

---

---

**ANNALES  
2023**

---

---

**BACCALAURÉAT  
SCIENCES  
ET TECHNOLOGIES  
DE LABORATOIRE**

**SPÉCIALITÉ  
« BIOTECHNOLOGIES »**

---

---

Éditions UPBM-ÉDILION

Les annales du baccalauréat technologique de **Sciences et Technologies de Laboratoire** spécialité **Biotechnologies Session 2023** ont été réalisées par **Catherine Bardiaux**, professeure au lycée H. d'Urfé, Saint Étienne.

Un grand merci à **Pauline Maire**, professeure au lycée Jacques Monod, Saint de Braye, pour sa relecture attentive et pour les compléments de correction.

Un grand merci à **Antoine GAUDIN**, pour la création des couvertures externes et internes des annales, toujours de grande qualité.

Enfin merci à **Celia Lopez Herera**, professeure au lycée de Saint-Paul IV, La Réunion et à **Cécile Saint-Maxent** professeure au lycée La Mennais, Polynésie française, pour leur aide précieuse pour les sujets d'Outre-mer.

La distribution des annales est assurée par **l'équipe pédagogique de Biotechnologies du Lycée Dautry** (Limoges).

Des erreurs se sont, sans aucun doute, glissées dans les textes. Veuillez-nous en excuser et n'hésitez pas à nous les signaler. Des correctifs pourront alors être diffusés sur le site UPBM (<http://www.upbm.org>).

### **Illustrations de couverture et de quatrième de couverture :**

**Photos graphiques** pour jouer avec l'esthétique et les couleurs du matériel de sciences et technologies de laboratoire.

**Couverture** : photo graphique de pipettes à piston pour le pipetage de précision.

**Quatrième de couverture** : photo graphique de film de laboratoire thermoplastique, souple, avec extension bidirectionnelle pour assurer une fermeture étanche de contenants de laboratoire (cuves de spectrophotométrie, tubes à essai, erlenmeyers, etc).

Compositions et photos d'**Antoine Gaudin**

---

**Éditions UPBM – ÉDILION Lycée La Martinière – Duchère**

**Avenue Andreï Sakharov – 69338 LYON Cedex 9**

## TABLE DES MATIÈRES

<b>RÈGLEMENT DU BACCALAURÉAT .....</b>	<b>4</b>
<b>COEFFICIENTS ET DURÉES DES ÉPREUVES .....</b>	<b>4</b>
ÉPREUVES TERMINALES .....	4
CONTRÔLE CONTINU .....	5
RÉPARTITION DES ÉPREUVES ET COEFFICIENTS DU BAC(source UPBM).....	5
CALENDRIER DES ÉPREUVES ET COEFFICIENTS BAC à partir de la session 2024..	6
<b>ARRÊTÉS ET NOTES DE SERVICE .....</b>	<b>6</b>
ÉPREUVES TERMINALES .....	6
CONTRÔLE CONTINU .....	6
ATTESTATION DE LANGUES VIVANTES EN FIN DE CYCLE TERMINAL.....	6
LIVRET SCOLAIRE.....	7
ÉPREUVES DU SECOND GROUPE .....	7
MENTIONS.....	8
ÉPREUVES DE REMPLACEMENT (OU « ÉPREUVES DE SEPTEMBRE ») .....	8
<b>DÉFINITIONS DES ÉPREUVES DE LA SÉRIE STL .....</b>	<b>8</b>
DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Biochimie-Biologie-Biotechnologies .....	8
DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Physique Chimie et Mathématiques.....	11
DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Épreuve orale terminale du « Grand Oral » .....	13
<b>SUJETS DES ÉPREUVES ÉCRITES DE LA SESSION 2023.....</b>	<b>16</b>
PHILOSOPHIE MÉTROPOLE - RÉUNION - MAYOTTE .....	16
PHILOSOPHIE CENTRES ÉTRANGERS GROUPE 1 .....	18
PCM SUJET 1 – Métropole-Antilles-Guyane - MAI 2023.....	20
PCM SUJET 2 – Polynésie FRANÇAISE- MAI 2023 .....	29
PCM SUJET 3 – La Réunion- MAI 2023 .....	41
BIO BIO BIO SUJET 1 - SEPTEMBRE 2022.....	52
BIO BIO BIO SUJET 2 – Nouvelle Calédonie - OCT 2022 .....	65
BIO BIO BIO SUJET 3 – Métropole-Antilles-Guyane - MAI 2023.....	76
BIO BIO BIO SUJET 4 – Polynésie – MAI 2023.....	87
BIO BIO BIO SUJET 5 – La Réunion – MAI 2023.....	100
<b>BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES ECE .....</b>	<b>110</b>
SUJET 1 .....	110
SUJET 2 .....	120
SUJET 3 .....	126
SUJET 4 .....	135
<b>ÉPREUVE ORALE de contrôle du second groupe d'épreuves.....</b>	<b>144</b>
<b>ÉLÉMENTS DE CORRECTION .....</b>	<b>148</b>
SUJET 1 PCM Métropole-Antilles-Guyane - Éléments de correction.....	149
SUJET 2 PCM Polynésie française - Éléments de correction.....	157
BIO BIO BIO SUJET 1 – Sept. 2022 - Éléments de correction .....	165
BIO BIO BIO SUJET 2 – Nouvelle Calédonie 2022 - Éléments de correction .....	172
BIO BIO BIO SUJET 3 – Métro. Antilles Guyane Mai 2023 - Éléments de correction	177
BIO BIO BIO SUJET 4 – Polynésie française Mai 2023 - Éléments de correction....	182
BIO BIO BIO SUJET 5 – La Réunion Mai 2023 - Éléments de correction.....	187
<b>PUBLICATIONS DE L'UPBM .....</b>	<b>193</b>
<b>INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES.....</b>	<b>194</b>

## RÈGLEMENT DU BACCALAURÉAT

La liste des épreuves de la série STL, leur coefficient, nature et durée sont fixés par :

- l'arrêté du 16 juillet 2018 relatif aux épreuves du baccalauréat technologique à compter de la session 2021 ;
- l'arrêté du 22 juillet 2019 relatif à la nature et à la durée des épreuves terminales du baccalauréat général et du baccalauréat technologique à compter de la session 2021.

Les tableaux pour la série STL (sciences et technologies de laboratoire) indiquent pour chaque épreuve à l'examen, son intitulé, sa nature, sa durée et son coefficient. Les chiffres placés à gauche des intitulés correspondent à la numérotation des épreuves pour l'inscription à l'examen.

L'évaluation du baccalauréat général et technologique repose sur des épreuves terminales (60 % de la note finale) et, pour les candidats scolarisés dans des établissements publics ou privés sous contrat, sur la prise en compte des résultats qu'ils ont obtenus dans les enseignements obligatoires ne faisant pas l'objet d'épreuves terminales en classes de première et de terminale (40 % de la note finale). Cette prise en compte du contrôle continu a pour objectif de valoriser le travail régulier des élèves et de limiter le nombre d'épreuves à la fin de l'année de terminale. Les candidats ne suivant aucune scolarité ainsi que ceux inscrits dans un établissement privé hors contrat ou au CNED en scolarité libre passent des évaluations ponctuelles en lieu et place de ce contrôle continu, dans les enseignements correspondants.

## COEFFICIENTS ET DURÉES DES ÉPREUVES

### ÉPREUVES TERMINALES

Intitulé de l'épreuve	Coefficient	Nature de l'épreuve	Durée
<b>Épreuves anticipées</b>			
1. Français	5	écrite	4 h
2. Français	5	orale	20 min
<b>Épreuves finales</b>			
3. Philosophie	4	écrite	4 h
4. Épreuve orale terminale (Grand Oral)	14	orale	20 min
5. Épreuves de spécialité			
Biochimie biologie biotechnologies	16	écrite + pratique	3 h + 3 h
Physique - Chimie et Mathématiques	16	écrite	3 h

## CONTRÔLE CONTINU

Les 40 % de la note du baccalauréat évaluent les **enseignements obligatoires ne faisant pas l'objet d'épreuves terminales**. Ils sont calculés à partir des résultats obtenus en classe (moyenne des moyennes trimestrielles ou semestrielles de l'élève pour la classe de première et/ou de terminale) pendant les deux années du cycle terminal.

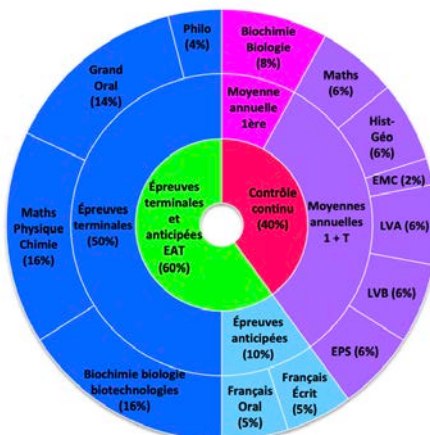
Enseignement	Coef. Première	Coef. Terminale	Coef. bac
Biochimie-Biologie	8	-	8
Mathématiques	3	3	6
Histoire-Géographie	3	3	6
EMC	1	1	2
Langue vivante A (dont ETLV) <sup>1</sup>	3	3	6
Langue vivante B	3	3	6
EPS	CCF <sup>2</sup>		6

<sup>1</sup> Dans la voie technologique, les élèves comptent au titre de leurs enseignements obligatoires un enseignement technologique en langue vivante (ETLV), qu'ils peuvent choisir de faire porter sur leur langue vivante A ou sur leur langue vivante B. La moyenne annuelle de leurs résultats en ETLV est intégrée au calcul de la moyenne annuelle dans la langue vivante concernée. La note attribuée à l'interrogation orale en ETLV est prise en compte sans pondération, dans le calcul de la moyenne de langue vivante concernée, pour la classe de terminale.

<sup>2</sup> moyenne des notes obtenues par l'élève aux évaluations certificatives prévues dans le cadre du contrôle en cours de formation (CCF).

## RÉPARTITION DES ÉPREUVES ET COEFFICIENTS DU BAC (source UPBM)

<https://upbm.org/etablissements-formations/panorama-des-formations/formations-secondaires/bac-stl-biotechnologies>



# CALENDRIER DES ÉPREUVES ET COEFFICIENTS DU BAC à partir de la session 2024

		Périodes d'évaluation								
		Classe de première STL-Biotech			Classe de terminale STL-Biotech					
		1 <sup>er</sup> trimestre	2 <sup>ème</sup> trimestre	3 <sup>ème</sup> trimestre	1 <sup>er</sup> trimestre	2 <sup>ème</sup> trimestre	3 <sup>ème</sup> trimestre			
Épreuves anticipées en 1 <sup>ère</sup> et finales en terminale	60 %	10 %	Français écrit et oral (2 x 5%) (Épreuves anticipées de 1 <sup>ère</sup> )							
		16 %	Physique – Chimie - Mathématiques							
		16 %	Biochimie – Biologie - Biotechnologies							
		4 %	Philosophie							
		14 %	Grand Oral : Épreuve orale terminale de 20 minutes préparée pendant le cycle terminal et portant sur un projet adossé à l'enseignement de spécialité Biochimie Biologie Biotechnologies.							

## ARRÊTÉS ET NOTES DE SERVICE

### ÉPREUVES TERMINALES

#### Français (épreuve écrite et orale)

Note de service du 23-7-2020 (NOR : MENE2019442N), BO spécial n°6 du 31 juillet 2020.

#### Philosophie

Note de service n°2020-004 du 11 février 2020, BO spécial n°2 du 13 février 2020.

#### Biochimie-Biologie-Biotechnologies

Note de service n°2020-014 du 11 février 2020, BO spécial n°2 du 13 février 2020.

#### Physique-chimie et Mathématiques

Note de service n°2020-014 du 11 février 2020, BO spécial n°2 du 13 février 2020.

#### Épreuve orale terminale dite du Grand Oral

Note de service du 27-7-2021 (NOR : MENE2121379N), BO n°31 du 26 Août 2021.

### CONTRÔLE CONTINU

Arrêté du 16 juillet 2018 relatif aux modalités d'organisation du contrôle continu pour l'évaluation des enseignements dispensés dans les classes conduisant au baccalauréat général et au baccalauréat technologique.

Note de service du 28-7-2021 (NOR : MENE2121270N), BO n°30 du 29 juillet 2021.

