordonnées

à

3 - Donner une estimation de t lorsque le nombre de bactéries par millilitre est égal à 21 000 ? Une solution graphique et une solution algébrique seront proposées.

On donne :  $e^{0,2} = 1.22$ 

10<sup>-2</sup> près par défaut 10<sup>-2</sup> près par défaut

 $e^{-0.4} \approx 1.22$  à  $\ln 2 \approx 0.69$  à  $\ln 2.1 \approx 0.74$  à

10<sup>-2</sup> près par défaut

## PHYSIQUE

#### - MESURE D'UN VOLUME SANGUIN

On se propose de mesurer le volume sanguin d'un individu à l'aide d'un radioélément artificiel : le Sodium 24

1 - On prépare le Sodium 24 par bombardement du Sodium 23 avec des neutrons.

Ecrire l'équation bilan de la réaction de formation du Sodium 24

2 - Le soduim 24 est radioactif  $\beta$  et sa « période » ou « demi-vie » est de 15 h.

Ecrire l'équation bilan de la désintégration du Sodium 24.

Qu'appelle t-on période d'un radioélément ?

- 3 On injecte par voie intravelneuse 10 cm<sup>3</sup> d'une solution de concentration molaire volumique en Sodium 24 égale à 10<sup>-3</sup> mol. . I<sup>-1</sup>
  - a) Quelle est la quantité de matière initiale ou nombre de moles de sodium 24 introduite dans le sang?
  - b) Quelle quantité en restera-t-il au bout de 7 h 30 min. ?

4 - Au bout de 7 h 30 min, temps au bout duquel on peut considérer que le liquide injecté a diffusé uniformément dans tout le volume sanguin, on prélève 10 cm² de sang. Un dosage permet d'établir la présence de 1,4 . 10<sup>-8</sup>mol de Sodium 24

Déduire de ce résultat le volume sanguin de cet individu.

On donne:

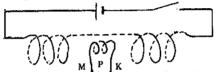
ELEMENT	0	F	Ne	Na	Mg	Al	Si
Z	8	9	10	11	12	13	14

## II - Induction électromagnétique

Un circuit comprend un générateur et un solénoïde comportant 2000 spires/m. A l'intérieur du solénoïde se trouve une bobine plate P de même axe que le solénoïde et de bornes K et M. Cette bobine plate P est formée de 300 spires ayant chacune une surface de 10 cm².

Le générateur fait circuler un courant de 0,30 A dans le solénoïde.

1 - Quelle est la particularité du champ magnétique créé au centre du solénoïde. Quelles sont les caractéristiques du vecteur champ magnétique B.

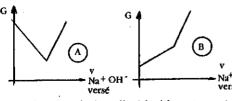


$$(\mu_0 = 4\pi.10^{-7} \text{ u.s.l})$$

2 - On ouvre le circuit du solénoïde. Expliquer pourquoi il apparaît une différence de potentiel  $U_{MK}$  entre les bornes M et K de la bobine P. Le courant dans le solénoïde s'annulant en  $10^{-3}$  s, calculer la valeur moyenne de  $|U_{MK}|$ 

#### III - Conductimétrie

1 - Un élève au cours d'une séance de travaux pratiques a dosé l'acide chlorhydrique et l'acide éthanoïque par une solution d'hydroxyde de sodium. Devant utiliser une technique conductimétrique il a relevé la conductance (G) à chaque volume (y) d'hydroxyde de sodium versé. Il a ainsi obtenu les graphes suivants.



Quelle est la courbe qui correspond au dosage de la solution d'acide éthanoïque par l'hydroxyde de sodium?

Justifier votre choix et préciser les causes de chaque variation de conductance.

- 2 a) une solution d'acide éthanoique de concentration c = 10<sup>-3</sup> mol. 1<sup>-1</sup> a un pH qui est de 3,9.

  Calculer la conductivité de cette solution.
  - b) Calculer la concentrațion de la solution d'acide chlorhydrique qui aurait la même conductivité.

B : On remarquera que dans le système d'unités internationales les concentrations molaires volu-miques sont en mole\_\_\_\_

**Ponnées :** Conductivités limites équivalentes our H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> : 350 x 10<sup>-4</sup> S.I. our OH<sup>-</sup> : 198 x 10<sup>-4</sup> S.I.

pour  $CH_3$   $COO^-: 41 \times 10^{-4} S.I$  pour  $Na^4: 50 \cdot 10^{-4} S.I$ 

our CI<sup>--</sup> : 76 10<sup>-4</sup> S.I

# **B4 TP DE BIOCHIMIE**

## ACADEMIES DU GROUPE 1

#### PREMIER SUJET

#### I - DOSAGE DU CALCIUM ET DU MAGNESIUM D'UNE EAU

I - 1 Dosage d'une solution d'E.D.T.A. disodique de concentration molaire voisine de 0,05 mole d'E.D.T.A. par dm³ par pesée de sulfate de magnésium heptahydraté MgSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O

Le candidat pourra soit opérer avec une solution de MgSO $_4$ , 7  $\rm H_2O$ , soit procéder par pesées successives.

- Peser exactement une masse m grammes de sulfate de magnésium heptahy draté, pur pour analyses (m voisin de 1,20 g pour préparer 100 cm³ de solution; dissoudre complètement avec de l'eau distillée, ajuster à 100 cm³)
- Dans un vase à titration, introduite :

E = 20 cm³ de solution préparée (ou m'g pesé dissous dans l'eau)

 $10 \text{ cm}^3 \text{ de tampon pH} = 10$ 

0,2 g de Noir Eriochrome T (c'est-à-dire une pointe de spatule)

- Agiter pour bien dissoudre.
   Tiédir à 40°C environ.
- Verser la solution d'EDTA disodique jusqu'au virage. Soit Vcm³ versé.

# I - 2 Détermination de la totalité des ions Ca<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup> d'une eau minérale

- Dans une fiole conique, introduire :  $E_1 = 50 \text{ cm}^3 \text{ d'eau minérale}$ 
  - $10 \text{ cm}^3 \text{ de tampon pH} = 10$ 
    - 10 gouttes d'E.D.T.A. Mg
    - 0,2 g de Noir Eriochrome T (c'est-à-dire 1 pointe de spatule)
- Agiter, puis doser par la solution d'EDTA disodique.
   Soit V<sub>1</sub> cm³ d'EDTA disodique versé (tiédir vers 40° 50°C pour accélérer la réaction).

#### I - 3 Détermination des jons Ca2+ de l'eau minérale

- Dans une fiole conique, introduire :

 $E_2 = 50 \text{ cm}^3 \text{ d'eau minérale}$ 

10 cm<sup>3</sup> de solution d'hydroxyde de sodium à 100 g/dm<sup>3</sup>

0,1 g de réactif de Patton et Reeder (pointe de spatule)

- Agiter, puis doser par la solution d'EDTA disodique. Soit  $\rm V_2\ cm^3\ d'EDTA$  disodique versé.

#### I - 4 Résultats

- Calculer la concentration molaire de la solution d'EDTA disodique.
- Calculer la concentration molaire en ions Ca<sup>2+</sup> de l'eau minérale, exprimée en mol/dm³, et sa concentration massique en g/dm³.
- Calculer la concentration molaire en ions Mg<sup>2+</sup> de l'eau minérale, exprimée en mol/dm³, et sa concentration massique en g/dm³.

**Données :** 
$$Mg = 24.3 \text{ g.mol}^{-1}$$
  $S = 32 \text{ g.mol}^{-1}$   $0 = 16 \text{ g.mol}^{-1}$   $Ca = 40 \text{ g.mol}^{-1}$   $H = \text{g.mol}^{-1}$ 

#### I - Détermination de l'activité de la phosphatase alcaline sérique par la méthode de Bessey

La phosphatase du sérum hydrolyse le substrat paranitrophénylphosphate disodique en paranitrophénol coloré en jaune en milieu alcalin ; on dose ce produit par colorimétrie.

## II - 1 Gamme étalon de paranitrophénol :

Préparer une solution étalon de paranitrophénol de concentration égale à  $0.05 \text{ mmol/dm}^3$  par dilution au 1/100 de la solution mère à  $5 \times 10^3 \text{ mol/dm}^3$ .

#### Réaliser la gamme suivante :

Solution de paranitrophénol à 0,05 mmol/dm³ (en cm³)	1	2	4	6	8
eau distillée (en cm³)	9	8	6	4	2
Solution d'hydroxyde de sodium à 0,2 mol/dm³	1,1 cm <sup>3</sup>				

Mesurer l'absorbance à 415 nm ou avec le filtre correspondant en réglant le 0 optique de l'appareil sur un témoin réactifs.

#### II - 2 Dosage (deux essais au minimum)

Dans des tubes marqués Témoin et Essai placer :

tampon pH 10,5 : 0,5 cm<sup>3</sup> solution de substrat (paranitrophénylphosphate) 0,5 cm<sup>3</sup>

Préchauffer 5 min dans un bain à 37°C

La couleur jaune possible de la solution due à une légère hydrolyse du paranitrophénylphosphate disodique ne gêne pas le dosage.

Introduire dans le tube à essai 0,1 cm<sup>3</sup> de sérum. Mélanger en évitant la mousse. Laisser en contact à 37°C pendant 30 min.

Arrêter la réaction par 10 cm<sup>3</sup> de solution d'hydroxyde de sodium de concentration égale à 0,02 mol/dm<sup>3</sup> (préparée par dilution de la solution à 0,2 mol/dm<sup>3</sup>).

On complètera le témoin avec 0,1 cm³ de sérum après l'addition de la solution d'hydroxyde de sodium.

Homogénéiser. Lire l'absorption de l'essai en réglant le O optique sur le témoin sérum.

#### II - 3 Résultats

- a) Donner un tableau récapitulatif de toutes les valeurs expérimentales obtenues. Tracer la courbe d'étalonnage.
- b) Calculer l'activité phosphatasique du sérum en unités Bessey.
   (1 unité Bessey = 1 micromole de paranitrophénol libéré par heure et par cm³ de sérum).
- c) Calculer l'activité phosphatasique du sérum en unités internationales par litre (U.I./l)

(I U.I. =  $1 \mu$  mol de paranitrophénol libéré par minute)

#### FEUILLE DE RESULTATS

#### I - DOSAGE DU CALCIUM et DU MAGNESIUM

#### I - 1 Dosage de la solution d'EDTA

masse pesée (g)	m =	g	M' =	g
V cm <sup>3</sup>	V =	cm <sup>3</sup>	V' =	cm <sup>3</sup>

- Concentration molaire de la solution d'EDTA disodique. Calcul :

#### I - 2 Détermination de la totalité des ions Ca<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup> d'une eau minérale

Essai E <sub>1</sub>	V <sub>1</sub> =	cm³
Essai E' <sub>1</sub>	V' <sub>1</sub> =	cm³

## I - 3 Détermination des ions Ca<sup>2+</sup> d'une eau minérale

Essai E <sub>2</sub>	V <sub>2</sub> =	cm³
Essai E' <sub>2</sub>	V' <sub>2</sub> =	cm³

#### I - 4 Calculs de concentrations de calcium et de magnésium

## I - Détermination de l'activité de la phosphatase alcaline sérique

N° du tube	1	2	3	4	5	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>
absorbance				·		_	
quantité de paranitrophénol							

Joindre la courbe d'étalonnage du colorimètre à cette feuille.

Calcul de l'activité phosphatique du sérum :

- en unités Bessey
- en unités internationales

#### DEUXIEME SUJET

## - DOSAGE DES CHLORURES D'UN LAIT (deux essais)

#### I - Minéralisation

Dans un vase à titration de 250 ml, introduire :

 $E_2 = 10 \text{ ml de lait}$ 

E<sub>2</sub> = 10 ml de solution de nitrate d'argent de concentration molaire exactement connue, de l'ordre de 10 mmol.l<sup>-1</sup>

Mélanger et verser en agitant :

- 5 ml de solution saturée de permanganate de potassium
- 10 ml d'acide nitrique

Maintenir une douce ébullition jusqu'à clarification du surnageant (durée totale : 15 minutes)

## I - 2 Dosage argentimétrique

Laisser refroidir ; ajouter 50 ml d'eau distillée et 2 à 3 ml de solution d'alun de fer et d'ammonium ; doser par la solution de thiocyanate de potassium. Soit  $V_1$  ml le volume versé.

### I-3 Dosage de la solution de thiocyanate de potassium

Opérer sur :

- 50 ml d'eau distillée
- $-E_3 = 10$  ml de solution de nitrate d'argent
- 10 ml d'acide nitrique
- 2 à 3 ml de solution d'alun de fer et d'ammonium

Soit V<sub>2</sub> ml le volume de solution de thiocyanate de potassium versé.

#### II - DOSAGE DU SODIUM PAR PHOTOMETRIE DE FLAMME

#### II - 1 Etalonnage:

La solution étalon mère distribuée au candidat contient 0,5 g de sodium et 1,5 g de potassium par litre.

Préparer une gamme de solutions étalons dont les concentrations en sodium seront comprises entre 0,005 et 0,030 g.l—1 (utiliser de l'eau distillée). Passer ces solutions au photomètre de flamme (se reporter à la notice d'utilisation de l'appareil).

## II - 2 Dosage du sodium du lait :

- II 2 1 Défécation : à 50 ml de lait, ajouter de l'acide acétique cristallisable jusqu'à obtention du pH = 4,6 (par addition de 1 ml d'acide acétique). Transvaser dans une fiole jaugée et ajuster à 100 ml. Agiter et filtrer sur filtre sans cendres.
- II 2 2 Dosage : faire la mesure sur le filtrat de défécation dilué au 1/10.
- II 3 Dosage d'une solution de contrôle C :
- II 3 1 Préparation de la solution C par pesée de chlorure de sodium et de chlorure de potassium (purs et anhydres).
  - Peser exactement : une masse d'environ 125 mg de chlorure de sodium
    - une masse d'environ 285 mg de chlorure de potassium
  - Dissoudre complètement les deux masses dans de l'eau distillée et compléter à 250 cm³.
    - Diluer 10 fois la solution obtenue.
- II 3 2 Dosage: faire la mesure au photomètre sur la solution C.

#### II - RESULTATS

- III 1 Déterminer la concentration molaire du lait en ions chlorure par litre de lait et sa concentration massique exprimée en grammes d'ions chlorure par litre.
- III 2 Dosage du sodium par photométrie de flamme :
  - faire un tableau précisant le mode de préparation des solutions et les mesures effectuées.
  - tracer la courbe d'étalonnage de l'appareil.
  - calculer la concentration molaire en ions sodium du lait et la concentration massique en gramme d'ions sodium par litre .
  - déterminer la concentration molaire en ions sodium de la solution C donnée par la photométrie de flamme.
     Commenter ce résultat.

**Données :** Na : 23 g.mol <sup>-1</sup> CI : 35,5 g.mol <sup>-1</sup>

#### FEUILLE DE RESULTATS

#### I - DOSAGE DES CHLORURES D'UN LAIT

	V <sub>1</sub> ml	V <sub>2</sub> ml
1° essai		
2º essai		

Concentration molaire du lait en ions chlorure

Calcul:

Concentration massique du lait en ions chlorure

#### II - DOSAGE DU SODIUM PAR PHOTOMETRIE DE FLAMME

- Tableau précisant le mode de préparation des solutions et les mesures effectuées.
- Joindre la courbe d'étalonnage de l'appareil à cette feuille.
- Concentration molaire en ions sodium du lait :

Calcul:

- Concentration massique en g d'ions sodium par litre de lait :
- Masse pesée de chlorure de sodium :
- Concentration molaire en ions sodium de la solution C :

#### TROISIÈME SUJET

Dosage de l'éthanol et du glucose dans un filtrat de fermentation (Solution S)

#### I - DOSAGE DE L'ETHANOL PAR OXYDATION SULFOCHROMIQUE

I -1 Distillation: (deux essais)

L'appareil à distiller comprend un ballon de 250 ml, une colonne à distiller, un réfrigérant et une allonge droite. L'allonge trempe dans une fiole jaugée de 250 ml placée dans un bécher plein d'eau froide.

Introduire 50 ml de la solution S dans le ballon, 50 ml d'eau distillée et quelques grains de pierre ponce.

Brancher le réfrigérant et distiller 70 à 80 ml de solution (la fiole jaugée étant remplie au préalable avec 150 à 160 ml d'eau distillée). Rincer ensuite l'allonge et ajuster à 250 ml.

#### I - 2 Oxydation chromique (deux essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri de 500 ml, introduire:

- 20 ml de solution de dichromate de potassium
- 10 ml d'acide sulfurique concentré (dangereux) LUNETTES DE SECURITE

Verser l'acide sulfurique à l'aide d'une éprouvette, lentement et en agitant. Refroidir au fur et à mesure. Lorsque le mélange est suffisamment froid (environ 20°C), ajouter :

- 10 ml de distillat alcoolique

Boucher, agiter doucement, attendre 15 à 20 minutes que l'oxydation soit totale.

#### I - 3 Dosage de l'excès de solution chromique

Ajouter ensuite:

- 300 à 350 ml d'eau distillée
- 30 ml d'acide phosphorique pur
- 20 gouttes d'indicateur (diphénylaminosulfonate de baryum : indicateur rédox)

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à coloration au vert franc. Soit V, ml versé.

## I - 4 Dosage de la solution de sel Mohr (deux essais)

Opérer sur :

II -

- 10 ml de solution de dichromate
- 5 ml d'acide sulfurique concentré
- 150 ml d'eau distillée
- 15 ml d'acide phosphorique pur
- 20 gouttes d'indicateur rédox

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à coloration au vert franc. Soit  $V_2$  ml versé.

# DOSAGE DU GLUCOSE PAR METHODE ENZYMATIQUE

## II - 1 Etalonnage de l'appareil

- II 1.1 Préparation de la gamme étalon
  - Préparer, par pesée exacte de glucose pur et anhydre, 100 ml de solution contenant 4 g de glucose par litre.
  - Préparer une gamme de solutions étalons dont les concentrations sont comprises entre 0,5 et 4 g de glucose par litre.
  - Diluer chaque solution étalon au 1/20. Utiliser de l'eau distillée pour réaliser ces dilutions.

### II - 1.2 Réaction colorée

Mélanger - 0,1 ml de solution étalon diluée précédemment au 1/20.

- 1 ml de réactif à la glucose-oxydase

Laisser reposer 20 minutes à la température du laboratoire et réaliser la lecture des absorbances à 550 nm dans les 30 minutes qui suivent.

# II - 2 Dosage du glucose dans la « solution S » (deux essais)

Traiter comme précédemment 0,1 ml de solution S préalablement diluée au 1/20.

Soit A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> les absorbances mesurées à 550 nm.

#### III - RESULTATS

- III 1 Calculer la concentration massique en éthanol de la solution S en  $g.l^{-1}$ .
- III 2 Calculer la concentration massique en glucose de la solution S en g.l-1.
- Données : 1 litre de la solution de dichromate utilisée oxyde 7,936 g d'éthanol pur.

## FEUILLE DE RESULTATS

I - Calculer la concentration massique en éthanol de la solution S.

V <sub>1</sub> ml	V <sub>2</sub> ml	concentration massique en éthanol de la solution S
		g, <u>l</u> —1
		<b>g.l</b> —1

 $\rho$  éthanol =

 $g_{1}-1$ 

Calcul

## II - Dosage du glucose

 II - 1 Tableau précisant le mode de préparation des solutions étalons et les mesures effectuées.

n° tubes	Etalons	Essais		
		1	2	
		ĺ		
concentration en glucose en g.l-1				
Absorbances 550 nm				

Joindre la courbe d'étalonnage de l'appareil à cette feuille.

II - 2 Calculer la concentration massique en glucose de la solution S en g.l-1.

## QUATRIEME SUJET (Analyse d'un vin blanc)

## I - DOSAGE DE L'ETHANOL DU VIN PAR OXYDATION SULFOCHROMIQUE

#### I - 1 Distillation:

Le montage de distillation comprend un ballon, une colonne à distiller, un réfrigérant, une allonge droite.

L'allonge trempe dans une fiole jaugée de 100 ml placée dans un bécher rempli

d'eau froide.

Indroduire dans le ballon 10 ml de vin, 50 ml d'eau distillée et quelques grains de pierre ponce.

Brancher le réfrigérant et distiller environ 50 ml de solution. La fiole jaugée étant au préalable remplie d'environ 30 ml d'eau distillée.

Rincer l'allonge et ajuster.

## I - 2 Oxydation par le mélange sulfochromique : (2 essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri de 500 ml, introduire :

- 20 ml de solution de dichromate de potassium

— 10 ml d'acide sulfurique concentré, lentement à l'aide de l'éprouvette graduée (DANGEREUX : mettre des lunettes de sécurité).

## Refroidir puis ajouter:

— 10 ml de distillat alcoolique

Boucher, agiter doucement.

Attendre 20 min afin que l'oxydation soit totale.

## I - 3 Dosage de l'excès de dichromate de potassium:

## Ajouter:

- 300 ml d'eau distillée

- 30 ml d'acide orthophosphorique pur

- 20 goutes d'indication rédox (diphénylamine sulfonate de baryum)

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à coloration vert franc. (Ve ml)

## I - 4 Etalonnage du sel de Mohr : (2 essais)

## Opérer sur :

- 10 ml de solution de dichromate de potassium

5 ml d'acide sulfurique concentré (mêmes précautions que précédemment)

- 150 ml d'eau distillée

- 15 ml d'acide orthophosphorique pur

20 gouttes d'indicateur rédox

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'au virage. (Vt ml)

**Données:** 1 litre de la solution de dichromate utilisée oxyde 10 g d'éthanol pur, (Elle a été préparée en dissolvant 42,572 g de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> dans un litre d'eau distillée) dichromate de potassium : 294,2 g.mol<sup>-1</sup>

#### II - DOSAGE DU FER DU VIN PAR COLORIMETRIE. METHODE A L'ORTHOPHENANTROLINE

#### II - 1 Préparation de 100 ml de solution étalon de Fer II de concentration 10 mmol.1<sup>-1</sup>.

Peser m grammes de sel de Mohr.

Dissoudre dans 20 ml d'eau distillée bouillie refroidie.

Ajouter 5 ml de solution d'acide sulfurique de concentration environ 0.05 mol.1<sup>-1</sup> et compléter le volume à 100 ml avec de l'eau distillée bouillie et refroidie.

### II - 2 Préparation de 50 ml de solution fille contenant 0,2 mmol de Fer II par litre à partir de la solution étalon.

(Utiliser de l'eau distillée bouillie et refroidie).

#### II - 3 Préparation de la gamme colorée :

A l'aide de cette solution fille faire une gamme de 5 tubes contenant respectivement 0; 0,2; 0,4; 0,6 et 0,8 umol de Fer II.

Aiouter dans chaque tube:

- 3 ml de tampon acétate
- 1 ml de solution d'hydroquinone
- 0,5 ml de chlorhydrate d'orthophénantroline

Compléter chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée.

#### II - 4 Lectures:

Agiter, laisser reposer 20 min. Mesurer les absorbances à 510 nm.

## II - 5 Dosage du Fer dans le vin blanc :

Traiter 5 ml de vin dans les mêmes conditions que les tubes de la gamme. Faire 2 essais  $(E_1 \text{ et } E_2)$ 

Mesurer l'absorbance."

## II - 6 Contrôle du Fer contenu dans la solution de sel de Mohr utilisée pour le dosage de l'éthanol :

Diluer cette solution au 1/1000 avec de l'eau distillée bouillie et refroidie (par dilutions successives au 1/10 puis au 1/100). On obtient la solution S. Réaliser le dosage colorimétrique sur 1 ml de solution S dans les mêmes conditions que les tubes de la gamme.

Faire 2 essais (S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub>)

**Données**: Fe =  $56 \text{ g.mol}^{-1}$ 

sel de Mohr = sulfate de fer II et d'ammonium hexahydraté de masse molaire 392 g.mol<sup>-1</sup>

- II EXPRESSION DES RESULTATS : Complèter la feuille de résultats.
  - III 1 Calculer la concentration massique en éthanol du vin analysé.
  - III 2 Calculer la masse de sel de Mohr à peser pour réaliser la solution étalon fer II.
    - Indiquer le mode de dilution de la solution étalon pour obtenir la solution fille.
    - Complèter le tableau de la feuille de résultats.
    - Tracer la courbe d'étalonnage du spectrophotomètre.
    - Déterminer la quantité de fer contenue dans les tubes « essais » E et S.
    - Calculer la concentration molaire du fer du vin en mmol.1-1.
    - Calculer la concentration molaire du fer de la solution S en mmol.1<sup>-1</sup>.
       Comparer ce résultat avec celui que l'on peut déduire du paragraphe I 4.
       Conclure.

#### FEUILLE DE RESULTATS

#### I - Dosage de l'éthanol du vin

Ve ml	Vt ml

Concentration massique en éthanol du vin : Calcul :	
Résultat :	g.1 <sup>-1</sup>

## II - Dosage du fer par colorimétrie :

- masse de sel de Mohr pesée :
- mode de dilution de la solution étalon pour obtenir la solution fille :

#### - Tableau:

N° tube	0	1	2	3	4	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>
$\mu$ mol. de fer II par tube	0	0.2	0.4	0.6	0.8				
Volume solution fille (ml)									
Vin blanc (ml)									
Solution S (ml)									
Réactifs (ml)	4,5	4.5	4.5	4.5	4.5				
Eau distillée (ml)									
Absorbance (A)									

Joindre la courbe d'étalonnage à cette feuille.

- Quantité de fer contenue dans les tubes « essais »

E

S

- Concentration molaire du fer du vin (en mmol.l<sup>-1</sup>)

- Concentration molaire de fer de la solution S (en mmol.l-1)

- Comparaison; conclusion.

Calcul:

# **B5 PREPARATION ET MONTAGE**

## ACADEMIE DU GROUPE 1

## PREPARATION

#### REMIER SUIET

#### REPARATION DE LA PROPANONE

# I - Interrogation préliminaire

- 1°) Ecrire l'équation chimique traduisant l'action du dichromate de sodium en milieu sulfurique sur le propanol 2, sachant qu'il se forme de la propanone.
- 2°) Calculer la masse théorique de propanone obtenue.

#### ONNEES

masses (m) et volumes (V) utilisés.

- propanol 2 = 40 g : (d : 0,785)
- dichromate de sodium cristallisé

 $(Na_2 Cr_2O_7, 2H_2O) : (m = 66 \text{ grammes})$ 

- acide sulfurique concentré V = 50 cm<sup>3</sup> (d : 1,83 : pureté 96 % en masse)

 $Na = 23 Cr = 52 O = 16 H = 1 S = 32 C = 12 (en g.mol^{-1})$ 

#### II - Manipulation

#### A - MODE OPERATOIRE

- 1°) Dans un bécher de 400 cm³, introduire 66 g de dichromate de sodium dihydraté dans 100 cm³ d'eau. Agiter pour dissoudre. Ajouter avec précaution 50 cm³ d'acide sulfurique concentré. Refroidir à température ambiante.
- 2°) Dans un ballon tricol de 500 cm³ introduire 51 cm³ (40g) de propanol 2 (d = 0,785, température d'ébullition 82,4°C) et quelques grains de pierre ponce. Adapter une ampoule de coulée, une agitation mécanique à joint étanche, un montage pour distillation.
- 3°) Porter le propanol 2 à une température légèrement inférieure à sa température d'ébullition, par exemple 75°C environ. Mettre en mouvement l'agitation et verser lentement par l'ampoule de coulée le mélange sulfochromique préparé en 1.

Régler chauffage et débit d'écoulement du mélange sulfochromique de façon que la température ne dépasse pas 75°C au cours de la distillation. Recueillir tout le distillat dans un récipient sec.

- 4) Sécher le distillat sur du sulfate de magnésium anhydre.
- 5) Filtrer sur tampon de laine de verre dans un ballon à distiller de 250 cm<sup>3</sup>. Procéder à une rectification du distillat initial en recuelllant la propanone à son palier de distillation dans une éprouvette sèche et tarée de 50 cm<sup>3</sup>. Noter la température d'ébullition.
- 6) Mesurer le volume de propanone. Peser. Mesurer l'indice de réfraction.

#### **B - COMPTE RENDU**

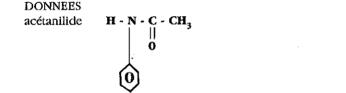
- 1) Rédiger la feuille de marche : horaire, opérations, observations et justications.
- Indiquer : le volume de propanone recueilli (V)
   la masse de propane (m) et le rendement de la préparation.
- 3) Calculer le rapport m/V. Quelle est sa signification ?
- 4) Donner l'indice de réfraction du produit et la température d'ébullition.

#### DEUXIEME SUJET

#### PREPARATION DE LA PARANITROACETANILIDE

#### I - Introduction préliminaire

 Ecrire l'équation de la réaction de préparation de la p. nitroacétanilide par action du mélange sulfo-nitrique sur l'acétanilide.



C = 12 N = 14 O = 16 H = 1  $(en g.mol^{-1})$ 

- 2) Quel est le rôle de l'acide sulfurique?
- 3) Calculer la masse théorique de p. nitroacétanilide.

#### DONNEES

- masse d'acétanilide utilisée = 12,5 g
- volume d'acide nitrique :  $V = 7.5 \text{ cm}^3$  ( $\varrho = 1.38 \text{ g.cm}^{-3}$  et pureté = 61% en masse)

#### II - Manipulation

## A - Mode opératoire

Dans un bécher de 250 cm³, dissoudre 12,5 g d'acétanilide sec réduit en poudre dans 13 cm³ d'acide acétique cristallisable.

Introduire dans le mélange bien agité et en plusieurs fois, 25 cm³ d'acide sulfurique concentré. Le mélange s'échauffe et on obtient une solution claire.

Dans une ampoule à brome, introduire :

- 7,5 cm³ d'acide nitrique concentré (d : 1,38)
- 3,5 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré (d : 1,83)

Immerger le bécher dans un mélange réfrigérant ; agiter régulièrement ; quand la température de la solution est de 0°C à 2°C, verser le mélange sulfonitrique peu à peu et en agitant toujours régulièrement. Au cours de cette opération la température doit-être surveillée attentivement et ne jamais dépasser 10°C.

Quand tout le mélange acide a été ajouté, ôter le bécher du mélange réfrigérant et le laisser reposer à la température ambiante pendant une demi-heure.

Verser ensuite le mélange dans 250 cm³ d'eau froide. La para-nitroacétanilide brute précipite aussitôt.

Laisser reposer pendant 15 minutes puis filtrer sur Büchner. Remettre le précipité en suspension dans l'eau froide pour le laver. Filtrer.

Récommencer l'opération jusqu'à ce que les eaux de rinçage ne soient plus acides. Bien essorer, sécher sur papier filtre.

Recristalliser le produit jaune pâle avec de l'éthanol. Filtrer sur Büchner. Laver avec un peu d'alcool froid. Essorer, sécher sur papier filtre. Mettre ensuite à l'étuve à 120°C pendant une demi-heure. Peser. Prendre le point de fusion.

### B - Compte rendu

- 1°) Etablir la feuille de marche détaillée : horaire, opérations, observations et justifications.
- 2°) Résultats : déterminer la température de fusion de la paranitroacétanilide et le rendement de l'opération.