### ATTESTATION DE LANGUES VIVANTES EN FIN DE CYCLE TERMINAL

Note de service du 28-7-2021 (NOR : MENE2121270N), BO n°30 du 29 juillet 2021

Chaque candidat au baccalauréat, quel que soit son statut, ses modalités de passation et le résultat obtenu à l'examen, bénéficie d'une attestation de langues vivantes. Cette attestation indique le niveau atteint par le candidat

en langue vivante A et en langue vivante B, et précise ce niveau pour chacune des activités langagières, au regard du cadre européen commun de référence pour les langues (CECRL).

Le niveau indiqué dans l'attestation est déterminé par le résultat obtenu à une évaluation organisée par les professeurs de langue vivante A et de langue vivante B à l'intention de leurs élèves en fin de cycle terminal.

Cette évaluation comprend quatre parties, de poids égal dans le résultat global du candidat, visant à évaluer les quatre activités langagières définies par le CECRL. La partie dédiée à l'évaluation des compétences du candidat en expression orale en continu et en interaction prend la forme d'une interrogation orale.

Pour les candidats scolaires de la voie technologique, dans la langue vivante sur laquelle l'élève a choisi de faire porter l'enseignement technologique en langue vivante (ETLV), l'interrogation orale prévue pour l'évaluation des compétences du candidat en expression orale en continu et en interaction, porte sur cet enseignement.

## **LIVRET SCOLAIRE**

Arrêté du 04 mars 2020, BOEN n°18 du 30 avril 2020.

Le livret scolaire constitue un outil d'aide à la décision pour le jury du baccalauréat. Sa consultation a lieu lors des délibérations qui suivent le premier et le second groupe d'épreuve.

Les moyennes annuelles, pour chaque enseignement, renseignées dans le livret scolaire sont prises en compte, au titre du contrôle continu, dans la note du candidat à l'examen du baccalauréat.

## **ÉPREUVES DU SECOND GROUPE**

**(« oraux de rattrapage » ou « épreuves de contrôle »)**

Le second groupe d'épreuves auquel sont autorisés à se présenter les candidats ayant obtenu, à l'issue du premier groupe d'épreuves, une note moyenne au moins égale à 8 et inférieure à 10 est constitué d'épreuves orales de contrôle.

Après communication de ses notes, le candidat choisit deux disciplines au maximum parmi celles qui ont fait l'objet d'épreuves écrites obligatoires du premier groupe, anticipées ou non.

La note de chaque épreuve de contrôle est affectée du même coefficient que celui de l'épreuve correspondante du premier groupe. Seule la meilleure note obtenue par le candidat au premier ou au deuxième groupe d'épreuves est prise en compte par le jury. Le candidat est reçu s'il obtient au moins, à l'issue de ces oraux, une note moyenne de 10/20 à l'ensemble des épreuves. Un certificat de fin d'études secondaires (C.F.E.S.) est délivré aux candidats ajournés à l'issue des épreuves du second groupe.

## MENTIONS

Les mentions « assez bien » (AB), « bien » (B), « très bien » (TB) et « très bien avec les félicitations du jury » ne sont attribuées qu'aux candidats obtenant le baccalauréat au premier groupe d'épreuves, en fonction de la moyenne obtenue.

La règle est la suivante :

Mention AB : moyenne supérieure ou égale à 12 et inférieure à 14

Mention B : moyenne supérieure ou égale à 14 et inférieure à 16

Mention TB : moyenne supérieure ou égale à 16 et inférieure à 18 ;

Mention TB avec félicitations du jury : moyenne supérieure ou égale à 18.

## ÉPREUVES DE REMPLACEMENT (OU « ÉPREUVES DE SEPTEMBRE »)

Les candidats qui, pour cause de force majeure dûment constatée, n'ont pu passer, au cours ou à la fin de l'année scolaire, tout ou partie des épreuves terminales du premier groupe, pourront être autorisés par le recteur, à se présenter uniquement aux épreuves de remplacement organisées au début de l'année scolaire suivante (soit dès le mois de septembre suivant).

La session de remplacement ne comporte pas d'épreuves d'éducation physique et sportive, ni d'évaluations communes, ni d'épreuves ou parties d'épreuves organisées dans les établissements publics ou privés sous contrat en dehors de la session organisée à la fin de l'année scolaire.

## DÉFINITIONS DES ÉPREUVES DE LA SÉRIE STL

### DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Biochimie-Biologie-Biotechnologies

L'enseignement de biochimie-biologie-biotechnologies en classe de terminale s'ancre dans la démarche scientifique expérimentale au laboratoire et doit permettre d'acquérir les concepts clés scientifiques et technologiques en lien avec les activités expérimentales. Cette épreuve a pour objectif de valider la maîtrise des compétences scientifiques et technologiques acquises.

L'épreuve prend appui sur les programmes de biochimie-biologie et de biotechnologies, de la classe de première, définis dans l'arrêté du 17 janvier 2019 paru au BOEN spécial n° 1 du 22 janvier 2019 et sur le programme de biochimie-biologie-biotechnologies de la classe de terminale défini dans l'arrêté du 19 juillet 2019 paru au BOEN spécial n° 8 du 25 juillet 2019.

L'épreuve de Biochimie-biologie-biotechnologies comporte deux parties :

- une partie écrite, notée sur 20 points, coefficient 7 ;
- une partie pratique d'évaluation des compétences expérimentales, notée sur 20 points, coefficient 9.



## Partie écrite

Durée : 3 heures

Coefficient 7

### Objectifs

L'épreuve permet d'évaluer l'ensemble des compétences scientifiques et technologiques et la maîtrise des concepts clés du programme en s'appuyant sur un contexte de biotechnologie.

Cette partie écrite de l'épreuve permet ainsi d'évaluer les compétences suivantes :

- **analyser un document** scientifique ou technologique pour en extraire les informations ou les concepts clés ;
- **effectuer les calculs** nécessaires à l'exploitation des documents ;
- **interpréter des données** de biochimie, de biologie ou de biotechnologies ;
- **argumenter** pour valider un choix technique, étayer un raisonnement scientifique ou répondre à une problématique de biotechnologies ;
- **rédiger ou élaborer une synthèse** en mobilisant les concepts scientifiques et technologiques ;
- **communiquer à l'écrit** à l'aide d'une syntaxe claire et d'un vocabulaire scientifique ou technologique adapté.

### Structure

L'épreuve comporte deux parties.

**La première partie**, d'une durée indicative de 2 heures 30, se présente sous forme de questionnements scientifiques et technologiques en appui sur 6 à 9 documents d'une demi-page à une page maximum chacun. Les réponses permettent de mobiliser les savoir-faire et concepts-clés de biochimie, de biologie et de biotechnologies y compris des compétences mathématiques liées au traitement de données chiffrées expérimentales, en intégrant la dimension métrologique. Le questionnement conduit le candidat à analyser et interpréter des documents scientifiques et technologiques. L'énoncé amène le candidat à répondre à une problématique concernant l'application des propriétés du vivant dans un des domaines des biotechnologies.

**La deuxième partie**, d'une durée indicative de 30 minutes, se présente sous forme d'une question de synthèse qui permet d'évaluer la capacité à construire un raisonnement et à rédiger des arguments dans un paragraphe court. La réflexion personnelle menée par le candidat peut être de nature scientifique ou technologique en lien avec la problématique étudiée dans la première partie. Cette synthèse peut également porter sur une question sociétale en lien avec la problématique de la première partie. Cette partie mobilise une réflexion critique ainsi que des capacités rédactionnelles et de synthèse, elle s'appuie éventuellement sur un document d'actualité.

## Partie pratique d'évaluation des compétences expérimentales

Durée : 3 heures

Coefficient 9

### Objectifs

L'épreuve permet d'évaluer le niveau de maîtrise des compétences expérimentales suivantes :

- **analyser une procédure opératoire pour identifier les sources d'erreurs**, afin de choisir le matériel adapté ;
- **analyser une procédure opératoire pour identifier les dangers**, évaluer les risques afin de choisir les mesures de prévention ;
- **réaliser chaque manipulation en autonomie**, en intégrant les mesures de prévention ;
- **effectuer les calculs et exploiter les indications** de mesure, à l'aide des outils numériques ;
- **exprimer les résultats expérimentaux** en intégrant la dimension métrologique ;
- **interpréter les observations** qualitatives ou les résultats quantitatifs.

### Organisation

Une banque nationale de supports d'évaluation des compétences expérimentales portant sur les acquis de l'ensemble du cycle terminal est constituée ; seize sujets sont retenus par session. En fonction des équipements disponibles dans les lycées, les sujets sont ensuite choisis en nombre nécessaire par l'établissement parmi les seize retenus pour la session.

La date de chaque sujet d'évaluation des compétences expérimentales est fixée par un calendrier national.

Le candidat tire au sort le jour et l'heure de son passage. Les sujets sont différents d'une demi-journée à l'autre.

Un examinateur évalue au maximum quatre candidats, et huit candidats au maximum sont évalués en parallèle dans un même laboratoire. L'examineur ne peut pas examiner les candidats qui sont les élèves de sa classe de l'année en cours.

### Évaluation

Les professeurs examinateurs disposent d'une grille d'observation au nom de chaque candidat. Cette grille sert de support à l'évaluation du candidat. Elle porte la note qui lui est attribuée sur 20 points et un commentaire qualitatif.

## Épreuve orale de contrôle (oral second groupe)

Temps de préparation : 20 minutes

Durée : 20 minutes

(exposé de 10 minutes suivi d'un entretien de 10 minutes avec le jury)

L'épreuve doit permettre d'évaluer la capacité du candidat à présenter à l'oral ses acquis scientifiques et technologiques. Elle a lieu dans un laboratoire de biotechnologies pour pouvoir interroger le candidat sur le choix et l'utilisation du matériel expérimental. Des résultats expérimentaux à exploiter, éventuellement à l'aide d'un calcul, peuvent également être proposés au candidat, sans qu'il ne réalise lui-même de manipulation.

Le candidat tire au sort un sujet portant sur le programme de spécialité de terminale, comportant une question scientifique et une question technologique liée aux activités expérimentales au laboratoire. Il les traite en s'appuyant sur un ou plusieurs documents, du matériel de laboratoire, et éventuellement des résultats expérimentaux.

### DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Physique Chimie et Mathématiques

#### Épreuve écrite

Durée : 3 heures

Coefficient 16

#### Objectifs

L'épreuve permet d'évaluer l'acquisition par les candidats des notions, contenus, capacités exigibles et compétences figurant au programme de l'enseignement de spécialité de physique - chimie et mathématiques, de la classe de première, défini dans l'arrêté du 17 janvier 2019 paru au BOEN spécial n° 1 du 22 janvier 2019 et de la classe de terminale défini dans l'arrêté du 19 juillet 2019 paru au BOEN spécial n° 8 du 25 juillet 2019.

Les notions du programme de physique - chimie et mathématiques enseignées en classe de première et non approfondies en classe de terminale, ainsi que les contenus et capacités attendues figurant au programme de l'enseignement commun de mathématiques du cycle terminal, sont mobilisables.

L'épreuve permet d'évaluer le degré d'atteinte par les candidats des objectifs de formation suivants :

- **mobiliser ses connaissances** en situation ;
- **mettre en œuvre une démarche** de résolution de problème ;
- **mener des raisonnements** ;
- **analyser et exploiter des résultats** expérimentaux ;
- **avoir une attitude critique** face aux résultats obtenus ;
- **communiquer à l'écrit.**

## **Structure**

Le sujet comporte de trois à cinq exercices indépendants les uns des autres abordant des domaines différents du programme.

L'un au moins des exercices propose l'étude d'une situation où les mathématiques et la physique - chimie interagissent et se complètent pour apporter chacune son éclairage. Les autres exercices permettent d'évaluer les connaissances et les compétences propres à chacune des disciplines qui composent l'enseignement de spécialité de physique - chimie et mathématiques.

Les sujets traités en physique - chimie lors de cette épreuve portent sur des situations contextualisées en prenant appui sur des applications scientifiques et technologiques contemporaines ; à ce titre, ils peuvent contenir, en nombre limité, des documents à analyser ou des données expérimentales à exploiter.

Les sujets traités en mathématiques peuvent porter sur des situations contextualisées ou sur des situations internes aux mathématiques.

Le sujet précise si l'usage de la calculatrice, dans les conditions précisées par les textes en vigueur, est autorisé.

## **Notation**

Cette épreuve est notée sur 20 points. Le barème est construit de manière à attribuer 6 points à l'évaluation des compétences propres aux mathématiques et 14 points pour celles propres à la physique - chimie.

L'épreuve est corrigée par un professeur de mathématiques pour les compétences propres aux mathématiques et un professeur de physique - chimie pour les compétences propres à la physique - chimie.