## TROISIEME SUJET

#### ACETATE DE (n) BUTYLE

## l - Interrogation préliminaire

- Ecrire l'équation de la réaction correspondant à cette préparation.
- Ouel est le rôle de l'acide sulfurique?
- Calculer la masse théorique d'ester.

#### Données

- Volumes utilisés :
- acide acétique pur :  $V = 30 \text{ cm}^3 (\varrho = 1,05 \text{ g/cm}^3)$

butanol 1 : V : 32 cm<sup>3</sup> ( $\varrho = 0.81 \text{ g/cm}^3$ )

-C = 12 H = 1 O = 16 (en g.mol<sup>-1</sup>)

#### II - Manipulation

Cette manipulation comprend deux parties:

- la préparation de l'acétate de (n) butyle à partir de l'acide acétique (ou éthanoï que) et de butanol 1.
- la purification de cet ester par lavage, séchage et distillation.

#### 1°) Préparation de l'ester :

Dans un ballon bien sec de 250 cm³, introduire quelques billes de verre, 30 cm d'acide acétique pur, puis avec précaution 2 cm³ d'acide sulfurique concen tré, et enfin, après mélange des réactifs précédents, ajouter 32 cm³ de butanol 1 Surmonter le ballon d'une colonne à reflux total à circulation d'eau et chauffe pendant environ soixante minutes en maintenant une ébullition douce. Refroldir alors jusqu'à température ambiante.

#### 2°) Purification de l'ester :

#### a) lavage:

Introduire avec précaution (port de lunettes) le mélange réactionnel dans une ampoule à décanter de 250 cm³ contenant 50 cm³ d'eau. Agiter puis laisser décanter.

Séparer et jeter la phase aqueuse inférieure.

Laver la phase organique deux fois avec 30 cm³ d'eau et une fois avec 30 cm³ d'une solution de carbonate de sodium à 10 %. Recueillir alors la phase organique dans une fiole d'Erlenmeyer de 100 cm³.

## b) Séchage:

Sécher cette phase avec peu de carbonate de sodium solide bien sec. Filtres sur entonnoir avec un petit tampon de laine de verre et recueillir directement dans le ballon de distillation (100 cm³).

#### C) Distillation:

Réaliser une distillisation sous la pression atmosphérique (verrerie bien sèche) et recueillir directement dans une éprouvette de 50 cm<sup>3</sup>. Noter la température au cours de cette opération.

Mesurer le volume d'ester obtenu et son indice de réfraction.

#### III - Compte-rendu

1°) Etablir la feuille de marche : horaire, opération, observations, et justifications.

## 2°) Résultats expérimentaux :

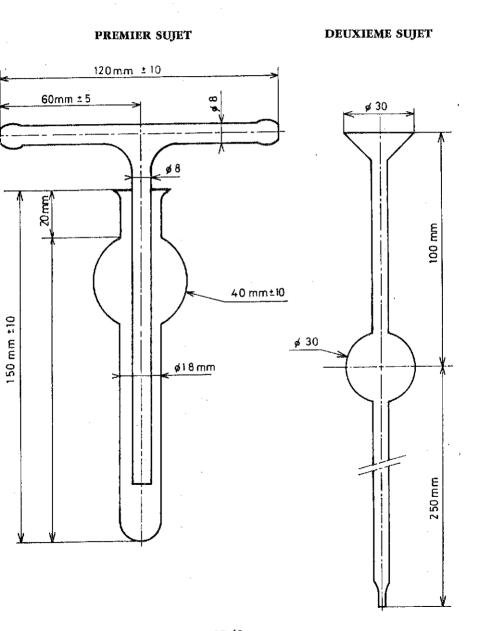
Donner la température de distillation de l'ester, ainsi que son indice de réfraction.

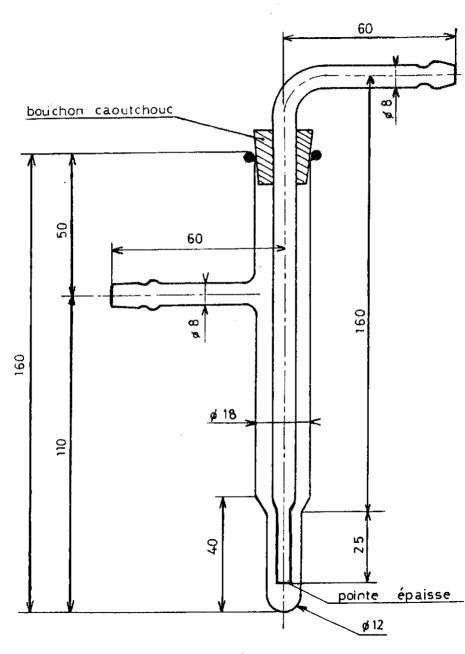
Indiquer le volume d'ester obtenu et en déduire sa masse (masse volumique de l'ester : 0,88 g.cm³)

En déduire le rendement de cette préparation.

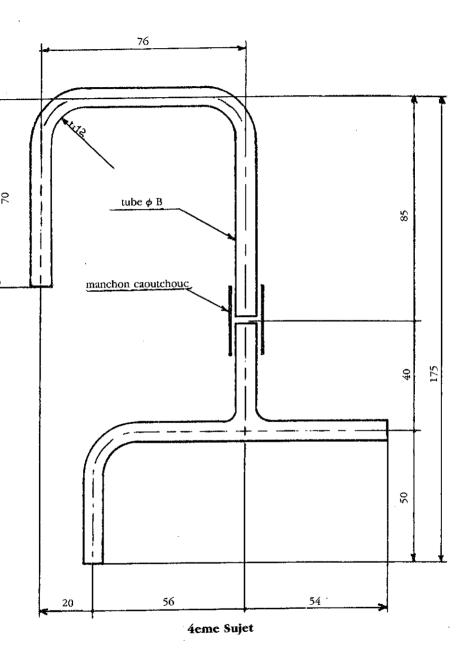
Données : C = 12 H = 1 0 = 16 (g.mol<sup>-1</sup>)

## MONTAGE





87.46



# **B6 MICROBIOLOGIE**

## **ACADEMIES DU GROUPE 1**

PREMIER SUJET PREMIER JOUR

1re épreuve :

#### Recherche des salmonella dans une viande hachée

Au cours de la recherche des Salmonella, on a ensemencé un bouillon sélénite de Leifson.

A partir de ce milieu, qui a été incubé 24 heures à 37°C, on demande d'effectuer un isolement sur un milieu sélectif approprié.

= - = - = - = - = - = -

## 2e épreuve :

Identification d'une souche pure d'entérobactérie, isolée d'une crème glacée et repiquée sur gélose nutritive

- 1°) Vérifier la morphologie à l'aide d'examens microscopiques.
- 2°) Ensemencer une galerie, d'identification du genre auquel appartient cette souche pure.

. \_ - \_ \_ - \_ - \_ - \_ - \_ - \_ - \_ - \_ -

## 3e épreuve :

Recherche du pouvoir bactériostatique de l'eau de Javel sur Escherichia coli.

1°) Préparation d'une gamme de dilution d'eau de Javel, selon

le tableau ci-après,

Chaque candidat dispose

- de tubes de 16, vides et stériles
- d'un flacon contenant 80 cm3 environ de bouillon stérile
- d'un flacon contenant une solution d'eau de Javel à 12° chlorométrique : Solution A.

Tubes	Bouillon (en cm³)	Eau de Javel	Dilutions de la solution A obtenues
0	9	1 cm³ solution A	1/10
1	5	5 cm³ dilution au 1/10	1/20
2	5	5 cm³ dilution au 1/20	1/40
3	5	5 cm³ dilution au 1/40	1/80
4	5	5 cm³ dilution au 1/80	1/160
5	5	5 cm³ dilution au 1/160	1/320
6	5	5 cm³ dilution au 1/320	1/640
7	5	5 cm³ dilution au 1/640	1/1280
8	5	5 cm³ dilution au 1/1280	1/2560
9	5	5 cm³ dilution au 1/2560	1/5120
10	5	5 cm³ dilution au 1/5120	1/10240
11	5	5 cm³ dilution au 1/10240	1/20480
Témoin	5		

#### 2°) Ensemencement

Ajouter • 1 goutte de dilution au 1/100 de la culture en bouillon d'Escherichia coli, dans les tubes numérotés de 0 à 10 et dans le tube témoin.

• 2 gouttes dans le tube 11

Incuber 24 h à 37°C.

#### DEUXIEME JOUR

#### 1 ere épreuve :

#### Recherche de Salmonella dans une viande hachée

Repérer les colonies suspectes Effectuer le(s) test(s) enzymatique(s) pouvant orienter l'identification. Conclure

## 2° épreuve :

## Identification d'une souche pure d'entérobactérie

Lecture des milieux. Effectuer les tests complémentaires. Interpréter les résultats obtenus. Identifier le genre et éventuellement l'espèce.

#### 3e épreuve

#### Pouvoir bactériostatique de l'eau de Javel à 12° chlorométrique sur Escherichia coli

Quelle est la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la solution capable d'inhiber totalement le développement d'E. coli ? Discuter ce résultat.

#### DEUXIEME SUJET

#### 1re épreuve

#### Détermination d'une CMI

On désire déterminer la concentration minimale (CMI) de pénicilline capable d'inhiber une culture de staphylocoques à tester, présentée en bouillon nutritif. On procède par la méthode de dilution en milieu liquide.

## 1 Préparation d'une gamme de dilution

- A partir d'une solution de pénicilline à 2000 U/cm³, procéder comme suit :

Solutions de pénicilline (volumes en cm³)	Volume de bouillon nutritif (cm³)	dilution obtenue (U/cm³)
2 cm³ de la solution à 2000 U/cm³	13,6	256
1 cm³ de la dilution à 256 U/cm³	7	32
1 cm³ de la dilution à 32 U/cm³	7	4
1 cm³ de la dilution à 4 U/cm³	7	0,5
1 cm³ de la dilution à 0,5 U/cm³	7	0,063
1 cm³ de la dilution à 0,063 U/cm³	7	0,008
1 cm³ de la dilution à 0,008 U/cm³	7	0,001

## 2 Ensemencement de la gamme

- Répartir, dans une série de tubes à hémolyse, 1 cm³ de chacune de ces différentes dilutions en commençant par la plus grande. Réaliser un tube témoin avec 1 cm³ de bouillon nutritif.
- Ajouter 1 goutte de bouillon de culture de staphylocoques dans chacun de ces tubes.
- Ajouter et incuber à 37° C pendant 24 heures.

#### 2° épreuve :

## Etude bactériologique d'un lait pasteurisé

### 1) Identification des coliformes

La gélose EMB proposée est un isolement réalisé à partir d'un bouillon lactosé bilié au vert brillant donnant une culture après incubation à 37°C pendant 48 heures.

Identifier la souche isolée par une étude morphologique et l'établissement d'une galerie d'identification. (les milieux nécessaires et suffisants seront fournis au vu d'une liste établie par le candidat). On vérifiera la pureté de la souche par un réisolement sur gélose ordinaire.

## 2) Recherche des staphylocoques pathogènes :

A partir du bouillon Chapman d'enrichissement fourni, réaliser un isolement sur milleu de Baird-Parker.

#### ROISIEME SUJET

#### 1re épreuve :

## Analyse d'une eau de consommation

1) Dénombrement total des germes aérobies mésophiles contenus dans 1 cm³ d'eau à analyser.

Dilutions à ensemencer :  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ .

Méthode en double couche.

- Deux boîtes par dilution.
- 2) Test de contamination fécale. A partir d'un bouillon lactosé positif lors de la recherche des coliformes, réaliser :
  - le test de confirmation d'Escherichia coli
  - l'isolement sur gélose E.B.M. (gélose éosine-bleu de méthylène).

## 2e Epreuve :

## Identification d'une bactérie

Identifier la bactérie suspecte isolée de l'eau et présentée sur gélose inclinée.

# SESSION 1988

# **Sommaire**

A2 Philosophie: 88 - 2

A3 Physiologie et Chimie: 88 - 3

B1 Biochimie: 88 - 14

B2 Techniques du Laboratoire de

Biochimie: 88 - 18

B3 Microbiologie et Techniques du Laboratoire de

Microbiologie: 88 - 22

A6 Mathématiques et Physique: 88 - 27

B4 T.P. de Biochimie: 88 - 31

B5 Préparation et Montage: 88 - 44

B6 T.P. de Microbiologie: 88 - 50

# **A2 PHILOSOPHIE**

#### 1er SUJET

Commenter cette affirmation d'un philosophe: «Les convictions sont des ennemies de la vérité plus dangereuses que les mensonges ».

#### 2º SUJET

Pour quelles raisons devrait-on respecter la nature?

#### 3° SUJET

Il y a du sérieux dans l'art, et un résultat à jamais, ce que toutes les espèces de jeu

repoussent énergiquement.

L'art tient de plus près au travail. Il s'en distingue pourtant par ceci que les formes du travail en appellent d'autres, par d'autres actions; le sillon annonce la moisson. On attend que la moisson soit mûre. L'homme ici se prépare et s'élance déjà pour briser la forme; il voit déjà les gerbes, la paille, la farine, le pain. Un jardin, au contraire, offre en chacune des saisons quelque chose de fini et repousse, en quelque sorte, la main de l'homme. Encore faut-il dire que la beauté d'un jardin ne consiste pas principalement dans ces fragiles apparences de couleurs ou de feuillages, sans durée et sans solidité, mais plutôt en ces assises architecturales, comme terrasses, escaliers et lignes de grands arbres, toutes choses qui signifient durée au-delà d'une saison. Toutefois un jardin d'agrément est encore à peine une œuvre. Au lieu qu'on voit bien qu'une œuvre d'art est finie et en quelque sorte retranchée, formant îlot dans le travail. Dans les choses façonnées par le travail, tout raconte qu'elles servent, qu'elles serviront, qu'elles ont servi.

Leur honneur est de s'user en produisant, comme on voit pour l'outil. Leur fin est hors d'elles; au lieu que les œuvres sont elles-mêmes leur propre fin.

#### **ALAIN**

#### QUESTIONS

- 1°) Vous dégagerez l'idée directrice de ce texte et les différents moments de l'analyse.
- 2°) Expliquez: «un résultat à jamais, ce que toutes les espèces de jeu repoussent énergiquement». «Un jardin (...) offre en chacune des saisons quelque chose de fini et repousse, en quelque sorte, la main de l'homme».
- 3°) Pourquoi ALAIN a-t-il choisi l'exemple du jardin pour l'opposer à celui de la moisson? A votre avis, d'autres exemples pourraient-ils illustrer la pensée d'ALAIN?
- 4°) Essai: «Les œuvres sont elles-mêmes leur propre fin»: Quelle est, selon vous, la signification exacte de cette expression et est-ce ainsi que vous distingueriez vous-même les œuvres d'art des produits du travail?

# A3 PHYSIOLOGIE ET CHIMIE

## PHYSIOLOGIE

## 1e sujet

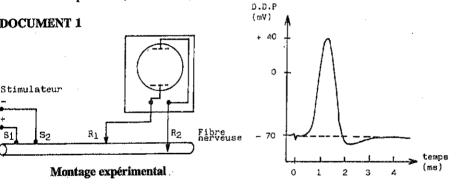
#### PHYSIOLOGIE NERVEUSE

#### I - Structure du neurone

Réaliser un schéma annoté d'un neurone bipolaire myélinisé.