## **Épreuve orale de contrôle (oral second groupe)**

Temps de préparation : 30 minutes      Durée : 30 minutes

L'épreuve consiste en un entretien entre le candidat et deux examinateurs, un professeur de physique - chimie et un professeur de mathématiques.

Le candidat tire au sort un sujet comportant trois questions : deux questions portent la totalité de la partie de physique - chimie du programme du cycle terminal et une question sur la totalité de la partie de mathématiques du programme du cycle terminal. Les exercices permettent d'évaluer sa capacité à mobiliser ses connaissances en situation et son aptitude à raisonner, démontrer, calculer, argumenter, analyser des résultats expérimentaux et exercer son esprit critique.

Cette épreuve a lieu dans une salle comportant du matériel de physique - chimie afin que des questions puissent être posées sur le matériel expérimental et son utilisation, sans que le candidat soit conduit à manipuler.

En cas de besoin, un moyen de calcul (calculatrice ou ordinateur) est fourni au candidat.

### **DÉFINITION DE L'ÉPREUVE :**

#### **Épreuve orale terminale dite épreuve du « Grand Oral »**

Durée : 20 min préparation + 20 min épreuve

Coefficient : 14

#### **Finalité de l'épreuve**

L'épreuve permet au candidat de montrer sa capacité à prendre la parole en public de façon claire et convaincante. Elle lui permet aussi de mettre les savoirs qu'il a acquis, particulièrement dans ses enseignements de spécialité, au service d'une argumentation, et de montrer comment ces savoirs ont nourri son projet de poursuite d'études, voire son projet professionnel.

#### **Évaluation de l'épreuve**

L'épreuve est notée sur 20 points.

Le jury valorise la solidité des connaissances du candidat, sa capacité à argumenter et à relier les savoirs, son esprit critique, la précision de son expression, la clarté de son propos, son engagement dans sa parole, sa force de conviction.

#### **Format et déroulement de l'épreuve**

##### **Premier temps : présentation d'une question (5 minutes)**

Au début de l'épreuve, le candidat présente au jury deux questions.

Ces questions s'appuient sur l'enseignement de spécialité pour lequel le programme prévoit la réalisation d'une étude approfondie. Les candidats scolarisés peuvent avoir préparé cette étude individuellement ou avec d'autres élèves. Cette étude approfondie correspond, dans certaines séries, au projet réalisé pendant l'année.

Les questions présentées par le candidat lui permettent de construire une argumentation pour définir les enjeux de son étude, la mettre en perspective, analyser la démarche engagée au service de sa réalisation ou expliciter la stratégie adoptée et les choix opérés en termes d'outils et de méthodes.

Les questions sont transmises au jury par le candidat sur une feuille, signée par le professeur de la spécialité concernée et portant le cachet de l'établissement d'origine du candidat.

Le jury choisit une des deux questions. Le candidat dispose de 20 minutes de préparation pour mettre en ordre ses idées et réaliser, s'il le souhaite, un support. Pour son exposé, le candidat dispose du support qu'il a préparé.

Le candidat explique pourquoi il a choisi de préparer cette question pendant sa formation, puis il la développe et y répond.

Le jury évalue les capacités argumentatives et les qualités oratoires du candidat.

### **Deuxième temps : échange avec le candidat (10 min)**

Le jury interroge ensuite le candidat pour l'amener à préciser et à approfondir sa pensée. Cette interrogation peut porter sur toute partie du programme du cycle terminal des enseignements de spécialité de la série dans laquelle le candidat est inscrit, en lien avec le premier temps de l'épreuve qui lui-même s'adosse à ces enseignements.

Ce temps d'échange permet d'évaluer la solidité des connaissances du candidat et ses capacités argumentatives.

### **Troisième temps : échange sur le projet d'orientation du candidat (5 min)**

Le candidat explique en quoi la question traitée éclaire son projet de poursuite d'études, voire son projet professionnel. Il expose les différentes étapes de la maturation de son projet (rencontres, engagements, stages, mobilité internationale, intérêt pour les enseignements communs, choix de ses spécialités, etc.) et la manière dont il souhaite le mener après le baccalauréat.

Le jury mesure la capacité du candidat à conduire et exprimer une réflexion personnelle témoignant de sa curiosité intellectuelle et de son aptitude à exprimer ses motivations.

Le candidat effectue sa présentation du premier temps debout, sauf aménagements pour les candidats à besoins spécifiques. Pour les deuxième et troisième temps de l'épreuve, le candidat est assis ou debout selon son choix.

### **Composition du jury**

Le jury est composé de deux professeurs de disciplines différentes, dont l'un représente l'enseignement de spécialité du candidat pour lequel le programme prévoit la réalisation d'un projet propre à la série, et l'autre représente un autre enseignement de la série (enseignement de spécialité ou l'un des enseignements communs), ou est professeur-documentaliste. Ils contribuent ensemble à l'évaluation globale du candidat.

# SUJETS

# 2023

# SUJETS DES ÉPREUVES ÉCRITES DE LA SESSION 2023

---

## PHILOSOPHIE MÉTROPOLE - RÉUNION - MAYOTTE

---

*Durée : 4 heures – Coefficient 2*

*Le candidat devait traiter l'un des trois sujets suivants, au choix.*

### **Sujet 1**

L'art nous apprend-il quelque chose ?

### **Sujet 2**

Transformer la nature, est-ce gagner en liberté ?

### **Sujet 3**

#### **Expliquer le texte suivant :**

Il est un degré de négligence qui paraîtrait mériter une punition quoique cette négligence n'occasionne aucun dommage à personne. Si une personne jetait une grosse pierre dans une voie publique du haut d'un mur sans en avertir les passants, et sans regarder où elle pourrait tomber, elle mériterait certainement une punition. Une police vraiment exacte châtierait une action si absurde, même si elle n'avait fait aucun mal. La personne qui s'en rend coupable fait preuve d'un mépris insolent envers le bonheur et la sécurité des autres. Il y a une injustice réelle dans cette conduite. Cette personne expose inconsidérément son prochain à ce qu'aucun homme de bon sens ne voudrait risquer ; de toute évidence elle manque du sens de ce qui est dû à ses semblables, et qui est la base de la justice et de la société. Une négligence grossière est donc, selon la loi, presque l'équivalent d'un dessein<sup>1</sup> malveillant. Quand des conséquences malheureuses découlent d'une telle insouciance, la personne qui en est coupable est souvent châtiée comme si ces conséquences avaient réellement été dans son intention ; sa conduite qui était seulement insouciant et insolent, et qui méritait punition, est considérée comme atroce et passible du châtement le plus sévère. Si une personne en tue accidentellement une autre par l'action imprudente mentionnée ci-dessus, elle est, selon les lois de nombreux pays, et notamment selon la vieille loi d'Écosse, passible du châtement suprême. Bien que ce soit sans nul doute excessivement sévère, ce n'est pas du tout contraire à nos sentiments naturels. Notre juste indignation contre la folie et l'inhumanité de cette conduite est exaspérée<sup>2</sup> par notre sympathie avec l'infortuné qui en souffre. Rien, pourtant, ne choquerait plus notre sens naturel de l'équité<sup>3</sup> que de mener un homme à l'échafaud simplement pour avoir jeté avec insouciance une pierre dans la rue, sans faire de mal à personne.

DIDEROT, *Encyclopédie* (1751-1772).

---

<sup>1</sup> « dessein » : projet

<sup>2</sup> « exaspérée » : renforcée

<sup>3</sup> « équité » : justice



### *Rédaction de la copie*

*Le candidat a le choix entre deux manières de rédiger l'explication de texte. Il peut :*

- soit répondre dans l'ordre, de manière précise et développée, aux questions posées (option n°1) ;*
- soit suivre le développement de son choix (option n°2).*

*Il indique son option de rédaction (option n°1 ou option n°2) au début de sa copie.*

## **Questions de l'option n°1**

### **A. Éléments d'analyse :**

1. À partir de l'exemple du début du texte, expliquez pourquoi une conduite négligente peut être, aux yeux de la loi, « presque l'équivalent d'un dessein malveillant ».
2. En quoi la situation est-elle différente lorsque la négligence tue « accidentellement » ?
3. D'après le texte, quels facteurs influencent naturellement notre évaluation de la gravité d'un acte ?

### **B. Éléments de synthèse :**

1. Quelle est la question à laquelle l'auteur tente de répondre ici ?
2. Dégagez les différents moments de l'argumentation.
3. En vous appuyant sur les éléments précédents, dégagez l'idée principale du texte.

### **C. Commentaire :**

1. Qu'est-ce qui fait l'injustice d'une action : l'intention ou les conséquences ?
2. Peut-on rendre la justice sans faire intervenir les sentiments ?

# PHILOSOPHIE CENTRES ÉTRANGERS GROUPE 1

*Durée : 4 heures – Coefficient 2*

*Le candidat devait traiter l'un des trois sujets suivants, au choix.*

## **Sujet 1**

La religion implique-t-elle de renoncer à la raison ?

## **Sujet 2**

Sommes-nous vraiment sensibles à l'injustice ?

## **Sujet 3**

### **Expliquer le texte suivant :**

Mais quelle ingratitude, quelle courte vision que d'aspirer à l'abolition de la culture ! Ce qui resterait alors serait l'état de nature, et celui-ci est de beaucoup plus difficile à supporter. Il est vrai, la nature ne nous demande pas de restreindre nos instincts, elle leur laisse toute liberté, mais elle a sa manière, et particulièrement efficace, de nous restreindre : elle nous détruit froidement, cruellement, brutalement, à ce qu'il nous semble, et ceci justement parfois à l'occasion de nos satisfactions. C'est précisément à cause de ces dangers dont la nature nous menace que nous nous sommes rapprochés et avons créé la culture qui, entre autres raisons d'être, doit nous permettre de vivre en commun. A la vérité, la tâche principale de la culture, sa raison d'être essentielle est de nous protéger contre la nature.

On le sait, dans bien des domaines, elle s'acquitte déjà fort bien de cette tâche, et dans l'avenir elle s'en acquittera évidemment encore bien mieux. Mais personne ne nourrit l'illusion que la nature soit déjà domptée, et bien peu osent espérer qu'elle soit un jour tout entière soumise à l'homme. Voici les éléments, qui semblent se moquer de toute contrainte que chercherait à leur imposer l'homme : la terre, qui tremble, qui se fend, qui engloutit l'homme et son œuvre, l'eau, qui se soulève, et inonde et noie toute chose, la tempête qui emporte tout devant soi ; voici les maladies, que nous savons depuis peu seulement être dues aux attaques d'autres êtres vivants, et enfin l'énigme douloureuse de la mort, à laquelle aucun remède n'a jusqu'ici été trouvé et ne le sera sans doute jamais. Avec ces forces, la nature se dresse contre nous, sublime, cruelle, inexorable ; ainsi elle nous rappelle notre faiblesse, notre détresse, auxquelles nous espérons nous soustraire grâce au travail de notre culture. C'est un des rares spectacles nobles et exaltants que les hommes puissent offrir que de les voir, en présence d'une catastrophe due aux éléments, oublier leurs désaccords, les querelles et hostilités qui les divisent pour se souvenir de leur grande tâche commune : le maintien de l'humanité face aux forces supérieures de la nature.

FREUD, *L'avenir d'une illusion* (1927).

### *Rédaction de la copie*

*Le candidat a le choix entre deux manières de rédiger l'explication de texte. Il peut :*

*- soit répondre dans l'ordre, de manière précise et développée, aux questions posées (option n°1);*

*- soit suivre le développement de son choix (option n°2).*

*Il indique son option de rédaction (option n°1 ou option n°2) au début de sa copie.*

## **Questions de l'option n°1**

### **A. Éléments d'analyse :**

1. Expliquer : « la nature ne nous demande pas de restreindre nos instincts, elle leur laisse toute liberté ».
2. Montrer en quoi l'état de nature est cependant difficile à supporter selon Freud.
3. En quoi est-il illusoire de croire que la nature puisse être domptée.
4. Expliquer en quoi le spectacle qu'offre l'homme dans sa lutte contre la nature est « noble et exaltant ».

### **B. Éléments de synthèse :**

1. Quelle est la question à laquelle l'auteur tente ici de répondre ?
2. Dégagez les différents moments de l'argumentation.
3. En vous appuyant sur les éléments précédents, dégagez l'idée principale du texte.

### **C. Commentaire :**

1. Diriez-vous avec Freud, que « la tâche principale de la culture (...) est de nous protéger contre la nature » ?
2. Que gagne l'humanité à lutter contre la nature ?

**PHYSIQUE CHIMIE, MATHÉMATIQUES**  
**SUJET 1 – METROPOLE-ANTILLES-GUYANE - MAI 2023**

*Durée : 3 heures – Coefficient 16*

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.*

*L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collège », est autorisé.*

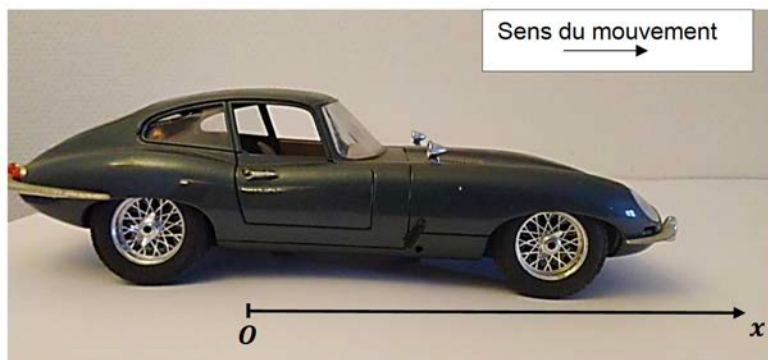
**PHYSIQUE - CHIMIE**.....14 / 20 points  
**MATHÉMATIQUES** .....6 / 20 points

*Le candidat devait être attentif aux consignes contenues dans le sujet pour traiter les quatre exercices.*

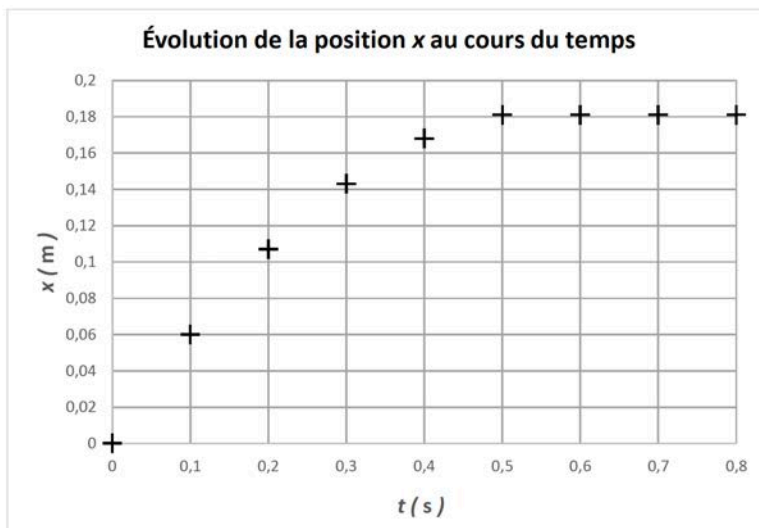
**EXERCICE 1 (5 points)**  
**(Physique - Chimie et Mathématiques)**

Lors d'une séance expérimentale, un binôme d'élèves réalise la vidéo du mouvement d'une voiture miniature de masse  $m = 0,040$  kg, en roue libre. L'objectif de l'expérience est de déterminer l'intensité  $F$  de l'ensemble des forces de frottement qui s'exercent sur la voiture et la distance  $d$  parcourue avant l'arrêt. Les forces de frottement sont supposées constantes. L'étude est menée dans le référentiel du sol supposé galiléen. Le mouvement de la voiture est rectiligne et s'effectue selon un axe horizontal ( $Ox$ ) fixe.

**Étude expérimentale**



L'analyse de la vidéo obtenue par le binôme d'élèves, au moyen d'un logiciel de pointage, permet d'obtenir le graphe de l'évolution de la position  $x$  du centre de masse  $G$  de la voiture au cours du temps.



**Figure 1**

1. En prenant appui sur la **figure 1** et en justifiant, décrire l'évolution (croissante, décroissante...) de la vitesse de la voiture au cours du temps.
2. En utilisant la **figure 1**, calculer la vitesse moyenne de la voiture entre les instants  $t_0 = 0$  et  $t = 0,1$  s.

Le nuage expérimental de points peut être modélisé par une fonction polynomiale sur l'intervalle de temps  $[0 ; 0,50]$ , le temps étant exprimé en secondes. On rappelle que la position  $x$  est exprimée en mètres.

Cette fonction, notée  $x$ , a pour expression :

$$x(t) = -0,58 \times t^2 + 0,65 \times t$$

La fonction  $x$  est dérivable sur l'ensemble des réels. On note  $x'$  sa dérivée.

3. Déterminer  $x'(t)$  pour tout réel  $t$ .
4. Calculer  $x'(0)$ .
5. Nommer la grandeur physique à laquelle fait référence  $x'(0)$ .
6. Dédire de la question 3, la valeur de l'accélération définie sur l'intervalle de temps  $[0 ; 0,50]$ , le temps étant exprimé en secondes. Interpréter le signe dans la situation étudiée.

7. Réaliser le bilan des forces modélisant les actions mécaniques s'exerçant sur la voiture au cours de son mouvement. Les représenter sans souci d'échelle sur un schéma où la voiture est réduite à son centre de masse  $G$ .
8. En utilisant la seconde loi de Newton, montrer que l'intensité  $F$  de l'ensemble des forces de frottement s'exerçant sur le système voiture s'écrit :

$$\mathbf{F} = -m \times \mathbf{a}$$

9. Montrer que la valeur numérique de l'intensité  $F$  de l'ensemble des forces de frottements est égale à  $4,6 \times 10^{-2} \text{N}$ .

On rappelle que la voiture parcourt une distance  $d$  avant de s'arrêter et que le travail de la force constante  $\vec{F}$  entre le point de départ  $O$  et le point d'arrêt  $A$  s'écrit  $W(\vec{F}) = \vec{F} \cdot \vec{OA}$ .

10. Montrer que  $W(\vec{F}) = -F \times d$ .

La variation de l'énergie cinétique du système voiture entre les instants

$t_0 = 0$  et  $t_f = 0,5 \text{ s}$  (instant à partir duquel on considère la vitesse nulle) est égale au travail de l'ensemble des forces de frottements.

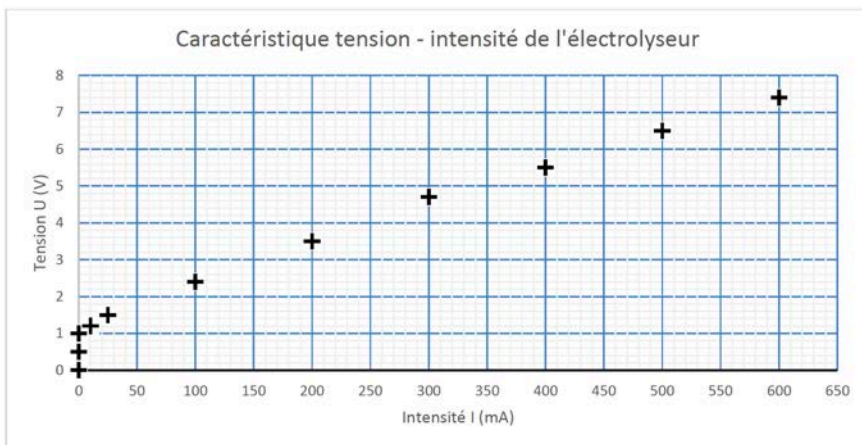
11. En déduire la valeur de la distance  $d$  parcourue par la voiture entre les instants  $t_0$  et  $t_f$ . Confronter le résultat obtenu à celui que l'on peut déterminer sur la **figure 1**.

## EXERCICE 2 (5 points) (Physique - Chimie)

La mobilité décarbonée est un défi à relever afin de limiter la pollution engendrée par les modes de transport classiques. Une solution proposée est celle de véhicules électriques utilisant une pile à hydrogène qui nécessite du dihydrogène pour fonctionner.

On s'intéresse à la production du dihydrogène par l'électrolyse de l'eau acidifiée par la présence d'acide sulfurique ( $2\text{H}^+$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) dans un électrolyseur de laboratoire de lycée. Lors de cette transformation chimique, l'eau se décompose et il se forme du dihydrogène. Dans la littérature, les rendements indiqués dans le cas de l'électrolyse industrielle de l'eau sont compris entre 75 et 90 %.

Un électrolyseur est un dipôle qui convertit une partie de l'énergie électrique reçue en énergie chimique. Au laboratoire, on dispose de l'électrolyseur schématisé sur le **document réponse DR1** et dont la caractéristique tension-intensité est donnée ci-dessous.



Données :

- Énergie chimique nécessaire à la formation d'un volume égal à 1,0 mL de dihydrogène, à la pression atmosphérique, lors de l'électrolyse de l'eau réalisée au laboratoire : 11 J.
- Couples oxydant/réducteur mis en jeu lors de l'électrolyse :  $H^+(aq)/H_2(g)$  et  $O_2/H_2O(l)$ .

1. Indiquer, en expliquant la réponse, si l'électrolyseur est un générateur ou un récepteur électrique. Schématiser la conversion énergétique qui a lieu dans l'électrolyseur en faisant apparaître les différentes formes d'énergie mises en jeu.
2. Compléter le schéma du montage d'électrolyse présenté dans le **document réponse DR1 page 27, à rendre avec la copie**, en indiquant le sens de circulation du courant et celui des électrons dans le circuit.
3. Écrire l'équation de la réaction modélisant la transformation se produisant au niveau de l'électrode reliée à la borne négative du générateur (à cette électrode, le dégagement gazeux se produit dans le tube 1).
4. Préciser, en expliquant la réponse, si cette électrode constitue l'anode ou la cathode du dispositif.

5. Écrire l'équation de la réaction modélisant la transformation se déroulant lors de l'électrolyse de l'eau.
6. Déterminer la valeur de la tension mesurée aux bornes de l'électrolyseur du laboratoire lorsqu'il est traversé par un courant électrique d'intensité égale à 500 mA.
7. En déduire la valeur de la puissance électrique reçue par l'électrolyseur en fonctionnement dans ces conditions.

On réalise au laboratoire l'électrolyse de l'eau pendant une durée de deux minutes avec une intensité du courant maintenue égale à 500 mA. Il se forme alors un volume de dihydrogène égal à 20 mL.

8. Montrer que la valeur de l'énergie électrique reçue par l'électrolyseur pendant les deux minutes de fonctionnement est environ égale à 400 J.
9. Déterminer le rendement de l'électrolyseur en fonctionnement. Commenter ce résultat par rapport à une électrolyse industrielle.

### EXERCICE 3 (4 points) (Mathématiques)

**Dans cet exercice, les quatre questions sont indépendantes. Il faut traiter les quatre questions.**

#### Question 1 :

Soit la fonction  $f$  définie sur  $[0 ; +\infty[$  par  $f(x) = (3x + 5)e^x$   
Vérifier que  $f(0)$  est un nombre entier que l'on précisera.

#### Question 2 :

Soit la fonction  $f$  définie et dérivable sur  $[0 ; +\infty[$  par  $f(x) = (x - 5)e^{3x}$ .  
On note  $f'$  sa fonction dérivée.  
Démontrer que pour tout  $x$  appartenant à l'intervalle  $[0 ; +\infty[$ ,  
 $f(x) = (3x - 14)e^{3x}$ .

#### Question 3 :

On donne :

$$A = \ln\left(\frac{25}{8}\right)$$



En détaillant les calculs, écrire  $A$  sous la forme  $a \ln(2) + b(\ln 5)$ ,  $a$  et  $b$  étant deux nombres entiers relatifs.

#### Question 4 :

On considère l'équation différentielle

$$(E): y' = 3y - 12,$$

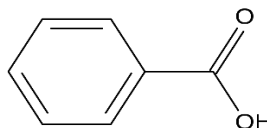
Où  $y$  est une fonction de variable  $x$ , définie et dérivable sur  $\mathbb{R}$ .

Déterminer la fonction  $f$  définie et dérivable sur  $\mathbb{R}$ , solution de  $(E)$ , qui vérifie  $f(0) = 8$ .

### EXERCICE 4 (6 points) (Physique - Chimie)

L'acide benzoïque, de formule  $C_6H_5COOH$ , et le benzoate de sodium sont des conservateurs antimicrobiens respectivement identifiés par les codes E210 et E211. Ils sont présents dans de nombreux produits alimentaires et notamment dans certaines boissons gazeuses sucrées.

À température ambiante, l'acide benzoïque est un solide blanc.



Formule topologique de l'acide benzoïque

#### Données :

- Masse molaire de l'acide benzoïque :  $M = 122 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ .
- Température de fusion de l'acide benzoïque :  $\theta_f = 122,4 \text{ }^\circ\text{C}$ .
- $pK_a$  du couple acide benzoïque / ion benzoate :  $pK_a = 4,2$ .
- Le benzoate de sodium est soluble dans l'eau.