#### II - L'infinx nerveux

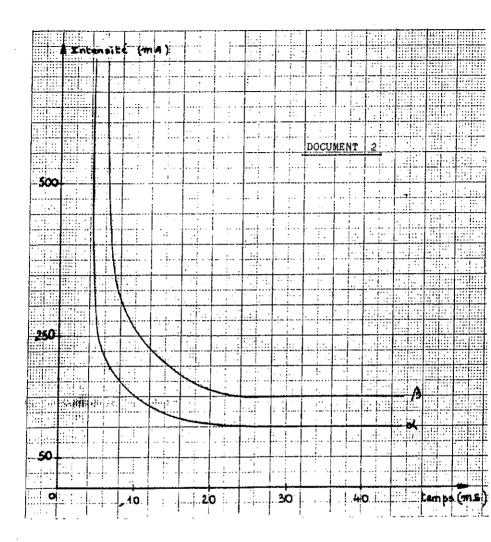
II - 1 On stimule électriquement une fibre nerveuse; le tracé obtenu sur l'oscilloscope est présenté (Document 1).



- Analyser le tracé obtenu et interpréter les variations de d.d.p. observées.
- Expliquer quels sont les mécanismes ioniques à l'origine de ces variations.
- II-2 La tétrodotoxine (substance extraite d'un poisson tropical) rend la membrane plasmique imperméable aux ions Na<sup>+</sup>.
  - Quel type de réponse obtiendrait-on si l'on traitait l'axone par cette substance avant la stimulation? Expliquer.

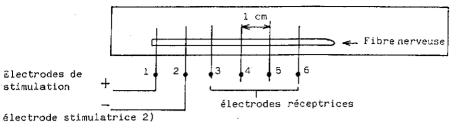
#### III - Etude des caractéristiques de la fibre nerveuse

III - 1 On détermine sur des fibres isolées de nerf sciatique de grenouille (fibres  $\alpha$  et fibres  $\beta$ ) l'intensité minimale pour exciter chacune des fibres, ceci pour différentes durées de stimulation. On obtient les courbes « intensité - durée » présentées sur le document 2.



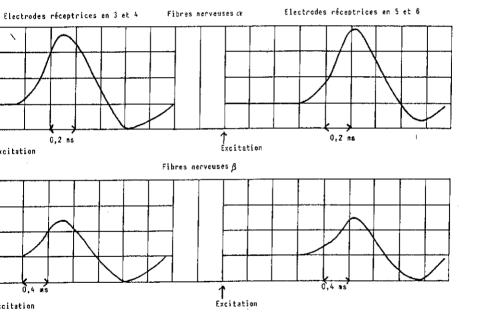
- III-1. 1 Définir la chronaxie
- III 1. 2 Calculer pour chaque courbe la valeur de la rhéobase et de la chronaxie.
- III-1. 3 En déduire quelles sont les fibres les plus excitables. Justifier la réponse.
- III-2. On désire mesurer la vitesse de conduction de ces fibres (toutes deux myélinisées).

Pour cela on dispose du montage suivant:



Les enregistrements obtenus sur l'oscilloscope correspondent au document 3.

#### **DOCUMENT 3**



- III-2. 1 Calculer les vitesses de conduction (m.s-1) pour la fibre  $\alpha$  et la fibre  $\beta$ 
  - Comparer l'amplitude de la réponse entre les fibres  $\alpha$  et  $\beta$
  - De l'ensemble de ces résultats que conclure?
- III-2. 2 Expliquer à l'aide de schémas simples, comment se fait la conduction de l'influx nerveux le long de ces fibres myélinisées.

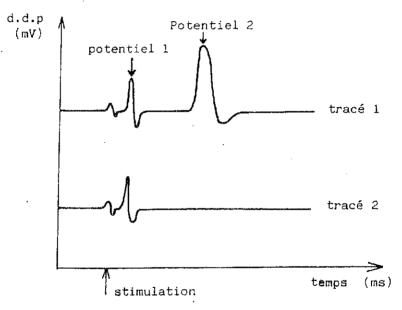
#### IV - Transmission de l'influx nerveux

Un muscle de la cuisse chez la grenouille est stimulé par l'intermédiaire de son nerf moteur. Deux paires d'électrodes réceptrices reliées à l'oscilloscope sont placées l'une au niveau de nerf et l'autre au niveau du muscle.

Deux expériences sont réalisées:

- expérience 1: une stimulation efficace est portée sur le nerf moteur et on obtient le tracé 1 (document 4).
- expérience 2: après injection intraveineuse de curare, la même stimulation est portée sur le nerf moteur et on obtient le tracé 2 (document 4).

#### DOCUMENT 4

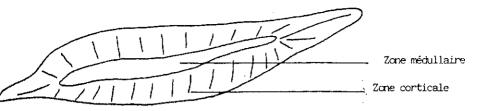


- IV-1 A quoi correspondent les deux potentiels enregistrés au niveau du tracé 1? Comment interpréter le décalage entre les deux potentiels?
- IV-2 Quelle différence présente le tracé 2 par rapport au tracé 1? Sachant qu'une même stimulation portée directement sur le muscle de la cuisse engendre un potentiel d'action et que le curare est un analogue structural de l'acétylcholine, justifier le tracé 2.

# 2e sujet

## **QUELQUES ASPECTS DU FONCTIONNEMENT DES GLANDES SURRENALES.**

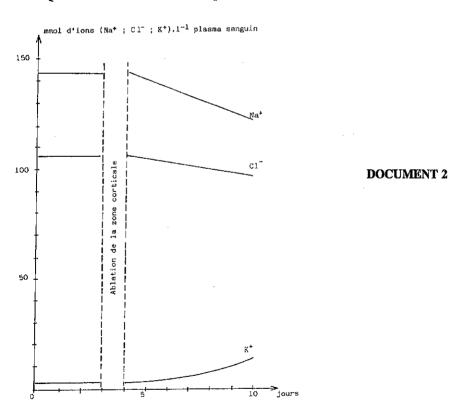
Les surrénales sont des glandes richement vascularisées situées à la partie supérieure de chaque rein. Chacune d'elle présente une zone centrale ou médullosurrénale et une zone périphérique ou corticosurrénale (document 1).



## DOCUMENT 1

#### - Rôle de la zone corticale

- I-1 L'ablation totale, chez le chien, de la zone corticale provoque des troubles métaboliques entraînant la mort en quelques jours. Les résultats des analyses de plasma sanguin sont traduits sur les courbes du document 2.
  - Quels rôles des corticosurrénales peut-on en déduire?



I-2 Chez l'homme, des analyses de plasma sanguin, de liquide intracapsulaire du néphron et d'urine ont donné les valeurs consignées dans le tableau A.

TABLEAU A

liquides biologiques  concentration en mmol d'ions.1-1 de liquide biologique	plasma	liquide intracapsulaire du néphron	urine
C1-	101	104	134
Na+	140	140	167
K+	5	5	50

Par ailleurs le volume d'urine émise en 24 heures est de 1,5 litres et le volume de plasma filtré dans le même temps est de 180 litres.

I-2.1 Reproduire et compléter le tableau Baprès avoir réalisé les calculs demandés.

TABLEAU B

Ions	quantité (mmol d'ions) présente dans le liquide intercapsulaire en 24 h	présente dans l'urine	fraction d'ions éliminée dans les urine en %
CI- ·			
Na+			
K+			

- I-2.2 A partir de l'analyse des tableaux A et B, préciser les mécanismes rénaux d'élaboration de l'urine mis en évidence.
- I-2.3 On injecte des extraits corticosurrénaliens à un chien privé de corticosurrénales pendant plusieurs jours. Les résultats d'analyse de plasma sanguin sont notés dans le tableau C ci-dessous:

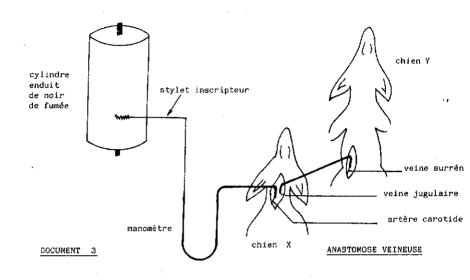
#### ABLEAU C

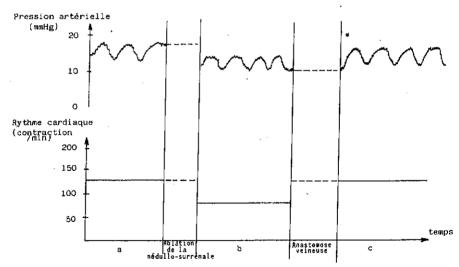
Plasma sanguin	avant injection	après injection
Concentration en mmol d'ions.l-1		
Cl-	94	106
Na <sup>+</sup>	120	144
<b>K</b> +	11	3

- I-3.1. Quels sont les effets de l'injection?
- I- 3.2. Préciser la nature et le nom de la substance active contenue dans la corticosurrénale. Donner sa définition générale.
- I-3.2. Comment et où agit-elle?

#### I. Rôle de la zone médullaire

- L'ablation de cette zone chez le chien s'accompagne de modifications de la pression artérielle et du rythme cardiaque.
- Epérience 1: On enregistre la pression artérielle et on mesure le rythme cardiaque chez un chien X avant et après ablation de la zone médullaire (document 4; graphes 4a et 4b).
- Epérience 2: On réalise une anastomose veineuse entre le chien X précédent, privé de médullosurrénales, et un chien normal Y (document 3). Les variations de pression artérielle et de rythme cardiaque du chien X sont représentées (graphe 4c).
- Epérience 3: Chez un chien normal, la stimulation du nerf splanchnique innervant la médullossurénale déclenche une augmentation de pression artérielle et une tachycardie.
- Epérience 4: De la zone médullaire est extraite une substance qui en injection intraveineuse à un chien, à raison de 1.10.5 mg par kg d'animal reproduit les mêmes effets que ceux observés lors de la stimulation du nerf splanchnique.





DOCUMENT 4 : Enregistrements de la pression artérielle et du rythme cardiaque chez

- II 1. Analyser et interpréter les quatre expériences ci-dessus.
- II-2. Quels sont les rôles de la zone médullaire? Comment agit-elle? Donner le nom de la substance active.

## 🛚 - Interrelations des glandes surrénales et de l'hypophyse

#### **Observations**

Première observation: Toute diminution du taux de substance active sécrétée par

la zone corticale déclenche l'augmentation du taux plasmatique d'une hormone hypophysaire stimulant cette même zone. Inversement, toute augmentation de la sécrétation corticosurrénalienne provoque une diminution de la sécrétion de la stimuline hypophysaire correspondante.

Deuxième observation: A l'état normal, les quantités de substance active sécrétée par la zone médullaire et déversée dans le sang sont très

faibles. Une émotion, par contre, est suivie d'une décharge

de substance active.

#### Questions

- III-1 Analyser et interpréter les 2 observations ci-dessus.
- III-2 Expliquer, à l'aide d'un schéma, les relations mises en évidence entre les différents éléments concernés.

## **CHIMIE**

#### I - Cinétique

Le chlorure de benzène diazonium en solution acqueuse se décompose dès que le température devient supérieure à 10 ° C selon l'équation:

$$C_6 H_5 N_2 C1 \longrightarrow C_6 H_5 C1 + N_2$$

La mesure du volume V de diazote dégagé, à température et sous pression constantes permet d'étudier l'évolution de cette réaction dans le temps. On travaille dans des conditions où le volume molaire est  $V_m=24\ dm^3$ . mol-¹. On utilise un volume  $v=35\ cm^3$  d'une solution contenant 11,1 g de chlorure de benzène diazonium par litre On obtient les résultats suivants :

t (s)	100	200	300	400	500	750	1000	1250	1400
V (cm³)	8,2	17,8	25,2	30,5	36,5	46,1	52,1	56,2	58,3

- I- 1 Calculer la concentration initiale Co du chlorure de benzène diazonium dans la solution. Montrer que la concentration C de ce même réactif aux diverses dates indiquées dans le tableau, s'exprime en fonction de Co, v, V et Vm. Calculer cette concentration C à ses diverses dates.
- I-2 Utiliser une méthode graphique pour montrer que cette réaction est d'ordre 1.
- I-3 Déterminer la constante de vitesse et le temps de demi-réaction.

**Données:** C : 12 g. mol<sup>-1</sup> N : 14 g. mol<sup>-1</sup>

C1 : 35,5 g. mol-1 H : 1 g. mol-1

#### II - Acido-basicite

 II-1 Calculer le pH d'une solution de chlorure d'ammonium de concentration égale à: 0,10 mol. dm<sup>-3</sup>

On donne pour le chlorure d'ammonium:  $pk_A = 9,2$  et l'eau:  $pk_e = 14$ 

- II-2 On dose 20 cm³ de la solution précédente par de la soude de concentration c<sub>B</sub>=0,20 mol, dm<sup>-3</sup>. Déterminer le volume à l'équivalence.
   Calculer le pH à l'équivalence.
- II-3 On mélange 50 cm³ d'acide chlorhydrique de concentration 0,30 mol. dm-3 et 100 cm³ de solution de chlorure d'ammonium de même concentration.
  - a) Calculer le pH de la solution obtenue
  - b) Calculer le coefficient de dissociation  $\alpha$  de l'ion  $NH_4^+$  dans ce mélange.

## I - Précipitation - Dissolution

I-On mélange 50 cm³ de solution de nitrate Ba (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> de concentration 10<sup>-2</sup> mol.dm<sup>-3</sup> et 50 cm³ de solution d'iodate de potassium KIO<sub>3</sub> de même concentration.

Y a-t-il précipitation d'iodate de baryum?

Constante de solubilité de l'iodate de baryum à la température considérée: Ks = 1,6.10-9.

- II Calculer la solubilité dans l'eau de l'iodate de baryum.
- III Calculer la solubilité de l'iodate de baryum dans une solution d'iodate de pootassium de concentration 10-2 mol.dm-3.
- IV On a obtenu, puis filtré un précipité d'iodate de baryum. Quelle sera la masse de précipité perdue si on le lave : avec 100 cm³ d'eau?
  - avec 100 cm<sup>3</sup> de la solution d'iodate de potassium?

Données:

Ba: 137 g.mol-1

O: 16 g.mol-1

I: 127 g.mol-1

# **B1 BIOCHIMIE**

#### I - Etude de la $\beta$ - Galactosidase

La  $\beta$  - galactosidase d'Escherichia coli dégrade le lactose des milieux de culture. L'étude cinétique de cette enzyme est effectuée en utilisant comme substrat (S) l'orthonitrophényl $\beta$  - D galactoside, en l'absence et en présence de maltose, à pH 7,7 et à 25°C.

Les mesures des vitesses initiales pour chaque expérience sont données dans le tableau ci-dessous, en unités d'absorbance par minute (U arb). Les lectures sont faites à 410 nm dans une cuve de 1 cm de trajet optique.

	absence de maltose	présence de maltose
[S] en mol.1-1	v <sub>i</sub> (U arb)	v <sub>i</sub> (U arb)
2,5.10-5	0,033	0,0165
5.10-5	0,055	0,0275
1.10-4	0,0825	0,041
2,5.10-4	0,118	0,059
5.10 <sup>-4</sup>	0,138	0,069
1.10-3	0,150	0,075

I-1 Ecrire l'équation de la réaction de dégradation du lactose catalysée par la  $\beta$ - galactosidase.

Lactose:  $\beta$  - D galactosyl - (1-4) -  $\beta$  - D - glucose.