	Densité	Eau	Éthanol	Éther éthylique
Acide benzoïque	-	Peu soluble	Très soluble	Très soluble
Eau	1,0		Miscible	Non miscible
Éthanol	0,76	Miscible		
Éther éthylique	0,71	Non miscible		

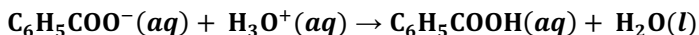
L'objectif de cet exercice est de vérifier l'indication d'une étiquette de boisson gazeuse concernant la présence d'un conservateur.

1. Sur la formule topologique représentée dans le **document réponse DR2 page 28**, à rendre avec la copie, entourer et nommer le groupe caractéristique présent.
2. Écrire la formule topologique de l'ion benzoate, base conjuguée de l'acide benzoïque.
3. Représenter le diagramme de prédominance du couple acide benzoïque / ion benzoate.

Dans un premier temps, on réalise deux expériences permettant de mettre en évidence les propriétés de l'acide benzoïque et de l'ion benzoate :

- Expérience (1) : Dans un tube à essais contenant une solution de benzoate de sodium, on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré. On observe qu'un solide blanc apparaît.
- Expérience (2) : Dans un tube à essais contenant une solution de soude concentrée, on ajoute de l'acide benzoïque solide. On observe que le solide introduit disparaît.

4. On donne l'équation chimique suivante :



La réaction qui correspond à l'équation ci-dessus modélise une transformation chimique ayant lieu lors de l'une des expériences précédentes. Indiquer, en justifiant la réponse, s'il s'agit de l'expérience (1) ou de l'expérience (2).

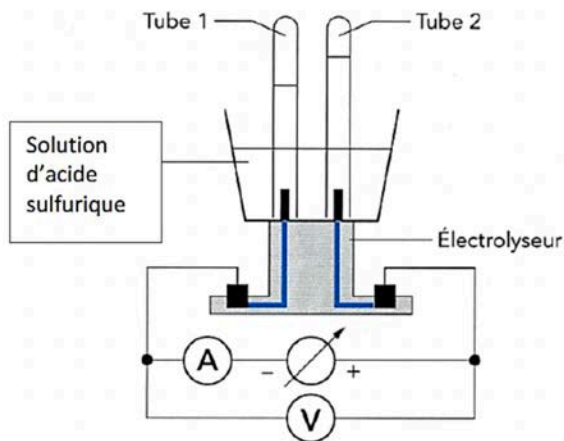
L'étiquette d'une boisson gazeuse indique qu'elle contient du benzoate de sodium comme conservateur alimentaire, entre autres, et on souhaite vérifier cette indication. On réalise pour cela une extraction liquide-liquide. On suit le protocole expérimental suivant :

1. Verser 500 mL de boisson dans un grand bécher.
2. Ajouter de l'acide chlorhydrique jusqu'à amener le *pH* à environ 2.
3. Ajouter alors 40 mL d'éther éthylique, agiter et laisser reposer.
4. Transvaser l'ensemble dans une ampoule à décanter.
5. Agiter vigoureusement pendant deux minutes en prenant soin de dégazer régulièrement pour éviter toute surpression.
6. Laisser décanter.
7. Récupérer la phase aqueuse S dans un bécher et la phase organique dans un erlenmeyer.

5. Préciser ce qu'il se passe lors de l'étape 2 du protocole.
6. À l'aide des données, expliquer pourquoi l'éther éthylique constitue un solvant extracteur plus adapté que l'éthanol lors de la réalisation de l'étape 3 du protocole.
7. Compléter le schéma du **document réponse DR3 page 28, à rendre avec la copie**, en justifiant, à l'aide des données, la nature et la position des différentes phases dans l'ampoule à décanter à l'issue de l'étape 6 du protocole.
8. Après évaporation du solvant extracteur, il reste une masse  $m = 10,0$  mg de solide blanc. Proposer une méthode expérimentale permettant de vérifier que ce solide blanc est bien de l'acide benzoïque.
9. Sachant que la concentration  $c$  en quantité de matière totale théorique d'ions benzoate dans cette boisson est égale à  $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , montrer que la masse théorique d'acide benzoïque que l'on devrait obtenir à l'issue de l'extraction est égale à 24 mg.
10. Le rendement d'une extraction étant défini comme le rapport de la masse de substance réellement extraite sur la masse théorique de substance que l'on aurait pu extraire, calculer le rendement de cette extraction et l'exprimer en pourcentage. Commenter ce résultat.

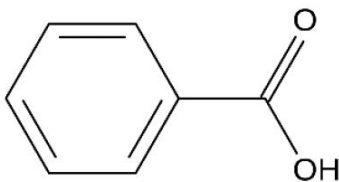
## ANNEXE : documents réponse à rendre obligatoire avec la copie

### Document réponse DR1 – Schéma du montage de l'électrolyseur

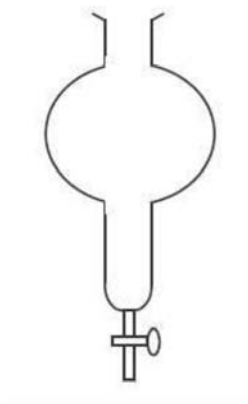


Dans cette expérience, le gaz produit à chaque électrode est récupéré dans un tube à essais.

**Document réponse DR2 : Formule topologique de l'acide benzoïque**



**Document réponse DR3 : Ampoule à décanter**



**PHYSIQUE CHIMIE, MATHÉMATIQUES**  
**SUJET 2 – POLYNESIE FRANÇAISE- MAI 2023**

*Durée : 3 heures – Coefficient 16*

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.*

*L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collègue », est autorisé.*

**PHYSIQUE-CHIMIE**.....14 / 20 points  
**MATHÉMATIQUES**.....6 / 20 points

*Le candidat devait être attentif aux consignes contenues dans le sujet pour traiter les quatre exercices.*

**EXERCICE 1 (4 points)**  
**(Physique - Chimie et Mathématiques)**

**Chute verticale dans un fluide visqueux**

Cet exercice propose de modéliser la chute verticale d'une bille de plomb dans une huile alimentaire.

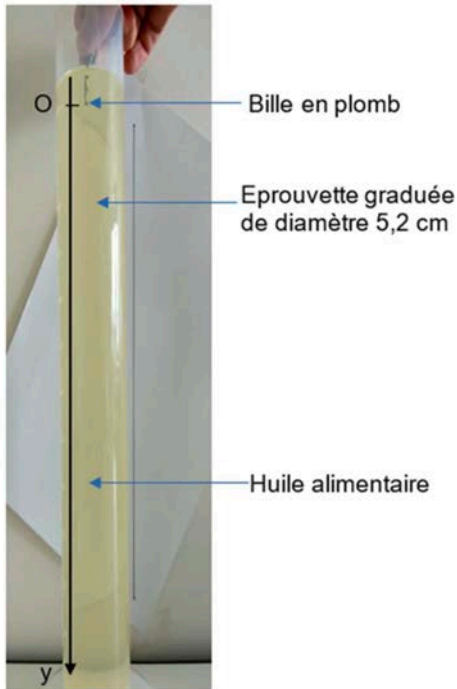
Données :

- Les actions exercées par le fluide sur la bille sont modélisées par une force de frottement fluide :  $\vec{f} = -6 \pi \eta r \vec{v}$  dans laquelle  $\eta$  est la viscosité du fluide,  $r$  est le rayon de la bille et  $\vec{v}$  le vecteur vitesse de la bille ;
- intensité de la pesanteur :  $g = 9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$  ;
- intervalle des valeurs courantes de la viscosité  $\eta$  d'une huile alimentaire : entre 60 et 100 mPa · s.

Une bille de plomb de rayon  $r = 1,03 \text{ mm}$  et de masse  $m = 0,056 \text{ g}$  est lâchée à  $t = 0 \text{ s}$  sans vitesse initiale dans une huile alimentaire (photo ci-dessous).

On nomme  $v(t)$  la valeur de la vitesse de la bille, exprimée en  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ , à l'instant  $t$ , exprimé en seconde.

L'axe  $Oy$  est orienté suivant la verticale descendante.



Le pointage des positions successives de la bille permet de tracer l'évolution de sa vitesse en fonction du temps :

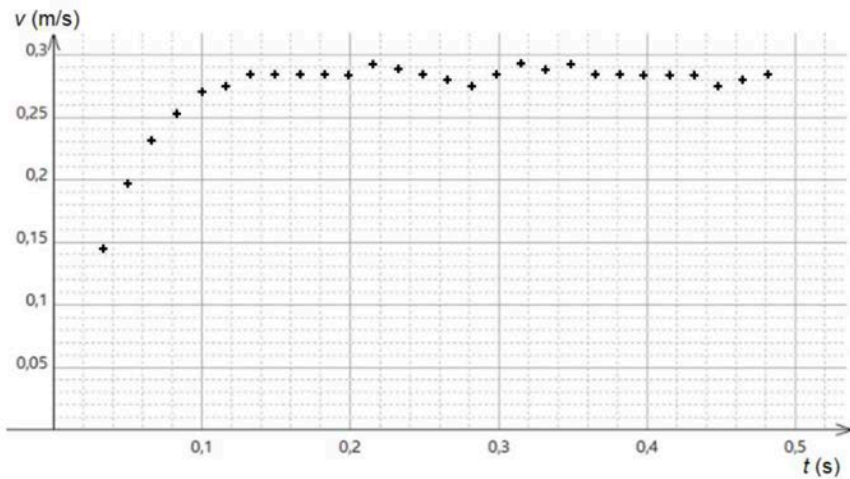


Figure 1. Vitesse de la bille en fonction du temps

1. Justifier, à partir des résultats de la figure 1, que la chute de la bille n'est pas une chute libre.
2. Estimer graphiquement la valeur de la vitesse de chute de la bille en régime permanent.

Pour la suite de l'exercice, on prendra comme valeur de la viscosité de l'huile alimentaire  $\eta = 80 \times 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ .

3. En considérant le système {bille} dans le référentiel du laboratoire supposé galiléen, écrire l'expression vectorielle de la seconde loi de Newton.
4. En déduire, par projection de la deuxième loi de Newton sur l'axe  $(Oy)$ , que la vitesse de chute de la bille doit vérifier l'égalité :

$$\frac{dv}{dt} = -\frac{6 \pi \eta r}{m} v + g$$

### Étude mathématique de la vitesse

On souhaite déterminer une expression de la vitesse de la chute de la bille. Les données physiques de l'expérience conduisent à résoudre l'équation différentielle (E) :

$$y' = -27,7 y + 9,81.$$

5. Déterminer l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).
6. Montrer que l'unique solution  $v$  de l'équation différentielle (E) qui vérifie  $v(0) = 0$  est définie par l'expression :  $v(t) = \frac{9,81}{27,7} \times (1 - e^{-27,7t})$ .
7. Calculer  $\lim_{t \rightarrow +\infty} v(t)$ .

### Analyse du modèle obtenu

Dans cette expérience, la valeur de la vitesse de la bille, exprimée en  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ , en fonction du temps  $t$  exprimé en s, est donnée par la fonction  $v$  définie sur  $[0 ; 0,5]$  dont l'expression est :

$$v(t) = 0,35 \times (1 - e^{-27,7t})$$

8. Vérifier la cohérence de l'ordre de grandeur de la limite obtenue à la question 7 avec celui de la vitesse en régime permanent estimée à la question 2. Proposer une justification à l'écart observé.

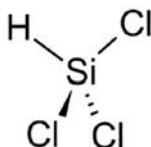
## EXERCICE 2 (6 points) (Physique - Chimie)

### Le silicium dans les molécules organiques et dans les panneaux photovoltaïques

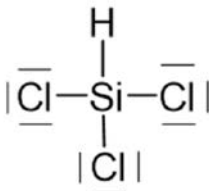
Les propriétés semi-conductrices du silicium et son abondance sur Terre en font un candidat de choix pour la fabrication des panneaux photovoltaïques.

#### Silicium et structure spatiale de molécules

Le trichlorosilane est un intermédiaire dans la fabrication du silicium ultrapur. Une représentation de Cram est donnée ci-dessous.



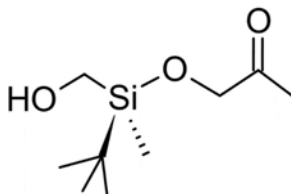
Un schéma de Lewis de la molécule de trichlorosilane est :



1. Déterminer la géométrie autour de l'atome de silicium dans la molécule de trichlorosilane à l'aide de la théorie VSEPR. La comparer à une géométrie courante autour des atomes de carbone dans les molécules organiques.
2. Préciser en justifiant la réponse, si la molécule de trichlorosilane est chirale.

Les molécules organiques contenant du silicium sont aussi utilisées pour synthétiser des molécules d'intérêt biologique. La molécule ci-dessous, notée A, permet la fabrication au laboratoire d'une phéromone naturelle.





3. Repérer deux groupes caractéristiques de la molécule, les recopier dans la copie et donner le nom de la fonction chimique associée à chacun d'entre eux.
4. Donner la définition d'un atome de carbone asymétrique.
5. Appliquer les règles de Cahn, Ingold et Prelog aux quatre groupes d'atomes portés par l'atome de silicium dans la molécule A pour leur classement par ordre de priorité.
6. Dédire la configuration absolue de l'atome de silicium de la molécule, avec la même méthode que celle utilisée pour un atome de carbone.

### Structure cristalline des cellules en silicium d'un panneau photovoltaïque

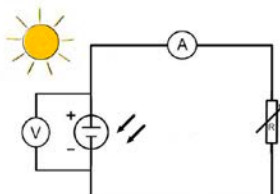
Données : dimensions de la cellule photovoltaïque : 9,7 cm × 7,6 cm.

Différents types de cellules en silicium sont utilisées pour fabriquer des panneaux photovoltaïques :

- les cellules monocristallines (sc-Si) dont le rendement commercial des modules se situe entre 13 et 21 %. Cette technologie est avantageuse, mais présente un coût élevé en raison du prix des matériaux et de la quantité d'énergie requise pour leur fabrication ;
- les cellules polycristallines (mc-Si) dont le coût de fabrication est plus avantageux mais qui présentent un rendement entre 11 et 18 % plus faible que les cellules monocristallines. Environ 57 % des panneaux photovoltaïques vendus dans le monde se composaient de cellules mc-Si en 2011 ;
- les cellules au silicium amorphe (a-Si) ne contenant du silicium que sur une épaisseur d'environ 1  $\mu\text{m}$ . Le caractère amorphe, c'est-à-dire désordonné des atomes de silicium dans ces cellules entraîne des rendements plus faibles, compris entre 6 et 8 %. Jusqu'en 2000, cette technologie a principalement été destinée à alimenter de petits appareils électroniques, comme des montres ou des calculatrices.

D'après le site Futura-Sciences

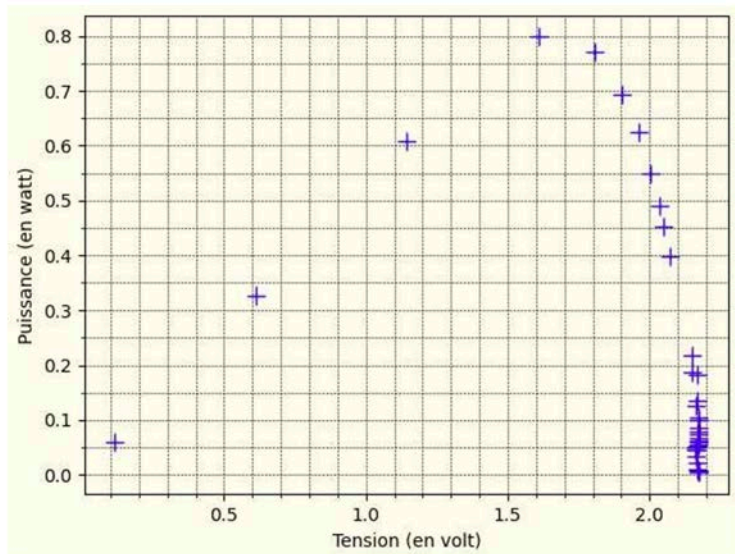
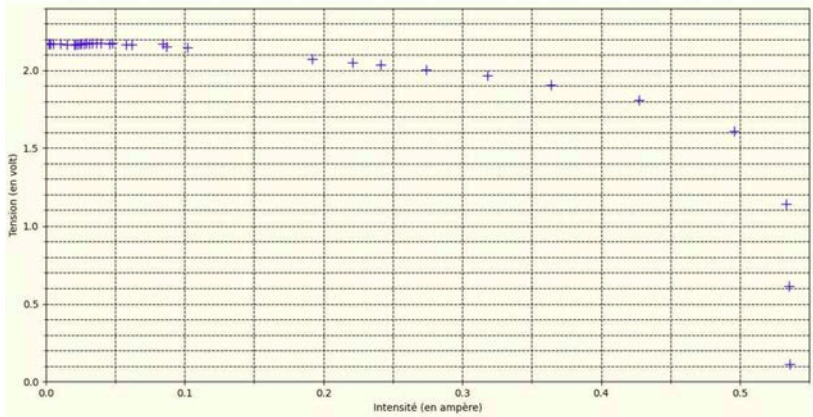
Dans le cadre de l'étude expérimentale d'un panneau photovoltaïque, on mesure la tension  $U$  (en V) aux bornes du panneau photovoltaïque et l'intensité  $I$  (en A) du courant qu'il délivre lorsqu'il alimente une résistance variable  $R$  branchée à ses bornes grâce au dispositif expérimental ci-dessous :



Les mesures obtenues sont intégrées dans un programme écrit en langage Python pour déterminer la puissance électrique délivrée, notée  $P_e$ , dans le circuit par le panneau. Une capture d'écran d'un extrait du programme est donnée ci-après.

1	<code>import matplotlib.pyplot as plt</code>
2	<code># Valeurs de la tension (en V)</code>
3	<code>U=[0.1113,0.613,1.141,1.61,1.806,1.905,1.964,2.005,2.034,2.049,2.073,2.148,2.151,2.167,2.166,2.173,2.171,2.175,2.173,2.173,2.172,2.173,2.171,2.171,2.169,2.166,2.165,2.164,2.166,2.168,2.169,2.17,2.172,2.172,2.172]</code>
4	<code># Valeurs de l'intensité (en A)</code>
5	<code>I=[0.536,0.535,0.533,0.496,0.427,0.364,0.318,0.274,0.241,0.221,0.192,0.102,0.087,0.062,0.0579,0.0477,0.0457,0.0394,0.03636,0.03362,0.03126,0.02909,0.02764,0.02572,0.02446,0.02292,0.02147,0.0206,0.01512,0.01057,0.0841,0.00509,0.00302,0.00226,0.00203]</code>
6	<code># Calcul de la puissance (en W)</code>
7	<code>Pe=[]</code>
8	<code>for k in range(len(U)):</code>
9	<code>    Pe.append(U[k]*I[k])</code>
10	<code># Tracé des graphiques</code>
11	<code>plt.figure("graphique1")</code>
...	...
17	<code>plt.plot(I,U,'b+',markersize=10)</code>
18	<code>plt.figure("graphique2")</code>
...	...
24	<code>plt.plot(U,Pe,'b+',markersize=10)</code>
25	<code>plt.show()</code>

Le programme trace l'évolution de la tension  $U$  en fonction de l'intensité  $I$  puis l'évolution de la puissance  $P_e$  en fonction de la tension  $U$  aux bornes du générateur.



7. Justifier que le panneau solaire n'est pas une source idéale de tension.
8. Déterminer, parmi les valeurs mesurées de la tension  $U$  et de l'intensité  $I$ , celles pour lesquelles la puissance délivrée par le panneau solaire est maximale.
9. Recopier sur la copie la ligne de code du programme écrit en langage Python qui calcule les valeurs successives de la puissance électrique libérée  $P_e$ .

10. Sachant que les mesures ont été réalisées sous un éclairage énergétique de  $900 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ , déterminer la nature probable de la cellule photovoltaïque (cellule monocristalline (sc-Si), cellule polycristalline (mc-Si) ou cellule au silicium amorphe (a-Si)).

*Le candidat est invité à prendre des initiatives et à présenter la démarche suivie, même si elle n'a pas abouti. La démarche est évaluée et nécessite d'être correctement présentée.*

### EXERCICE 3 (4 points) (Mathématiques)

La fonction  $f$  est définie sur  $[0 ; +\infty[$  par :  $f(x) = x e^{0,02x} - 10\,000$ .

1. Déterminer  $\lim_{x \rightarrow +\infty} f(x)$ .

2. On note  $f'$  la fonction dérivée de  $f$  sur  $[0 ; +\infty[$ .

Justifier que pour tout nombre réel  $x \geq 0$ ,  $f'(x) = (0,02x + 1)e^{0,02x}$ .

3. En déduire le sens de variation de  $f$  sur  $[0 ; +\infty[$ .

4. L'affirmation suivante est-elle vraie ou fausse ? Justifier.

« Tout nombre réel  $x$ , compris entre 0 et 1000, a une image négative par  $f$  »

5. Quatre fonctions A, B, C et D sont écrites dans le même programme Python ci-dessous. Laquelle de ces quatre fonctions permet de déterminer la plus petite valeur entière dont l'image par  $f$  est positive ?

```
from math import exp
def A():
    n=0
    return n*exp(0.02*n)-10000

def B():
    n=0
    f=-10000
    while f<0:
        n=n+1
        f=n*exp(0.02*n)-10000
    return n

def C():
    f=-10000
    for n in range(0,1000):
        f=n*exp(0.02*n)-10000
    return f

def D():
    n=0
    f=-10000
    if f<0:
        n=n+1
        f=n*exp(0.02*n)-10000
    return n
```

## EXERCICE 4 (6 points) (Physique - Chimie)

### Piles électrochimiques et alimentation d'une voiture télécommandée

Une pile Daniell est un dispositif électrochimique réalisant la conversion d'énergie chimique en énergie électrique par le biais d'une réaction d'oxydoréduction. Le principe de fonctionnement de cette pile a été démontré par Edmond Becquerel et a été perfectionné par le chimiste britannique John Daniell en 1836, au moment où le développement du télégraphe faisait apparaître un besoin urgent de sources de tension sûres et constantes.

La pile Daniell vient corriger certains défauts de la pile Volta : elle est simple de construction, commode d'usage et de tension stable durant son utilisation, si bien qu'elle servit pendant longtemps de pile étalon en laboratoire.

On appelle pile alcaline un type de pile électrique dont l'électrolyte est alcalin, c'est-à-dire basique. L'un des modèles les plus courants est la pile alcaline zinc-dioxyde de manganèse ( $\text{Zn-MnO}_2$ ) que l'on utilise pour alimenter des jouets par exemple (Source Wikipédia).

L'objectif de cet exercice est d'étudier une pile Daniell réalisée au laboratoire puis d'étudier les performances d'une voiture télécommandée, alimentée à l'aide de piles alcalines.

Données :

- masses molaires atomiques :  $M(\text{Cu}) = 63,5 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  ;  
 $M(\text{Zn}) = 65,4 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  ;
- charge élémentaire :  $e = 1,60 \times 10^{-19} \text{ C}$  ;
- constante d'Avogadro :  $N_A = 6,02 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$  ;
- couples oxydant/réducteur de la pile Daniell :  $\text{Zn}^{2+}(\text{aq}) / \text{Zn}(\text{s})$  et  $\text{Cu}^{2+}(\text{aq}) / \text{Cu}(\text{s})$  ;
- couples oxydant/réducteur de la pile alcaline :  $\text{ZnO}(\text{s}) / \text{Zn}(\text{s})$  et  $\text{MnO}_2(\text{s}) / \text{MnO}(\text{OH})(\text{s})$  ;
- capacité d'une pile alcaline : de 2 000 mAh à 3 000 mAh, soit respectivement de 7 200 C à 10 800 C ;
- masse de la voiture radiocommandée :  $m = 741 \text{ g}$ .

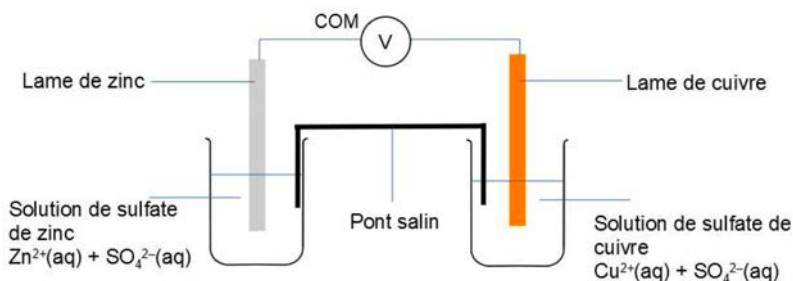
### Étude d'une pile Daniell

Une pile Daniell est constituée d'une lame de zinc plongée dans une solution contenant un volume  $V_0 = 20 \text{ mL}$  d'une solution de sulfate de zinc ( $\text{Zn}^{2+}(\text{aq}) + \text{SO}_4^{2-}(\text{aq})$ ) de concentration  $C_0 = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  et d'une lame de cuivre

plongée dans une solution contenant un volume  $V_0 = 20 \text{ mL}$  de solution de sulfate de cuivre ( $\text{Cu}^{2+}(\text{aq}) + \text{SO}_4^{2-}(\text{aq})$ ) de concentration  $C_0 = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Les deux solutions sont reliées par un pont salin contenant une solution de nitrate d'ammonium ( $\text{NH}_4^+(\text{aq}) + \text{NO}_3^-(\text{aq})$ ).