- I 2 Préciser la spécifité de la  $\beta$  galactosidase.
- I-3 A quelle classe d'enzymes appartient la galactosidase?
- I-4 Cette enzyme a une cinétique michaelienne. Définir les paramètres  $K_m$  et  $V_m$ . Déterminer graphiquement ces paramètres en l'absence de maltose à partir de

la courbe 
$$\frac{1}{v_i} = f(\frac{1}{S})$$
  
Echelles: 1 cm = 4000 mol<sup>-1</sup>.1  
1 cm = 5 U arb<sup>-1</sup>

I-5 Déterminez, à partir des résultats de l'expérience en l'absence de maltose, l'activité de l'enzyme dans le mélange réactionnel, exprimée en U.I.1 -1

Donnée: coefficient d'extinction molaire de l'orthonitrophénol

$$\hat{a}$$
 410 nm  $\epsilon = 330 \text{ mol}^{-1}.1 \text{ cm}^{-1}$ 

- I-6 La concentration de l'enzyme dans le mélange réactionnel est de 1, 19.10-1.mol.l-1. Calculez l'activité spécifique molaire.
- I-7 Déterminer l'action du maltose sur l'enzyme. Justifier la réponse.
- I-8 La valeur du K  $_{\rm m}$  de la  $\beta$  galactosidase en présence de lactose est égale à 4.10 -3 mol.1 -1. Pour quel substrat (lactose ou orthonitrophényl  $\beta$  D galactoside) l'enzyme a-t-elle le plus d'affinité? Justifiez votre réponse.

### I - Aspects énergétiques de la synthèse du saccharose

La réaction:

s'accompagne d'un  $\Delta$  G' o égal à + 23 kJ. mol -1.

- II 1 Donner la signification de Δ G'<sub>O</sub>.
   Qu'appelle-t-on conditions standard en biochimie?
   La réaction précédente est-elle possible dans les conditions standard?
   Justifiez la réponse.
- II 2 Dans la cellule, la synthèse du saccharose s'effectue en 2 étapes :

ATP + glucose 
$$\frac{1}{4}$$
 ADP + glucose - 1 - phosphate  
Sqlucose - 1 - phosphate + fructose  $\frac{2}{4}$  saccharose + P<sub>1</sub>  $\Delta G'_{0} = O$  kJ. mol -1

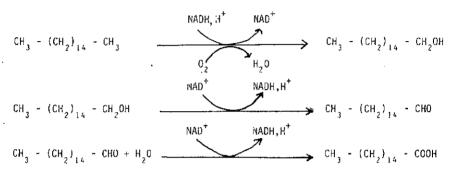
- II 2.1 Donner la structure simplifiée de l'A T P. Que signifie cette abréviation?
- II 2.2 Déterminer le  $\triangle$  G'o de la réaction 1 Données: A T P + H<sub>2</sub> O  $\longrightarrow$  ADP + P<sub>i</sub>  $\triangle$  G'o = -30 KJ. mol -1
- II -2.3 Etablir les bilans moléculaire et énergétique de la synthèse du saccharose, à partir des oses constitutifs, dans la cellule.
   Préciser le rôle de l'ATP dans cette synthèse.

#### III - Métabolisme

Des substrats hydrocarbonés variés peuvent être utilisés comme unique source de carbone par de nombreux microorganismes. C'est en particulier le cas du n-hexadécane,  $CH_3$ .  $(CH_2)_{14}$  -  $CH_3$ , produit de distillation du pétrole, composé métabolisable en aérobiose par Candida lipolytica.

On utilise une souche mutante de Candida lipolytica, incapable de synthétiser un cœnzyme la thiamine pyrophosphate (TPP), dans un procédé de production d'acide glutamique.

III - 1 Le n-hexadécane est dans une première étape oxydé en acide palmitique, selor le schéma réactionnel suivant:



- III 1.1 Etablir le bilan moléculaire de l'oxydation du n-hexadécane en acide palmitique
- III 1.2 Donner la structure simplifiée du NAD+. Epliquer son mode de fonctionnement. Préciser la relation de ce cœnzyme avec une vitamine.
- III 2 L'acide palmitique est ensuite activé en palmityl-CoA, puis dégradé suivant le processus de la  $\beta$ -oxydation.

### III - 2.1 Etape d'activation:

- III 2.1.1 Ecrire la réaction d'activation (substrat et produit sous forme chimique).
- III 2.1.2 Définir les liaisons à haut potentiel d'hydrolyse.
- III 2.1.3 Certains composés participant à la réaction d'activation possédent de telles liaisons. Lesquels? Préciser la nature de ces liaisons.

### III - 2.2 $\beta$ -oxydation :

III - 2.2.1 Ecrire les équations des réactions conduisant à la libération d'un acétyl-CoA à partir du palmityl-CoA (indiquer le nom des enzymes et noter produits et substrats sous forme chimique).

- III 2.2.2 Etablir le bilan moléculaire de la dégradation du n-hexadécane en acétyl-CoA.
- III 3 Les voies métaboliques impliquées ensuite dans le procédé de biosynthèse de l'acide glumatique sont présentées ci-après.

### II - 3.1 Biosynthèse de l' lpha -cétoglutarate conformément au schéma de la figure I.

A l'exception des réactions ① et ② propres à certains microorganismes, les réactions décrites appartiennent au cycle de Krebs.

III - 3.1.1 Complétez le schéma de la figure I (document à rendre avec la copie).

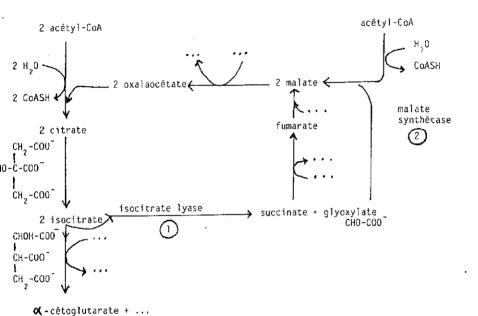


FIGURE I

III - 3.1.2 Effectuer le bilan moléculaire de la formation d'une molécule d' $\alpha$  -cétoglutarate, par l'intermédiaire de ce cycle, à partir de l'acétyl-CoA.

### III - 3.2 Biosynthèse du L-glutamate.

En présence d'un extrait acellulaire contenant de l'ammoniac et du NADH, H<sup>+</sup> l'a -cétoglutarate est réduit en L-glutamate.

Ecrire l'équation de la réaction (enzyme, substrats et produits sous forme chimique.

# **B2 TECHNIQUES DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE**

Sur le sachet d'un engrais solide commercialisé est précisée la composition suivante: X% d'azote total constitué de sulfate d'ammonium (N minéral) et d'urée (N organique), 15 % de phosphates solubles exprimés en  $P_2$   $O_5 = 15$  g de  $P_2$   $O_5$  dans 100 g d'engrais. On désire vérifier ces indications.

### I - Dosage de l'azote total

### I-1 Opération préliminaire

On utilise la méthode de Kjeldahl.

Introduire dans un matras:

-m = 0.9960 g d'engrais.

- 15 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique pur à 98 % en masse, de masse volumique

 $\varrho = 1.83 \text{ g. cm}^{-3}$ 

Chauffer jusqu'à décoloration. Refroidir le matras et transvaser quantitativement son contenu dans une fiole jaugée de 100 cm<sup>3</sup>.

Joindre les eaux de rinçage. Ajuster. On obtient la solution M.

#### I-2 Traitement de la solution M.

Opérer sur une prise d'essai E = 20 cm³ de solution M.

- Alcaliniser avec une solution concentrée d'hydroxyde de sodium à 30% en

masse, de masse volumique  $\dot{}$  = 1,33 g.cm<sup>-3</sup>.

- Distiller et récupérer le distillat dans une fiole d'Erlenmeyer contenant  $V_1 = 20 \text{ cm}^3$  de solution d'acide sulfurique de concentration molaire  $C_1 = 0.120 \text{ mol.dm}^3$  et quelques gouttes d'indicateur.

Verser  $V_2 = 8,80 \text{ cm}^3$  de solution d'hydroxyde de sodium de concentration molaire  $C_2 = 0,220 \text{ mol.dm}^{-3}$  pour obtenir le virage de l'indicateur.

### I-3 Questions - Résultats

I-3.1 Expliquer le but de l'opération préliminaire. Qu'obtient-on?

I- 3,2 Donner les équations de réactions et les précautions opératoires lors de l'étape I.2.

I-3.3 Calculer le volume minimum de solution d'hydroxyde de sodium concentrée à ajouter dans le ballon à distiller. Pourquoi n'est-ce qu'un minimum?

Données:  $H_2SO_4 = 98 \text{ g.mol}^{-1}$ 

Na OH =  $40 \text{ g.mol}^{-1}$ 

I-3.4 Etablir, en fonction de m, E, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, V<sub>1</sub> et V<sub>2</sub> la formule littérale donnant le pourcentage X d'azote total, en g pour 100 g d'engrais solide. Faire l'application numérique. Donnée:  $N = 14 \text{ g.mol}^{-1}$ 

I-3.5 Quel volume de la solution titrante d'acide sulfurique aurait-on versé, si on avait fait un dosage direct à partir de E cm<sup>3</sup> de solution M?

### II - DOSAGE DE L'AZOTE ORGANIQUE ET MINERAL : METHODE A L'UREASE.

Le dosage s'effectue à partir d'une solution contenant 0,2124 g d'engrais par dm<sup>3</sup>. L'étalonnage est réalisé à l'aide d'une solution mère à 1,605 g de chlorure d'amonium par dm<sup>3</sup>; elle est diluée 100 fois pour obtenir la solution étalon.

On prépare les 4 tubes suivants:

	Témoin réactif	Etalon	Essai A	Essai B			
Solution étalon (cm³)		10	1	/			
Solution d'engrais (cm³)		1	1	2			
Suspension d'uréase (cm³)		1	1	1			
		Placer 20 m	in à 37° C				
Suspension d'uréase inactivée (cm³)		1	1	1			
Réactif au phénol sodique phosphaté (cm <sup>3</sup> )		4	4	4			
Solution de nitroprussiate (cm³)		2	2	2			
Solution d'hypochlorite de sodium (cm³)		1	1	1			
Eau distillée (cm³)		2	11	10			
	Les absorbances sont lues après 45 min à 550 nm.						
Absorbances	0	0 0,57 0,59					

- II 1 Préciser le rôle et la composition du tube témoin réactif.
- II 2 L'absorbance de l'essai B est de 0,47; que dose-t-on dans ce tube?
- II 3 Expliquer le rôle de la suspension d'uréase dans l'essai A. Ecrire la réaction correspondante. Oue dose-t-on dans l'essai A?
- II 4 Calculer le nombre de moles d'atomes d'azote dans le tube étalon.
- II 5 Calculer le nombre de moles d'atomes d'azote total par kilogramme d'engrais. Ce résultat est-il compatible avec celui obtenu par la méthode de Kjeldahl? (tolérance sur les résultats: 3 %)
- II-6 En déduire le nombre de moles d'urée par kilogramme d'engrais.

Donnée:  $NH_4$  Cl = 53,45 g.mol<sup>-1</sup>

### III - Dosage des phosphates par la méthode de Briggs

- III 1 Donner le principe de cette méthode colorimétrique
- III 2 Gamme d'étalonnage
  - III 2.1 On désire préparer 250 cm³ de solution étalon A à 400 mg de phosphore par dm³. Comment opérer à partir d'une pesée de dihydrogénophosphate de potassium pur et anhydre?

Données:  $P = 31g.mol^{-1}$   $KH_2PO_4 = 136,1 g.mol^{-1}$ 

III - 2.2 Avec une solution B préparée à partir de la solution A, on réalise une gamme de quatre tubes selon le tableau suivant:

n° de tube	0	1	2	3	4
μg P par tube	0	10	20	40	60
solution B (cm³)	0				
réactifs (cm³)	3				·
eau distillée (cm³)	7				

- III 2.2.1 Calculer, en mg de phosphore par dm³, une concentration de la solution B permettant de réaliser la gamme.
- III 2.2.2 Comment préparer 200 cm³ de cette solution B? Préciser les volumes et le matériel utilisé.
- III 2.3 Reproduire sur la copie le tableau de colorimétrie. Le compléter.
- III 3 On prépare une solution d'engrais par dissolution de 0,1153 g dans 1 dm<sup>3</sup> d'eau.

Le tube essai est réalisé avec 5 cm³ de cette solution, additionnés des réactifs de coloration et complétés à 10 cm³.

Le passage au colorimètre des différents tubes donne les absorbances suivantes:

Tube	0	1	2	3	4	Essai
Absorbance (A)	0	0,080	0,165	0,320	0,490	0,306

- III 3.1 Tracer la courbe d'étalonnage de l'appareil.
- III 3.2 Calculer la teneur en phosphore de l'engrais, exprimée en g de P<sub>2</sub>0<sub>5</sub> pour 100 g d'engrais.

**Donnée**:  $P_2O_5 = 142 \text{ g.mol}^{-1}$ 

## B3 MICROBIOLOGIE ET TECHNIQUES DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

### I - RECHERCHE DES SALMONELLA DANS UN ALIMENT

Le document 1 est un extrait du texte « Recherche des Salmonella » paru au Journal Officiel du 19 janvier 1980, relatif aux méthodes générales d'analyse bactériologique.

#### Document 1

#### Recherche des Salmonella

En cas d'expertise se conformer aux indications de la norme Afnor V 08-013.

Dans les autres cas, utiliser la technique suivante:

Préenrichissement: s'effectue en eau peptonée tamponnée (voir annexe 2,2.1), pendant quatre heures à 37°C (± 1°C) pour les ovoproduits et ceux dont la teneur microbienne initiale est présumée importante, et pendant seize à vingt heures à 37°C (± 1°C) dans les autres cas.

Le rapport entre la prise d'essai et le volume du milieu doit être 1/10.

Enrichissement: à partir du milieu de préentichissement, porter 2 ml:

- Dans deux tubes de bouillon Muller Kauffmann au têtrathionate et vert brillant (20 ml par tube).
- Dans deux tubes de bouillon au sélénite (20 ml par tube).

Faire incuber à 37°C ( $\pm$  1°C): un tube de bouillon au tétrathionate et tube de bouillon au sélénite.

Faire incuber à  $43^{\circ}$ C ( $\pm$   $1^{\circ}$ C): un tube de bouillon au tétrathionate et un tube de bouillon au sélénite.

#### Isolement:

Après vingt-quatre heures et éventuellement quarante-huit heures d'incubation, effectuer, à partir des milieux d'enrichissement, des isolements à la surface de géloses au vert brillant et au rouge de phénol et, si possible, à la surface d'un deuxième milieu sélectif.

Faire incuber les boîtes à 37°C (± 1°C) pendant vingt heures (± deux heures). Si le développement est insuffisant, poursuivre l'incubation.

S'il y a présence de colonies caractéristiques ou douteuses, en repiquer un nombre suffisant et les soumettre aux essais biochimiques classiques.

Adresser les souches repiquées sur gélose nutritive au service des entérobactéries du laboratoire central d'hygiène alimentaire, 43, rue de Dantzig 75015 Paris.

(extrait du Journal Officiel du 19 janvier 1980)

- 1 Expliquer l'importance de la recherche des Salmonella en bactériologie alimentaire en précisant :
  - l'origine de la contamination de l'aliment par ces germes.
  - le mécanisme de leur pouvoir pathogène. (étude succinte).
  - la norme en vigueur concernant la présence de Salmonella dans un aliment.
- 2 Quel est l'intérêt des deux étapes décrites dans le texte: préenrichissement, enrichissement?
- 3 D'après le texte, l'isolement doit être fait sur deux milieux:
  - gélose au vert brillant et au rouge de phénol (VB RP).
  - un autre milieu sélectif.
  - I 3.1 La composition de la gélose au rouge de phénol et vert brillant est la suivante:

	en	g.l <sup>1</sup>
_	extrait de viande en poudre	5,0
-	peptone pour bactériologie	10,0
_	extrait de levure en poudre	3,0
-	phosphate disodique	1,0
~	phosphate monosodique	0,6
_	lactose	10,0
_	saccharose	10,0
-	rouge de phénol	0,09
-	vert brillant	0,0047
-	agar	12,0

pH 6,9 (environ)

Donner le rôle de chaque constituant.