Un voltmètre est branché aux bornes de la pile (schéma ci-après) pour mesurer la valeur de la tension à vide  $U_0$  lorsque la pile ne débite pas de courant électrique.

Le voltmètre mesure une tension à vide positive :  $U_0 = + 1,102 \text{ V}$ .



1. Préciser, en justifiant la réponse, la polarité de chaque électrode.

Par la suite, on remplace le voltmètre par un ampèremètre en série avec une résistance électrique.

2. Écrire les équations de demi-réaction électroniques se produisant à l'anode et à la cathode. En déduire la réaction d'oxydoréduction modélisant la transformation chimique au sein de la pile.

3. Donner le sens de déplacement des ions ammonium  $\text{NH}_4^+(\text{aq})$  et des ions nitrate  $\text{NO}_3^-(\text{aq})$  dans le pont salin.

La masse de la lame de cuivre est  $m(\text{Cu}) = 62,8 \text{ g}$  et celle de la lame de zinc est  $m(\text{Zn}) = 50,2 \text{ g}$ .

4. Déterminer le réactif limitant de la réaction.

5. En déduire la capacité  $Q_D$  de la pile Daniell. Commenter la valeur obtenue.

### Étude d'une pile alcaline Power+

Les piles alcalines sont fabriquées sous forme de cylindres et de boutons. Une pile cylindrique est contenue dans un tube d'acier, qui sert de collecteur du courant de la cathode. Le trou central de la cathode est revêtu d'un séparateur qui empêche le mélange des produits de l'anode et de la cathode et le court-circuit de l'élément de pile. Il faut que le séparateur puisse laisser passer les ions et rester stable dans une solution électrolytique fortement basique. Pour éviter la polarisation de la pile en fin de vie, on utilise plus de

dioxyde de manganèse qu'il n'est nécessaire pour réagir avec la totalité du zinc. D'après [https://fr.wikipedia.org/wiki/Pile\\_alcaline](https://fr.wikipedia.org/wiki/Pile_alcaline)

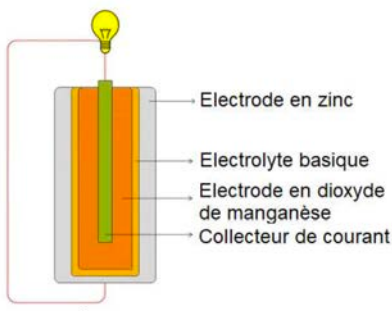
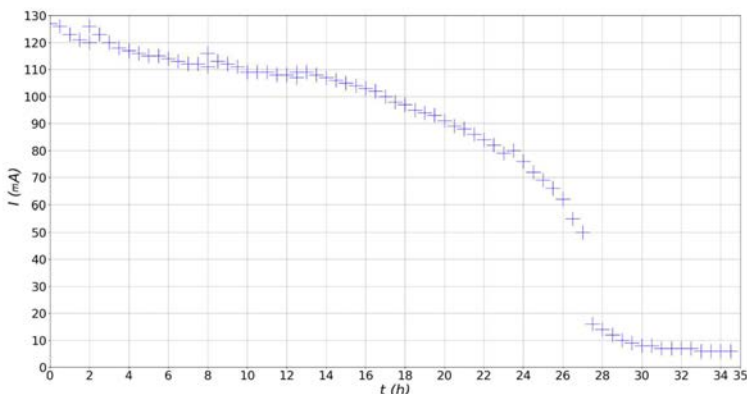


Schéma simplifié d'une pile alcaline  
Source : d'après <https://www.corepile.fr>

6. Identifier en justifiant la réponse, le réactif limitant de la pile alcaline.

7. Identifier l'oxydant et le réducteur dans ce type de pile.

Une pile alcaline AA du commerce de type Power+ est reliée à une résistance de  $10 \Omega$ . L'intensité est mesurée à l'aide d'un ampèremètre. La courbe de l'évolution de l'intensité  $I$  débitée au cours du temps est donnée ci-dessous.



8. On considère qu'une chute brutale de l'intensité correspond à une pile déchargée. Déduire des mesures effectuées la valeur de la durée de fonctionnement de la pile dans ces conditions d'utilisation.

9. En s'appuyant sur le graphique, proposer une valeur de l'intensité moyenne délivrée par la pile Power+, puis estimer la valeur de sa capacité, notée  $Q_{P+}$ . Commenter le résultat.

## Alimentation d'une voiture radiocommandée et étude des performances

Une voiture télécommandée, de type voiture de cascade tout terrain, est alimentée par un bloc de 6 piles alcalines AA Power+ étudiées précédemment.

La tension à vide mesurée aux bornes du bloc d'alimentation vaut  $U_0 = 9,23 \text{ V}$ . La valeur de l'intensité du courant fourni par le bloc d'alimentation lorsque la voiture est en fonctionnement est  $I = 600 \text{ mA}$ .

Pour la suite de l'exercice, on prendra comme valeur pour la capacité du bloc d'alimentation :  $Q_B = 10\,000 \text{ C}$ . Les piles étant branchées en série, la capacité du bloc correspond à la capacité d'une seule pile.

**10.** Déterminer la valeur de la durée d'utilisation maximale attendue de la voiture télécommandée. Commenter le résultat.

Les performances de la voiture sont testées sur une route horizontale et rectiligne. La voiture est initialement arrêtée et parcourt une distance  $d = 9,0 \text{ m}$  au bout d'une durée  $\Delta t = 12 \text{ s}$ .

On suppose que l'énergie électrique provenant des piles est intégralement convertie en énergie cinétique pour faire avancer la voiture.

**11.** Exprimer l'énergie électrique transférée par les piles au cours du test de performance en fonction de  $\Delta t$ ,  $I$ , et  $U_0$ . En déduire la valeur de la vitesse de la voiture en exploitant ce transfert d'énergie et commenter la valeur obtenue.



## PHYSIQUE CHIMIE, MATHÉMATIQUES SUJET 3 – LA REUNION- MAI 2023

*Durée : 3 heures – Coefficient 16*

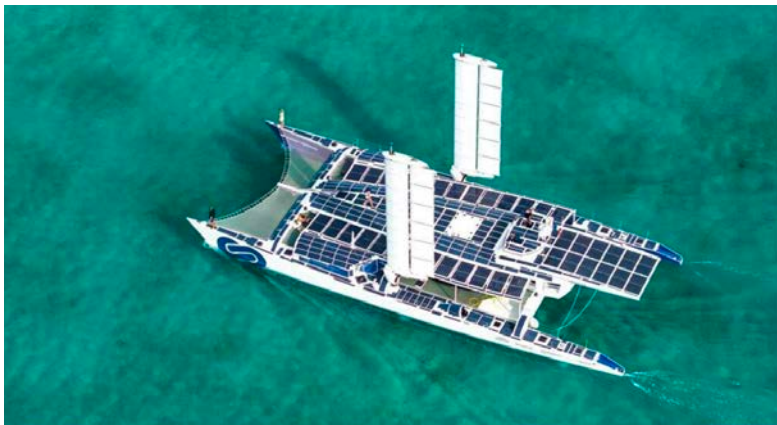
*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.*

*L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collègue », est autorisé.*

**PHYSIQUE-CHIMIE**.....14 / 20 points  
**MATHÉMATIQUES**.....6 / 20 points

*Le candidat devait être attentif aux consignes contenues dans le sujet pour traiter les quatre exercices.*

*Energy Observer est à l'origine le nom du premier bateau navigant grâce aux énergies renouvelables et à l'hydrogène. Parti de France, il a largué les amarres en mars 2020 pour une odyssee de 4 ans autour du monde. Il est le symbole d'une prise de conscience et des actions menées au service de la transition écologique.*



<https://www.energy-observer.org>

Ses technologies embarquées combinent de multiples sources d'énergie telles que les énergies solaire, éolienne, hydrolienne, et différentes solutions de stockage d'énergie telles que des batteries et surtout du dihydrogène. Ces technologies zéro émission sont expérimentées, testées et optimisées pour faire des énergies propres une réalité concrète et accessible à tous.

## EXERCICE 1 (4 points)

### (Physique - Chimie et Mathématiques)

À bord du bateau *Energy Observer*, l'équipage doit évidemment se nourrir. Plutôt que d'utiliser du saccharose pour les apports glucidiques, du sirop de sucre inverti a été embarqué sur le bateau.

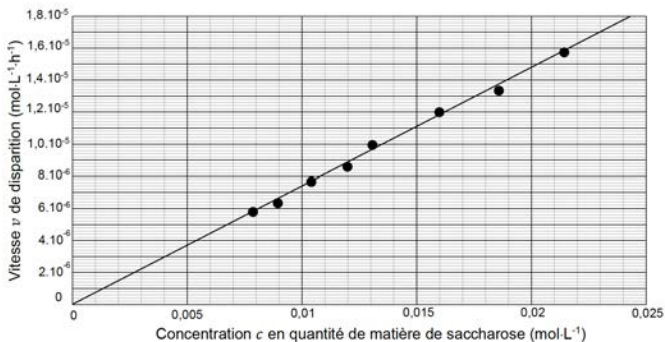
Le sucre inverti est un mélange équimolaire de glucose et de fructose issu de l'hydrolyse du saccharose. Il présente un pouvoir sucrant supérieur d'environ 20 % à celui du saccharose, ce qui limite la masse embarquée sur le bateau. Il permet également de réduire le temps de cuisson, donc l'énergie utilisée à bord pour se nourrir.

La production de sucre inverti est réalisée en laboratoire lors de la transformation chimique du saccharose en milieu acide, en chauffant.

On définit la vitesse  $v$  de disparition du saccharose de concentration  $c$  en quantité de matière par :

$$v = \frac{dc}{dt}$$

Expérimentalement, nous réalisons un suivi cinétique de cette transformation qui permet d'obtenir le graphique ci-après représentant l'évolution de la vitesse  $v$  de disparition du saccharose en fonction de sa concentration  $c$  en quantité de matière dans le mélange. On peut modéliser cette situation par une fonction linéaire.



1- À partir du graphique précédent, choisir, en justifiant la réponse, le modèle adapté à la cinétique chimique de cette réaction parmi les propositions suivantes :

modèle 1 :  $v = k$  ; modèle 2 :  $v = k \cdot c$  ; modèle 3 :  $v = k \cdot c^2$

où  $k$  est la constante de vitesse.

- 2- Déterminer une valeur approchée de la constante de vitesse  $k$  en précisant son unité.

Dans la suite de cet exercice, on prendra  $k = 7 \times 10^{-4}$ .

- 3- Déterminer le temps de demi-réaction  $t_{1/2}$ , défini par la relation :

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}.$$

- 4- Commenter le résultat précédent en qualifiant de rapide ou lente la transformation chimique réalisée au laboratoire.

À partir du modèle identifié à la question 1, on montre que la cinétique de l'hydrolyse du saccharose peut être modélisée par l'équation différentielle (E) :

$$\frac{dc}{dt} = -k \times c \quad (\text{soit en mathématiques } y' = -k \times y)$$

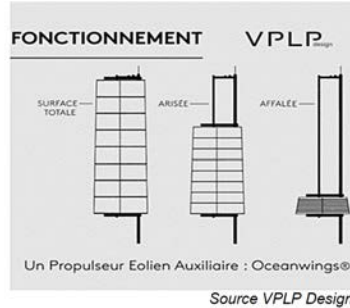
$$\text{où } k = 7 \times 10^{-4}$$

- 5- Résoudre sur  $[0 ; +\infty[$  cette équation différentielle.
- 6- Sachant que pour  $t = 0$ , la concentration initiale du saccharose vaut  $0,4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , montrer que l'unique solution de l'équation (E) est la fonction  $c$  définie sur  $[0 ; +\infty[$  par  $c(t) = 0,4 \times e^{-7 \times 10^{-4} \times t}$ .
- 7- Déterminer la limite de  $c(t)$  lorsque  $t$  tend vers  $+\infty$ .
- 8- Interpréter ce résultat dans le contexte de la production réalisée en laboratoire.