- I 3.2 Donner le nom et les principaux constituants d'un autre milieu sélectif d'isolement pour Salmonella.
- I 3.3 Quel sera l'aspect des « colonies caractéristiques ou douteuses » sur:
  - gélose VB RP.
  - sur l'autre milieu sélectif?

(Justifier en tenant compte de la composition des milieux).

 4 « Les essais biochimiques classiques » non détaillés dans le document n° 1 ont pour but d'identifier le genre des bactéries suspectes.
 Une première orientation est possible grâce au test de l'uréase.

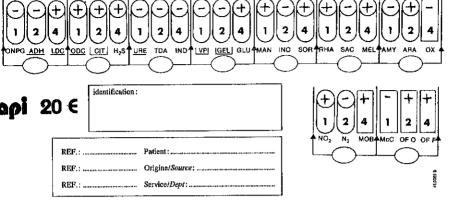
- I 4.1 Donner la composition qualificative du milieu utilisé. Quelle est la particularité de ce milieu ? Conséquence ?
- I 4.2 Donner le principe de cette recherche et la lecture du test. En conclusion, quel est l'intérêt de ce test?
- I 5 L'identification d'une colonie suspecte est effectuée sur galerie API 20 E.
  - I 5.1 Compléter le document n°2.

### Document nº 2

Caractères	Substrat	Enzyme	Produit(s) formé(s)	Réactifs ajoutés	Lec +	tures
ONPG						
LDC						
CIT						
URE						
TDA						
IND						
VP		/.				
NO <sub>2</sub>						

 I - 5.2 On obtient les résultats présentés dans le document 3. Conclure en justifiant.

### Document n°3



- 6 L'identification de l'espèce nécessite un sérotypage.
  - I 6.1 Citer les antigènes recherchés. Préciser leur localisation cellulaire, et donner succinctement leur nature chimique.
  - I 6.2 On utilise un tableau de classification de Kauffmann et White.

### Extrait du tableau de Kauffmann-White

	0	Н		
TYPE	0	Phase 1	Phase 2	
	GROUPE A			
S. paratyphi A	1, 2, 12	a		
S. typhimurium S. saint paul S. heidelberg S. paratyphi B S. stanley	GROUPE B  1, 4, 5, 12 1, 4, 12, 27 1, 4, 5, 12 1, 4, 5, 12 1, 4, 5, 12 1, 4, 5, 12, 27	i e, h r b d	1,2 1,2 1,2 1,2 1,2 1,2	
·	GROUPE C			

Préciser dans ce tableau la signification des chiffres et des lettres, la notion de groupe et de phase.

On détermine le taux de croissance en phase exponentielle d'une souche de Salmonella typhimurium dans un milieu minimum de culture additionné de solutions de tryptophane de concentrations croissantes.

Les résultats expérimentaux après 18 heures d'incubation à 37°C sont présentés dans

le tableau suivant:

Tubes de culture	Tryptophane en mg par litre	μ max en div/h		
1	0	0		
2	6	0,01		
3	9	0,22		
4	12	0,70		
5	15	1,20		
6	18	1,60		
7	21	2,05		
8	24	2,50		
9	27	2,80		
10	30	2,80		

2.1 Tracer la courbe de taux de croissance maximum en fonction de la concentration en tryptophane du milieu. (Echelle: 1 cm pour 2 mg de tryptophane par litre, 1 cm pour 0,20 div/h)

2.2 Commenter et interpréter cette courbe.

Que représente le tryptophane pour Salmonella typhimurium? Citer deux substances appartenant à des groupes biochimiques différents et jouant un rôle analogue à celui du tryptophane vis à vis d'autres bactéries.

- En déduire le type trophique de Salmonella typhimurium. 2.4
- On reproduit l'expérience dans les mêmes conditions en remplaçant la solution de tryptophane (1 cm<sup>3</sup> par tube) par 1 cm<sup>3</sup> d'un hydrolysat protéique, En phase exponentielle de croissance on dénombre:
  - au temps 6 h: 6,31,106 bactéries par cm<sup>3</sup>
  - au temps 8 h: 8,47.10<sup>7</sup> bactéries par cm<sup>3</sup>

Calculer le taux de croissance et le temps de génération de la souche après avoir défini ces paramètres.

On prendra logarithme décimal de 2 = 0.3.

## A6 MATHEMATIQUES ET PHYSIQUE

## **MATHEMATIOUES**

n a étudié l'hydrolyse enzymatique de saccharose.

invertase catalyse l'hydrolyse du saccharose suivant la réaction:

saccharose + eau ≥ glucose + fructose.

n théorie, la vitesse initiale Vi de la réaction pour une concentration initiale Si en ccharose vérifie:

 $\frac{1}{V_i} = \frac{K_M}{V_{max}} \times \frac{1}{Si} + \frac{1}{V_{max}}$ 

e but de l'exercice est de déterminer les paramètres cinétiques  $V_{max}$  et  $K_M$  à partir de sultats expérimentaux.

ne série de cinétiques enzymatiques a été réalisée avec des conditions physico-chimiques lentiques (pH, température, ...) mais des concentrations initiales en saccharose différentes. n a obtenu les résultats suivants:

Si (mmol·dm <sup>-3</sup> )	2 .	4	5	8	10
Vi (UI-dm <sup>-3</sup> )	50	89	114	155	200

On pose 
$$X_i = \frac{1}{Si}$$
 et  $Y_i = \frac{1}{Vi}$ 

- 1. a) Calculer à 10-4 près les valeurs de X et de Y pour les valeurs de Si et Vi données.
  - b) Représenter le nuage de points de la série statistique (X, Y) obtenue dans un repère orthogonal dont on choisira les unités avec soin.
  - c) Déterminer par ses coordonnées le point moyen G du nuage. Placer G dans le repère précédent.
- 2. a) Déterminer par la méthode des moindres carrés une équation de la droite d'ajustement de Y par rapport à X. (On explicitera les formules permettant d'obtenir le résultat demandé).
  - b) Tracer cette droite dans le repère précédent.
- 3. a) Estimer la vitesse initiale de la réaction pour une concentration initiale en saccharose de 16 mmol·dm<sup>-3</sup>
  - b) Déterminer les valeurs des paramètres  $V_{\max}$  et  $K_M$

Soit f la fonction numérique de la variable réelle x définie par:

$$\begin{cases} x \in [0; 10] \\ f(x) = -\frac{1}{2} x + 1 + \ln(2x) \end{cases}$$

(In désigne la fonction logarithme népérien).

Soit  $(C_f)$  la courbe représentative de f dans un repère orthogonal  $(O, \overline{i}, \overline{j})$  (unités: 1 cm sur l'axe  $(O, \overline{i})$  et 2 cm sur l'axe  $(O, \overline{j})$ .

- 1. Etude de  $f(x \in [0; 10])$
- a) Déterminer la limite de f(x) quand x tend vers 0 (x > 0).
- b) Calculer la fonction dérivée de f.
- c) Établir le tableau de variation de f.

2. Recherche de tangentes à  $(C_f)$ 

- a) En quel point, la courbe  $(C_f)$  a-t-elle une tangente  $(T_1)$  parallèle à l'axe  $(O, \overline{i})$
- b) Déterminer une équation de la tangente  $(T_2)$  à  $(C_f)$  au point P d'abscisse 8.

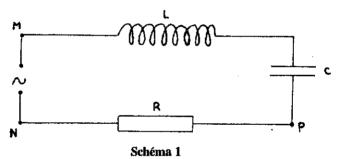
c) Déterminer l'intersection de  $(T_2)$  avec l'axe  $(0, \overline{i})$ .

- 3. Représentation graphique Tracer les droites  $(T_1)$ ,  $(T_2)$  et la courbe  $(C_t)$  dans le repère  $(O, \overline{I_0})$ .
- 4. Résolution graphique de l'équation f(x) = 0
- a) Déterminer graphiquement des valeurs approchées des solutions de l'équation f(x) = 0.
- b) Donner pour chaque solution un encadrement d'amplitude 0,5.

### **PHYSIQUE**

### I Oscillographe cathodique

On monte en série dans un circuit un conducteur ohmique de résistance  $R=10~\Omega$  un condensateur C, une bobine L. (schéma 1)



On maintient entre M et N une tension alternative sinusoïdale de la forme.

$$\mathbf{u}(\mathbf{t}) = \mathbf{U} \sqrt{2} \sin \omega \mathbf{t}$$
.

On visualise sur un oscillographe bicourbe les tensions u  $_{\rm MN}$  (entrée A) et u  $_{\rm PN}$  (entrée B).

On rappelle que  $u_{MN} = V_M - V_N$ 

On obtient les courbes ci-dessous, schéma 2, sur l'écran de l'oscillographe réglé de la façon suivante:

Sensibilité du balayage: 0,5 ms par cm.

gain de l'entrée A:2 V par cm. gain de l'entrée B:1 V par cm.

- I a Reproduisez le schéma 1 et indiquez clairement les branchements à effectuer pour visualiser  $u_{MN}$  et  $u_{PN}$
- I b Calculez la période et la fréquence du courant.
   Calculez la tension maximale u MN max. et la tension efficace u MN .
   Donnez l'expression numérique de u (t).

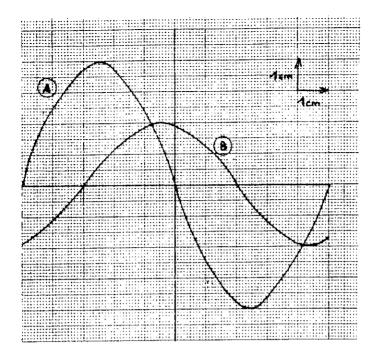


Schéma 2

c Calculer la tension maximale U<sub>PN</sub> max. En déduire l'intensité maximale et l'intensité efficace qui traversent le circuit.
 Calculez l'impédance Z du circuit.

(On rappelle que l'impédance Z d'une portion de circuit est égale au quotient de la tension efficace à ses bornes par l'intensité efficace du courant sinusoïdal la traversant, et que dans le cas d'un conducteur ohmique l'impédance s'identifie à la résistance)

d L'intensité instantanée i(t) est-elle en avance ou en retard sur la tension u (t)?
 Calculez son déphasage et donnez i (t).

### La cellule photo-électrique

Une cellule photo-électrique est caractérisée par un travail d'extraction de 2,4 e V.

La cellule est éclairée par un faisceau polychromatique composé de deux radiations de longeurs d'onde:

$$\lambda_1 = 430 \text{ nm}$$

$$\lambda_2 = 580 \text{ nm}$$

Il est possible d'éclairer la cellule avec chaque radiation séparée.

- II 1 a) Définissez l'effet photo-électrique.
  - b) Représentez la variation de l'intensité traversant la cellule en fonction de la différence de potentiel qui existe entre ses bornes.
     Faites un schéma électrique qui permet d'effectuer ces mesures.
- II 2 Dans la suite du problème, la cellule est d'abord éclairée par le faisceau total, pui par chaque radiation isolée. A chaque question, il y aura donc trois réponses.
  - a) Y a-t-il effet photo-électrique? Justifiez.
  - b) Quelle est la vitesse maximale de sortie des électrons de la photo cathode?
  - c) Quel est le potentiel d'arrêt? Définissez-le.

### Données numériques:

- $-e = 1.6 \cdot 10^{-19} \text{ C}.$
- $-h = 6.62 \cdot 10^{-34} \text{ J. s.}$
- $-c = 3.108 \text{m.s}^{-1}$ .
- masse de l'électron: 0,91.10-30 kg.

## **B4 BIOCHIMIE**

### REMIER SUJET

### DOSAGE DE L'ETHANOL D'UN VIN PAR OXYDATION SULFO-CHROMIQUE

### I - 1 Distillation (2 essais)

L'appareil à distiller comprend un ballon de 250 cm³, une colonne à distiller, un réfrigérant et une allonge droite. L'allonge trempe dans une fiole jaugée de 100 cm³ placée dans un bécher rempli d'eau froide.

Introduire dans le ballon:

10 cm<sup>3</sup> de vin 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée quelques grains de pierre ponce.

Brancher le réfrigérant et distiller environ 50 cm³ de solution (la fiole jaugée étant au préalable remplie d'environ 30 cm³ d'eau distillée). Rincer ensuite l'allonge et ajuster à 100 cm³ avec de l'eau distillée.

### I - 2 Préparation de la solution de dichromate de potassium.

Peser exactement une masse m = 3,3790 g de dichromate de potassium pur et anhydre.

Transvaser et dissoudre dans une fiole jaugée à 100 ml. Ajuster.

### I - 3 Oxydation chromique (2 essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri de 500 cm<sup>3</sup>, introduire

- 20 cm³ de la solution de dichromate de potassium
- 10 cm³ d'acide sulfurique concentré (ATTENTION DANGEREUX: utiliser des lunettes de sécurité).

Verser l'acide sulfurique à l'aide d'une éprouvette lentement en agitant et en évitant les projections. Refroidir au fur et à mesure. Lorsque le mélange est suffisamment froid (température de la salle), ajouter: 10 cm³ de distillat alcoolique.

Boucher, agiter doucement. Attendre 15 à 20 minutes que l'oxydation soit totale.

### I - 4 Dosage de l'excès de solution chromique

- Ajouter ensuite:
  - 300 cm³ environ d'eau distillée
  - 30 cm3 d'acide phosphorique pur
  - 20 gouttes d'indicateur (diphénylaminosulfonate de baryum: indicateur redox).

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à la coloration vert franc.
 Soit V<sub>1</sub> cm<sup>3</sup> versés.

### I - 5 Dosage de la solution de sel de Mohr (2 essais)

- Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri, introduire:
  - 10 cm3 de la solution de dichromate de potassium
  - 5 cm³ d'acide sulfurique concentré (même précautions que précédemment)
  - 150 cm3 d'eau distillée
  - 15 cm<sup>3</sup> d'acide phosphorique pur
  - 20 gouttes d'indicateur redox
- Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à la coloration vert franc.
   Soit V<sub>2</sub> cm<sup>3</sup> versés.

### I - 6 Résultats

Calculer la concentration massique en éthanol du vin en g.dm<sup>-3</sup>. Calculer le titre volumique de l'éthanol du vin en %.

Données: La solution de dichromate de potassium est préparée de telle sorte que 1 cm³ de cette solution oxyde 0,01 cm³ d'éthanol pur.

Masse volumique de l'éthanol  $\mu = 0,7936 \text{ g.cm}^{-3}$ . K: 39,1 g.mol<sup>-1</sup> Cr: 52 g.mol<sup>-1</sup> 0: 16 g.mol<sup>-1</sup> C = 12 g.mol<sup>-1</sup> H = 1 g.mol<sup>-1</sup>

### II - DOSAGE DE LA PHOSPHATASE ALCALINE SERIQUE

### II - 1 Préparation de la gamme étalon

- On dispose d'une solution mère de paranitrophénol (P. N. P.) de concentration molaire égale à 5.10<sup>-3</sup> mol.dm<sup>-3</sup>.
- La diluer pour obtenir une solution étalon de concentration molaire égale à 5.10<sup>-2</sup> micromoles de P.N.P. cm<sup>-3</sup>.
- Dans les tubes propres et secs, réaliser la gamme suivante :

Tubes N°	0 (Blanc)	1	2	3	4	5	6
Solution de P.N.P. à 5.10 <sup>-2</sup> μ mol.cm <sup>-3</sup> (cm <sup>3</sup> )	0	1	2	4	6	8	10
Eau distillée (cm³)	10						
Solution d'hydroxyde de sodium à 0,2 mol.dm <sup>-3</sup> (cm <sup>3</sup> )	1,1						
Quantité de P. N. P. par tube (μ mol)	0						

- Lire les tubes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 contre le blanc à 415 nm.

### 2 Dosage de la phosphatase alcaline

Dans trois tubes propres et secs (1 témoin et 2 essais), introduire:

- 1 cm³ de solution de substrat tamponné (pH = 10,5): le tampon contient les ions Mg²+ qui sont activateurs et le substrat qui est le P. N. P. P. (paranitrophénylphosphate disodique)
- Préchauffer ces tubes dans un bain thermostaté à 37°C environ 5 minutes.
- Introduire dans les tubes à essai 0,1 cm³ de sérum frais à la micropipette et mélanger en évitant de faire mousser la solution.
- Incuber 30 minutes exactement à 37°C.
- Retirer ensuite ces tubes et ajouter immédiatement et dans l'ordre, en commencant par les tubes essais: 10 cm³ de solution hydroxyde de sodium à 0,02 mol.dm⁻³ obtenue par dilution de la solution à 0,2 mol.dm⁻³.
   Ce produit arrête la réaction enzymatique dans tous les tubes.

Les tubes essais contiennent un volume de 11,1 cm³ et le tube témoin contient un volume de 11 cm³. On complète le tube témoin à 11,1 cm³ par addition de 0.1 cm³ de sérum.

- Mélanger soigneusement les tubes et lire l'absorbance des tubes essais contre le tube témoin à 415 nm.

#### Y - 3 Résultats

- Tracer la courbe  $A = f(P. N. P. en \mu mol par tube)$
- Calculer l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline sérique en unités internationales par litre et en microkatal par litre.
  - 1 U.I. est la quantité d'enzyme qui, à 25°C, transforme 1 micromole de substrat par minute dans les conditions optimales de pH, force ionique etc...
  - 1 katal est la quantité d'enzyme qui transforme 1 mole de substrat par seconde.

### FEUILLE DE RESULTATS

### - DOSAGE DE L'ETHANOL DU VIN PAR OXYDATION SULFO-CHROMIQUE:

V <sub>1</sub> cm <sup>3</sup>	V <sub>2</sub> cm <sup>3</sup>
1	· -

Calcul:							
Résultat	t:	g.dm-	3				
Titre volumique de l'é	thanol du vin	:					
Calcul:							
Résultat		%					•
II - DOSAGE DE LA Préparation de la			CALINE	SERIQU	JE		÷
Gamme colorimét	rique	٠					
Tubes Nº	0	1	2	3	4	5	6
Solution étalon de P.N.P.							
Eau distillée (cm ³)							
Solution d'hydroxyd de sodium à 0,2 mol.dm <sup>-3</sup> (cm <sup>3</sup>							
Quantité de P.N.P. par tube (μ mol)	-						
A à 415 nm							
Réaction enzymatio	Inc						
Tubes N°	T		E <sub>1</sub>		E <sub>2</sub>		
A (415 nm)		1			······································		

Résultats

- Joindre la courbe d'étalonnage du colorimètre à cette feuille
- Activité enzymatique:

Concentration massique en éthanol du vin:

#### EUXIEME SUJET

## - DOSAGE DU FER DANS UN VIN BLANC PAR COLORIMETRIE; METHODE A L'ORTHOPHENANTHROLINE

### I - 1 Etalonnage du photomètre

a) A partir d'une solution étalon à 0,1 g de fer par dm³ préparer 100 cm³ de solution contenant 10 µg de fer par cm³. A l'aide de cette solution faire une gamme de 6 tubes correspondant à 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg de fer par tube.

Ajouter dans chaque tube:

- le volume nécessaire de solution étalon diluée,
- 3 cm³ de tampon acétate,
- 1 cm<sup>3</sup> de solution d'hydroquinone,
- 0,5 cm<sup>3</sup> de solution de chlorhydrate d'o-phénanthroline.

Compléter chaque tube à 10 cm³ avec de l'eau distillée. Agiter. Laisser réagir 15 minutes.

b) Mesurer l'absorbance pour chaque tube à 510 nm.

### I - 2 Dosage

- Préparer, de manière analogue à celle de la gamme d'étalonnage, deux tubes (E<sub>1</sub> et E<sub>2</sub>) contenant respectivement 2 cm<sup>3</sup> et 5 cm<sup>3</sup> de vin blanc.
- Mesurer l'absorbance.

#### I - 3 Résultats

- a) Remplir un tableau récapitulatif des volumes de solution introduits dans chaque tube et leur absorbance à 510 nm.
- b) Donner la courbe représentative de la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de fer exprimée en  $\mu g$  / tube.
- c) En déduire la concentration massique du fer en g.dm<sup>-3</sup> dans le vin blanc.
- d) Calculer la concentration molaire correspondante en mol.dm<sup>-3</sup>.

**Donnée:** Fe =  $56 \text{ g. mol}^{-1}$ 

### I - DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL D'UNE SUBSTANCE PROTEIQUE PAR LA METHODE DE KJELDHAL

#### II - 1 Minéralisation

Dans un matras sec de 30 cm<sup>3</sup> introduire:

- mg de substance protéique (pesée exacte voisine de 100 mg),
- environ 0.5 g de sulfate de potassium,
- 1 pointe de spatule de mélange catalyseur,
- 2 cm³ d'acide sulfurique concentré.

Ajouter 2-3 petites billes de verre et minéraliser

### II - 2 Distillation et dosage de l'ammoniac

Laisser refroidir puis reprendre par de l'eau distillée. Placer le minéralisat et les eaux de lavage dans le ballon à distiller.

Ajouter des billes de verre, compléter jusqu'à un volume d'environ 150 à 200 cm<sup>3</sup> avec de l'eau. Alcaliniser par 10 cm<sup>3</sup> de solution concentrée d'hydroxyde de sodium (d:1,33) en vérifiant l'alcalinisation.

Distiller dans environ 15 cm³ de solution d'acide borique à 40 g/dm³. Doser par la solution d'acide sulfurique de concentration molaire donnée (de l'ordre de 0,05 mol.dm⁻³), en présence de rouge de méthyle ou d'indicateur R-B.

#### II - 3 Résultats

Calculer le titre massique en azote total de la substance protéique. Sachant que 1 g de protéine pure contient 0,16 g d'azote, calculer la pureté de la substance protéique.

N.B.: On supposera que la totalité de l'azote dosé est protéique.

### FEUILLE DE RESULTATS

### I - DOSAGE DU FER PAR COLORIMETRIE

Masse de sel de Mohr pesée pour préparer la solution C:

Compléter le tableau suivant:

Nº tube	0	· 1	2	3	4	5	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>
masse de fer dans le tube (μ g)	0	10	20	30	40	50		
volume de solution étalon diluée (cm³)				-				
vin blanc (cm³)								
solution de contrôle C (cm³)								
réactifs (cm³)	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5		
eau distillée (cm³)								
absorbance (A)						, .		

Joindre la courbe d'étalonnage du colorimètre à cette feuille Concentration massique du fer dans le vin blanc:

Calcul:

Concentration molaire; calcul

### I - DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL D'UNE SUBSTANCE PROTEIQUE : KJELDHAL

Masse pesée	m <sub>1</sub> =	g	m <sub>2</sub> =	g
Solution d'acide sulfurique	V <sub>1</sub> =	cm <sup>3</sup>	V <sub>2</sub> =	cm <sup>3</sup>

Titre massique en azote total de la substance protéique.

Calcul:

Pureté

Calcul:

#### TROISIEME SUIET

## DOSAGE DES CHLORURES DANS LA POUDRE DE LAIT: Méthode argentimétrique après minéralisation.

#### I - 1 Pesées:

Faire obligatoirement deux essais.

Peser environ 1 à 1,5 g de poudre de lait avec précision.

Soient m<sub>1</sub> et m<sub>2</sub> grammes les masses de poudre de lait pesées.

### I - 2 Minéralisation:

Verser la poudre de lait dans 20 ml d'eau tiède, contenue dans une fiole d'Erlenmeyer de 150 ml. Laisser en contact 5 minutes en agitant.

Ajouter: - 20 ml de solution de nitrate d'argent à environ 0,05 mol.1-1,

- 5 ml de solution saturée de permanganate de potassium,
- 10 ml d'acide nitrique concentré (avec précaution),
- 2 billes de verre.

Minéraliser à douce ébullition jusqu'à obtenir un surnageant limpide et un précipité blanc.

Éliminer l'excès éventuel de permanganate en ajoutant un peu de glucose. Chauffer quelques instants, refroidir, diluer avec de l'eau distillée.

### I - 3 Dosage des chlorures du lait:

Ajouter 1 ml de solution saturée de sulfate de fer (III) et d'ammonium (souvent appelé alun).

Doser par solution de thiocyanate d'ammonium jusqu'au virage au rose saumon.

Soient V<sub>1</sub> ml pour m<sub>1</sub> g de poudre de lait. V<sub>2</sub> ml pour m<sub>2</sub> g de poudre de lait.

### I - 4 Dosage témoin de la solution de thiocyanate d'ammonium:

Verser dans une fiole d'Erlenmeyer:

- 10 ml de solution de nitrate d'argent,
- 20 ml d'eau distillée,
- 10 ml d'acide nitrique concentré,
- 1 ml d'alun.

Doser par la solution de thiocyanate d'ammonium.

Soient V'1 et V'2 ml les volumes versés.

### I - 5 Dosage de la solution de nitrate d'argent :

Verser dans une fiole d'Erlenmeyer:

- 20 ml d'eau distillée,
- 10 ml d'une solution étalon de chlorure de potassium de concentration molaire connue voisine de 0, 05 mol. 1<sup>-1</sup>,
- quelques gouttes de solution de chromate de potassium saturée.

Verser la solution de nitrate d'argent à la burette jusqu'au virage à l'orangé. Soient  $V''_1$  et  $V''_2$  les volumes versés.

## II - DOSAGE D'UNE SOLUTION DE CASEINE DU LAIT: METHODE DU BIURET

### II - 1 Préparation d'une gamme étalon :

A l'aide d'une solution étalon de caséine à 9 g.  $1^{-1}$ , réaliser une gamme de dilutions de façon à obtenir des prises d'essai de 1 ml contenant respectivement:

1-3-6-9 mg de caséine.

### II - 2 Préparation de la gamme colorée :

Introduire dans les tubes à essais:

- 1 ml de chaque dilution,
- 5 ml de réactif de Gornall.

#### II - 3 Lectures:

Attendre 30 minutes à l'obscurité et lire les absorbances à 540 nm.

### II - 4 Dosage colorimétrique:

Réaliser dans les mêmes conditions 2 essais avec 1 ml de la solution de caséine à doser.

#### III - EXPRESSION DES RESULTATS:

- III 1 Calculer le taux de chlorures dans la poudre de lait en g de chlorures pour 100 g de poudre de lait.
   Donnée: Cl = 35,5 g. mol<sup>-1</sup>.
- III 2 Faire un tableau précisant la composition des tubes de la gamme des dilutions et les mesures obtenues.

Construire la courbe d'étalonnage sur papier millimétré.

Calculer la concentration massique en caséine de la solution analysée.

### FEUILLE DE RESULTATS

### I - Dosage des chlorures dans la poudre de lait

!	V ml	V' ml	V" ml
1er essai	$V_1 =$	V'1	V"1=
2° essai	V <sub>2</sub> =	V'2=	V"2=

Taux de chlorures dans la poudre de lait

Calcul:

### II - Dosage d'une solution de caséine du lait

#### Gamme dilution:

Dilutions	1	2	3	4
Solution étalon de caséine à 9 g.1 <sup>-1</sup>				
Eau distillée				
Masse de caséine dans 1 ml (en mg)	1	3	6	9

### Gamme colorimétrique:

- · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·						<del></del>
Tubes	1	2	3	4	Essaie 1	Essai 2
A 540 nm		-				

Joindre la courbe d'étalonnage du spectrophomètre à cette feuille. Calcul de la concentration massique en caséine de la solution analysée:

### QUATRIEME SUJET

### ANALYSE D'UN VIN BLANC

### I - Dosage de l'éthanol du vin par oxydation sulfochromique

#### I-1 Distillation:

Le montage de distillation comprend un ballon, une colonne à distiller, un réfrigérant, une allonge droite.

L'allonge trempe dans une fiole jaugée de 100 ml placée dans un bécher rempli

d'eau froide.

Introduire dans le ballon 10 ml de vin, 50 ml d'eau distillée et quelques grains de pierre ponce.

Brancher le réfrigérant et distiller environ 50 ml de solution, la fiole jaugée étant au préalable remplie d'environ 30 ml d'eau distillée.

Rincer l'allonge et ajuster.

### I - 2 Oxydation par le mélange sulfochromique: (2 essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri de 500 ml, introduire:

- 20 ml de solution de dichromate de potassium
- 10 ml d'acide sulfurique concentré, lentement à l'aide de l'éprouvette graduée (DANGEREUX: mettre des lunettes de sécurité).

### Refroidir puis ajouter:

- 10 ml de distillat alcoolique

Boucher, agiter doucement.

Attendre 20 minutes afin que l'oxydation soit totale.

### I - 3 Dosage de l'excès de dichromate de potassium :

### Ajouter:

- 300 ml d'eau distillée,
- 30 ml d'acide orthophosphorique pur,
- 20 gouttes d'indicateur rédox (diphénylamine sulfonate de baryum).

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'à coloration vert franc. (Ve ml).

### I - 4 Etalonnage du sel de Mohr: (2 essais)

### Opérer sur:

- 10 ml de solution de dichromate de potassium,
- 5 ml d'acide sulfurique concentré (mêmes précautions que précédement),
- 150 ml d'eau distillée,
- 15 ml d'acide orthophosphorique pur,
- 20 gouttes d'indicateur rédox.

Doser par la solution de sel de Mohr jusqu'au virage. (Vt ml).

Données: 1 litre de la solution de dichromate utilisée oxyde

10 g d'éthanol pur.

(Elle a été préparée en dissolvant 42,572 g de K<sub>2</sub> Cr<sub>2</sub> O<sub>7</sub> dans un litre d'eau distillée).

Dichromate de potassium: 294,2 g.mol<sup>-1</sup>.

### - DOSAGE DU FER DU VIN PAR COLORIMETRIE. METHODE A L'ORTHOPHENANTROLINE

### II - 1 Préparation de 100 ml de solution étalon de Fer II de concentration 10 mmol. l<sup>-1</sup>.

Peser m grammes de sel de Mohr.

Dissoudre dans 20 ml d'eau distillée bouillie refroidie.

Ajouter 5 ml de solution d'acide sulfurique de concentration environ 0,05 mol. l<sup>-1</sup> et compléter le volume à 100 ml avec de l'eau distillée bouillie et refroidie.

### II - 2 Préparation de 50 ml de solution fille contenant 0,2 mmol de Fer II par litre à partir de la solution étalon.

(Utiliser de l'eau distillée bouillie et refroidie).

### II - 3 Préparation de la gamme colorée:

A l'aide de cette solution fille une gamme de 5 tubes contenant respectivement 0; 0,2; 0,4; 0,6 et 0,8 µmol de Fer II.

Ajouter dans chaque tube:

0,3 ml de tampon acétate,

- 1 ml de solution d'hydroquinone,

- 0,5 ml de chlorhydrate d'orthophénantroline.

Compléter chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée.

#### II - 4 Lectures:

Agiter, laisser reposer 20 minutes.

Mesurer les absorbances à 510 nm.

### II - 5 Dosage du Fer dans le vin blanc:

Traiter 5 ml de vin dans les mêmes conditions que les tubes de la gamme. Faire 2 essais  $(E_1 \text{ et } E_2)$ .

Mesurer l'absorbance.

### II - 6 Contrôle du Fer contenu dans la solution de sel de Mohr utilisée pour le dosage de l'éthanol:

Diluer cette solution au 1/1000 avec de l'eau distillée bouille et refroidie (par dilutions successives au 1/10 puis au 1/100). On obtient de la solution S.

Réaliser le dosage colorimétrique sur 1 ml de solution S dans les mêmes conditions que les tubes de la gamme.

Faire 2 essais (S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub>).

Données: Fe = 56 g. mol<sup>-1</sup>, sel de Mohr = sulfate de fer II et d'ammonium, hexahydraté de masse molaire 392 g. mol<sup>-1</sup>.

### III - EXPRESSION DES RESULTATS: Compléter la feuille de résultats.

- III 1 Calculer la concentration massique en éthanol du vin analysé.
- III 2 Calculer la masse de sel de Mohr à peser pour réaliser la solution étalo de fer II.
  - Indiquer le mode de dilution de la solution étalon pour obtenir la solution fille,
  - Compléter la tableau de la feuille de résultats.
  - Tracer la courbe d'étalonnage du spectrophomètre.
  - Déterminer la quantité de fer contenue dans les tubes « essais » E et S.
  - Calculer la concentration molaire du fer du vin en mmol.1-1.
  - Calculer la concentration molaire du fer de la solution S en mmol.1<sup>-1</sup>.
     Comparer ce résultat avec celui que l'on peut déduire du paragraphe I-4. Conclure.

### FEUILLE DE RESULTATS

### I - Dosage de l'éthanol du vin

Ve ml	Vt ml
,	

- Concentration massique en éthanol du vin :

Cal	AUN	

Résultat:		g.l-
-----------	--	------

### II - Dosage du fer par colorimétrie:

- Masse de sel de Mohr pesée:
- Mode de dilution de la solution étalon pour obtenir la solution fille:

### -Tableau:

					r			
0	1	2	3	4	E <sub>i</sub>	E <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>
0	0,2	0,4	0,6	0,8				
				-				
4,5	4,5	4,5	4,5	4,5				
	0	0 0,2	0 0,2 0,4	0 0,2 0,4 0,6	0 0,2 0,4 0,6 0,8	0 0,2 0,4 0,6 0,8	0 0,2 0,4 0,6 0,8	0 0,2 0,4 0,6 0,8

Joindre la courbe d'étalonnage à cette feuille.

- Quantité de fer contenue les tubes « essais »

E

S

- Concentration molaire du fer du vin (en mmol.1<sup>-1</sup>)

  Calcul:
- Concentration molaire du fer de la solution S (en mmol.1-1)
- Comparaison; conclusion.

## **B5 PREPARATION ET MONTAGE**

### **PREPARATION**

### 1er SUJET

### PREPARATION DU IODO-1 NITRO 4 BENZENE

### I-INTERROGATION PRELIMINAIRE (30 minutes, sans documents)

- Le iodo-1 nitro 4 benzène s'obtient par la diazotation de la nitro 4 aniline suivie de l'halogénation par l'iodure de potassium.
- Ecrire les équations des réactions utilisées dans cette préparation?
- Pourquoi doit-on ajouter de l'acide sulfurique concentré et travailler ensuite à basse température ?
- Calculer la masse théorique de produit obtenu.

### DONNEES:

- Quantités utilisées:
  - nitro 4 aniline = 6 g
  - nitrite de sodium = 3 g
  - iodure de potassium = 12,5 g

Masses molaires atomiques en g. mol-1

#### II - 1 Diazotation de la nitro 4 aniline

- Dans un ballon tricol de 500 cm³ équipé d'une agitation mécanique, d'une ampoule de coulée et d'un réfrigérant à reflux, introduire:
  - 6 g de nitro 4 aniline
  - 40 cm3 d'eau
- Ajouter lentement, en agitant, 6 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré jusqu'à obtenir la solution homogène.
- Refroidir jusqu'à 0° C à l'aide d'un mélange eau + glace + un peu de gros sel.
- Préparer une solution de 3 g de nitrite de sodium dans 10 cm³ d'eau en veillant à ce que la température du milieu réactionnel ne dépasse pas 5° C.

 Verser peu à peu, en agitant constamment, à l'aide de l'ampoule de coulée, cette solution refroidie.

### II-2 Halogénation

- Introduire à l'aide de l'ampoule de coulée, dans le tricol une solution refoidie (la température doit être inférieure à 5° C) de 12,5 g de KI dans 40 cm³ d'eau = refroidir pendant cette addition et agiter, en permanence.
- Laisser ensuite remonter la température en continuant l'agitation (réfrigérant à reflux indispensable); chauffer alors légèrement au bain-marie 40° à 50° C) jusqu'à la fin du dégagement gazeux.

#### II - 3 Purification

- Filtrer sur Büchner; laver à l'eau distillée; essorer largement à l'aide de papier filtre.

Filtrer sur Büchner; sécher à l'étuve, peser le produit purifié.

- Prendre son point de fusion au banc de Koffler.

#### III - COMPTE RENDU ET RESULTATS

- III 1 Quelle est la nature du dégagement gazeux ? Expliquer.
- III 2 Décrire le rôle de l'alcool dans la purification du produit préparé.

### III-3 Indiquer:

- le volume d'alcool utilisé dans la recristallisation et le montage réalisé à cet effet
- la masse de produit pur et le rendement de la préparation.
- le point de fusion obtenu au banc de Koffler.

### • SUJET

### PREPARATION DE L'ACETATE DE 11 PROPYLE

On prépare l'acétate de n.propyle à partir de l'acide acétique et du propanol-1.

- Ecrire l'équation de la réaction correspondante

I - INTERROGATION PRELIMINAIRE (30 minutes, sans documents)

- Quel est le rôle de l'acide sulfurique?
- Calculer la masse théorique d'ester obtenu.

### Données:

- Quantités utilisées:

acide acétique (ou éthanoïque) pur : volume v = 90 cm<sup>3</sup> (masse volumique  $\varrho = 1.05 \text{ g.cm}^{-3}$ ) propanol - 1: masse m = 24 g

- Masses molaires atomiques en g.mol-1

C = 12; H = 1; O = 16

### II - Préparation de l'acétate de n propyle

### A - Manipulation

1. Préparation du produit brut

Dans un ballon de 250 cm3 introduire 24 g de propanol - 1. 90 cm3 d'acide

acétique pur et 2 cm³ d'acide sulfurique concentré.

Ajouter quelques billes de verre et adapter un réfrigérant à boules à circulation d'eau. Chauffer à reflux à ébullition douce pendant 1 heure, Refroidir.

2. Séparation de l'ester

Verser avec précaution la solution dans un bécher de 600 cm<sup>3</sup> contenant environ 120 cm<sup>3</sup> d'eau, puis saturer le mélange avec du chlorure de sodium solide (solubilité de ce sel dans l'eau à 20 °C: environ 360 g. dm-3).

Lorsque cette opération est terminée, transvaser la solution obtenue dans une ampoule à décanter. Agiter, puis laisser reposer. Séparer la phase aqueuse inférieure. Laver alors l'ester brut avec 25 cm<sup>3</sup> d'une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium à 100 g.dm<sup>-3</sup>: au début, laisser le dioxyde de carbone se dégager, puis boucher l'ampoule, la retourner en maintenant bien le bouchon, l'agiter puis ouvrir le robinet pour laisser s'échapper le gaz.

Recommencer l'opération jusqu'à ce que le dégagement gazeux cesse. Séparer la phase aqueuse inférieure et récupérer l'ester. Le sécher dans un erlen-

meyer de 100 cm<sup>3</sup> par du sulfate de sodium anhydre.

3. Purification

Distiller l'ester obtenu sous la pression atmosphérique et recueillir le produit pur dans un récipient taré.

Noter au cours de la distillation la température d'ébullition de l'ester.

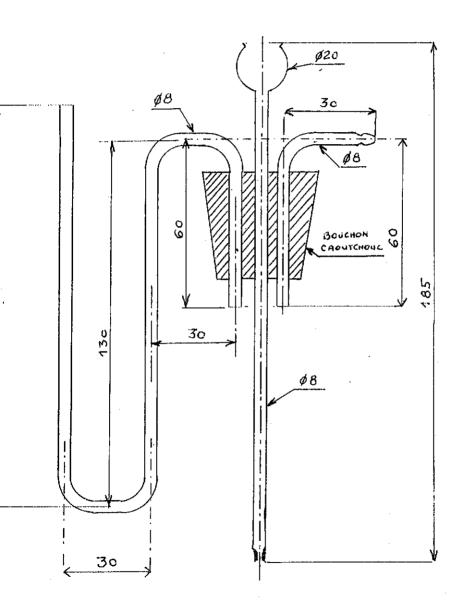
Mesurer son volume et son indice de réfraction.

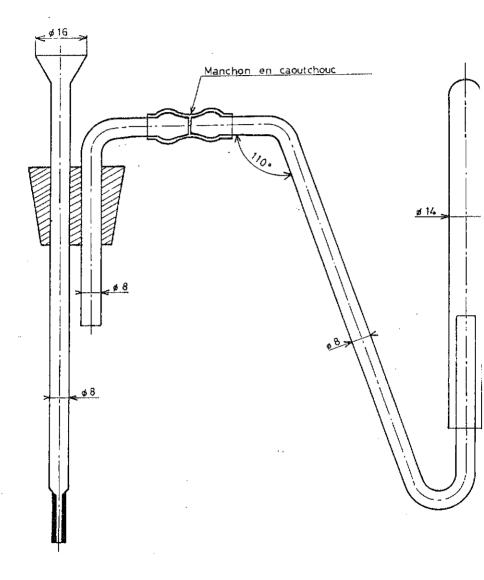
### B - Compte-rendu et résultats

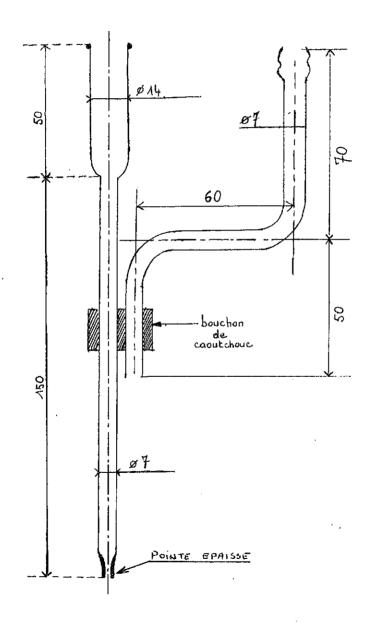
- 1. Pourquoi, dans la seconde partie de la manipulation sature-t-on la phase aqueuse avec du chlorure de sodium?
- 2. Que se produit-il au cours du lavage de l'ester par la solution d'hydrogénocarbonate de sodium?
- 3. Indiquer:
  - la masse de produit obtenu
  - le rendement de la préparation
  - la température d'ébullition de l'ester
  - l'indice de réfraction de l'ester.

## **IONTAGE**

SUJET







## **B6 MICROBIOLOGIE**

1er SUIET

1er JOUR

### PREMIERE EPREUVE:

#### COLIMETRIE

- 1) Dénombrement des coliformes d'un lait cru.
  - a) Réalisez une série de dilutions jusque 10-6.
  - b) Effectuez un dénombrement des coliformes sur milieu solide:
     gélose désoxycholate, en double couche. Utilisez 2 boîtes pour chacune des dilutions suivantes: 10-3, 10-4, 10-5, 10-6.

### 2) Identification des coliformes:

A partir d'un tube positif de bouillon bilié lactosé au vert brillant, réalisez:

- a) une recherche d'Escherichia coli, par le test de Mackensie.
- b) un isolement sur gélose lactosée EMB.

#### **DEUXIEME EPREUVE:**

### ANALYSE BACTERIOLOGIQUE D'UNE SEMI-CONSERVE

Identification d'une souche, isolée d'une semi-conserve altérée. Celle-ci après purification est présentée sur gélose nutritive inclinée.

- 1°) Réalisez les observations et les tests nécessaires à l'orientation de son identification.
- 2°) Procédez à l'identification complète du germe. Vous établirez une demande écrite des milieux nécessaires à la réalisation de cette épreuve avec justification.

### 2e JOUR

### PREMIERE EPREUVE:

#### COLIMETRIE

#### 1) Dénombrement des coliformes

Lecture et interprétation des résultats obtenus sur les milieux solides. Conclusions.

### 2) Identification des coliformes :

- a) Lecture et interprétation des résultats.
- Examen des colonies obtenues sur la gélose E.M.B. Conclusions.

### DEUXIEME EPREUVE

## ANALYSE BACTERIOLOGIQUE D'UNE SEMI-CONSERVE

#### dentification de la sonche

ecture de la galerie d'identification. Conclusion.

### · SUJET

### ler JOUR

### PREMIERE EPREUVE

### Viesure du pouvoir bactéricide du phénol sur une souche bactérienne.

Déterminer la concentration à laquelle le phénol est bactéricide, vis à vis de la souche le Escherichia coli proposée, pour un temps d'action de 6 minutes.

### l'echnique :

Réaliser une série de 6 tubes contenant des concentrations croissantes en phénol. Ajouter dans chaque tube 0,5 cm³ d'inoculum bactérien. Laisser agir le phénol 6 minutes exactement. Au bout de 6 minutes, prélever une œse et l'étaler en stries serrées sur une gélose ordinaire (en boîte de Pétri ou en tube incliné). Mettre à incuber 24 h à 37 °C.

### Remarque :

L'addition de l'inoculum pourra être faite à 1 minute d'intervalle entre chaque tube, ainsi que le prélèvement des bactéries.

Volumes en cm <sup>3</sup> /tubes tubes	0	1	2	3	4	5
Solution de PHENOL à 10 %	0	0	0	0	0,5	1
Solution de PHENOL à 1 %	0	0,5	1	2	0	0
Eau distillée stérile	· 2	1,5	1	0	1,5	1
Inoculum bactérien	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
temps d'addition de l'inoculum	0	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min
temps de prélèvement	6 min	7 min	8 min	9 min	10 min	11 min

#### DEUXIEME EPREUVE

Une souche bactérienne inconnue, isolée d'un produit alimentaire est présentée sur gélose nutritive.

Identifier cette souche par ses caractères morphologiques, culturaux et biochimiques. (Etablir par écrit la liste des milieux nécessaires).

#### 2º JOUR

#### PREMIERE EPREUVE

Calculer les concentrations en phénol dans les différents tubes et déterminer après observation des gélose ensemencées la plus petite concentration en phénol ayant un effet bactéricide sur la souche étudiée.

#### DEUXIEME EPREUVE

Lecture des ensemencements. Réalisation des tests complémentaires. Interprétation des résultats.

#### 3° SUJET

### 1er JOUR

#### PREMIERE EPREUVE

### Contrôle bactériologique d'un lait cru.

Ce contrôle est effectué sur un échantillon de lait cru prélevé à la laiterie avant tout traitement.

- 1°) Epreuve de la réductase microbienne
- 2°) Numération des coliformes en milieu solide (se limiter aux dilutions 10° 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>).
- 3°) Sur un frottis réalisé avec un lait suspect, recherchez la présence de mycobactéries.
- 4°) On a réalisé à partir du culot de centrifugation d'un lait, un enrichissement sur un milieu sélénite de Leifson, en vue d'une recherche de Salmonella.

A partir de cet enrichissement sur le milieu sélénite, effectuez un isolement sur le milieu de votre choix.

#### DEUXIEME EPREUVE

Identification d'une souche bactérienne isolée d'un lait et présentée sur gélose nutritive.

#### 2e JOUR

#### PREMIERE EPREUVE

- Numération des coliformes
- Lecture de l'isolement.
   Poursuite de l'orientation.
   Conclusion.

#### DEUXIEME EPREUVE

- Lecture de la galerie d'identification.
- Conclusion.