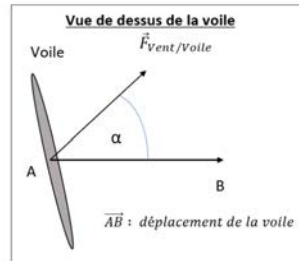
## EXERCICE 2 (6 points) (Physique - Chimie)

### Naviguer plus vite

*Energy Observer* est équipé d'un nouveau type de voiles appelées *Oceanwings*®. Un système automatisé permet de modifier l'orientation des voiles ainsi que leur surface exposée au vent (surface totale, voile arisée ou voile affalée).



Le schéma ci-contre représente la voile vue de dessus ainsi que la force constante exercée par le vent sur la voile, notée  $\vec{F}_{Vent/Voile}$ . La voile, solidaire du bateau, se déplace de A vers B.



- 1- Identifier les deux paramètres permettant de faire varier la vitesse du bateau.
- 2- Déterminer l'expression littérale du travail de la force exercée par le vent sur la voile au cours du déplacement entre les points A et B.

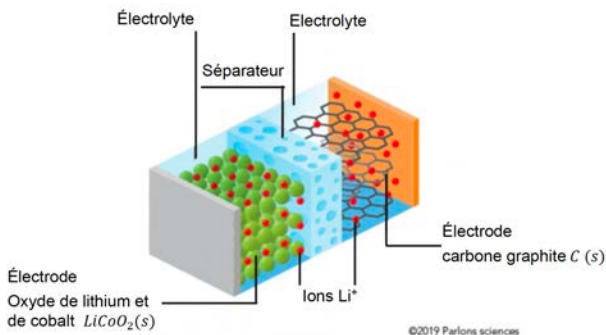
Pour que le bateau navigue à grande vitesse, le travail de la force exercée par le vent sur la voile doit être maximum.

- 3- Déterminer la valeur du paramètre intervenant dans l'expression littérale du travail afin que celui-ci soit maximum.
- 4- Expliquer comment varie la vitesse du bateau en augmentant la surface des voiles et nommer l'énergie du bateau ainsi augmentée.

**Produire, stocker et restituer de l'énergie**

*Energy Observer* est un bateau autonome en énergie. En l'absence de vent et par temps couvert, les apports extérieurs d'énergie sont insuffisants. Aussi, les moteurs électriques qui propulsent le bateau et les appareils à bord font appel à l'énergie stockée dans des batteries ou sous forme de dihydrogène.

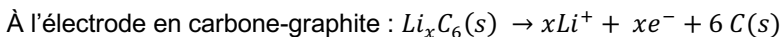
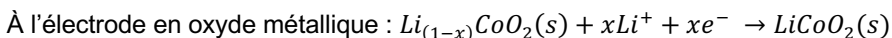
Cette partie se limitera à l'étude de la décharge d'une batterie lithium-ion, qui se comporte alors comme une pile dont voici un schéma simplifié :



L'électrolyte est un sel de lithium dissous dans un solvant organique.

Les ions lithium  $Li^+$  de l'électrolyte peuvent se déplacer d'une électrode à l'autre en passant au travers d'un séparateur perméable à ces ions.

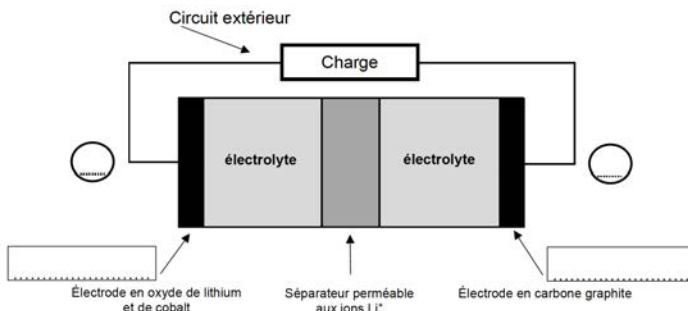
Au cours de sa décharge, une batterie lithium-ion est le siège de transformations chimiques qui se déroulent au niveau de chaque électrode selon les équations de réactions électrochimiques suivantes :



Cet exercice sera traité sans prêter attention à la valeur de  $x$ .

5- Justifier que lors de la décharge l'électrode de carbone graphite  $C(s)$  est le siège d'une oxydation.

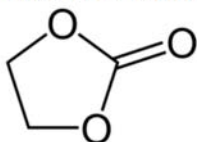
Lors de sa décharge, la batterie délivre un courant électrique dans un circuit extérieur, comme l'illustre le schéma suivant :



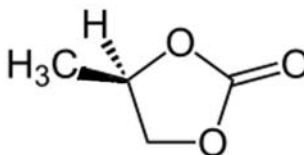
- 6- Reproduire le schéma de la batterie ci-dessus sur votre copie et y indiquer :
- dans les 2 rectangles les rôles d'anode ou de cathode joués par chaque électrode ;
  - la nature et le sens de déplacement des porteurs de charge circulant dans :
    - le circuit extérieur ;
    - le séparateur ;
  - dans les 2 cercles la polarité de chaque électrode.

Au sujet de l'électrolyte de cette batterie, le solvant organique peut être du carbonate d'éthylène ou du carbonate de propylène dont les représentations sont données ci-après :

Carbonate d'éthylène



Carbonate de propylène



- 7- Déterminer la formule brute du carbonate d'éthylène.
- 8- Recopier la représentation de la molécule de carbonate de propylène et identifier la présence de l'atome de carbone asymétrique par une étoile \*.
- 9- Déterminer la configuration absolue R ou S de cet atome de carbone asymétrique.
- 10- Représenter l'autre énantiomère de la molécule de carbonate de propylène en perspective de Cram.

### EXERCICE 3 (4 points) (Mathématiques)

*Les quatre questions de cet exercice sont indépendantes.*

#### Question 1 :

Résoudre dans  $\mathbb{R}$ , l'inéquation :

$$e^{2t} > 0,12$$

**Question 2 :**

On considère la fonction  $F$  définie sur  $\mathbb{R}$  par  $F(t) = ae^{2t+6}$ .

- a-  $F$  est une primitive de la fonction  $f$  définie sur  $\mathbb{R}$  par  $F(t) = 6e^{2t+6}$   
Déterminer la valeur de  $a$ .
- b- Donner une autre primitive de la fonction  $f$ .

**Question 3 :**

On s'intéresse à l'équipement des habitants d'une grande ville en ordinateurs depuis 2000.

La part (exprimée en %) des habitants de cette ville ayant au moins un ordinateur est modélisée par la fonction  $f$  définie sur  $[0 ; +\infty[$  par :

$$f(t) = \frac{94,6}{1 + e^{0,6-0,2t}}$$

où  $t$  est la durée écoulée (en années) depuis l'an 2000.

Montrer que le taux d'équipement ne peut jamais être supérieur à 94,6 %.

**Question 4 :**

Soit  $f$  la fonction définie sur  $[0 ; +\infty[$  par :

$$f(x) = \frac{e^x}{x^2 + 26x}$$

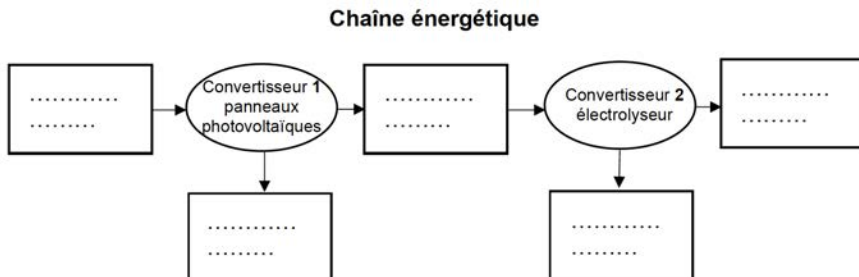
Déterminer la limite de la fonction  $f$  lorsque  $x$  tend vers  $+\infty$ .

**EXERCICE 4 (6 points)  
(Physique - Chimie)**

Le bateau Energy-Observer est recouvert sur le maximum de sa surface par des panneaux photovoltaïques lui permettant de profiter de l'énergie solaire. Une partie importante de l'énergie électrique produite alimente un électrolyseur qui fabrique du dihydrogène gazeux à partir de l'eau de mer dessalinisée. Ce dihydrogène est alors stocké sous une pression de 350 bars dans des bonbonnes pour alimenter la pile à combustible qui assure les besoins en énergie électrique pour la propulsion du bateau et la vie à bord. Ce stockage du dihydrogène constitue une réserve d'énergie à long terme.

## Produire de l'énergie avec les panneaux photovoltaïques

- 1- Recopier la chaîne énergétique ci-dessous et la compléter en précisant les formes d'énergie mises en jeu pour fabriquer le dihydrogène à bord du bateau à partir de l'énergie rayonnée par le Soleil.



La surface globale des panneaux photovoltaïques du bateau est de  $168 \text{ m}^2$ .

Les panneaux utilisés sont de nouvelle génération et offrent un rendement de 22 %.

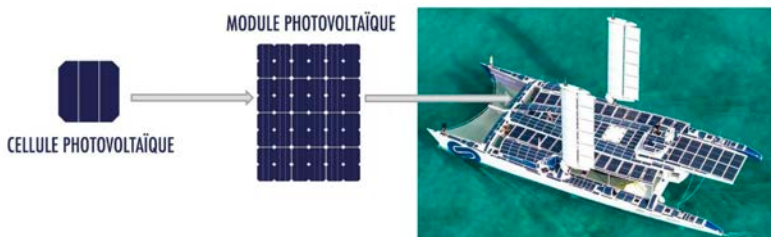
On considère que les panneaux solaires du bateau sont soumis à une irradiation moyenne de  $800 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ .

- 2- Exploiter la valeur du rendement pour estimer la puissance électrique maximale fournie par l'ensemble des panneaux du bateau.

Le constructeur des panneaux annonce que l'installation photovoltaïque sur ce bateau est capable de produire une puissance électrique maximale de 28 kW.

- 3- Comparer le résultat précédent avec la valeur de la puissance électrique maximale annoncée par le constructeur, puis commenter.

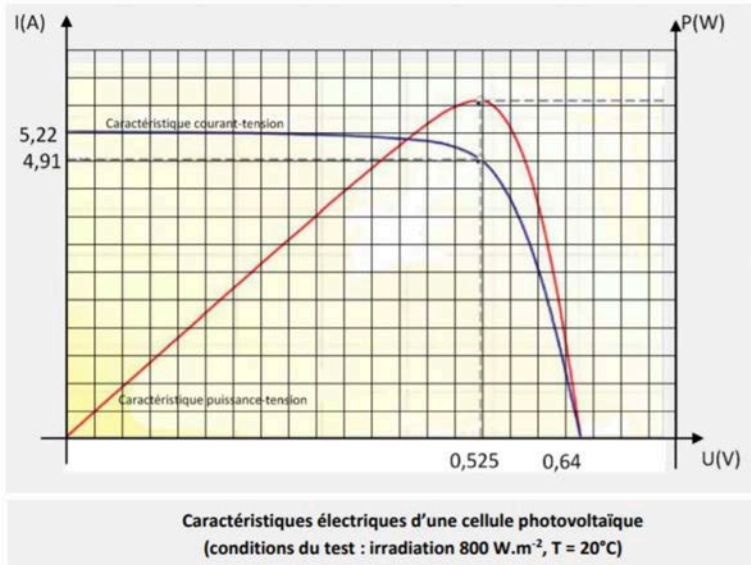
Les panneaux photovoltaïques sont constitués de cellules identiques montées en série, comme illustré ci-dessous :





Considérons une cellule photovoltaïque soumise à une irradiation solaire de  $800 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$  et à une température de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Dans ces conditions, les caractéristiques électriques d'une cellule photovoltaïque sont données par le graphique suivant :



*D'après [spcl.ac-montpellier.fr](http://spcl.ac-montpellier.fr)*

Ce graphique indique notamment les valeurs de la tension  $U$  et de l'intensité  $I$  lorsque la puissance fournie par la cellule est maximale.

- 4- Montrer que, dans ces conditions, la valeur de la puissance électrique maximale délivrée par une cellule est voisine de  $2,6 \text{ W}$ .
- 5- Déterminer le nombre de cellules nécessaires pour atteindre la valeur de la puissance maximale annoncée par le constructeur.
- 6- Montrer que l'énergie électrique maximale produite par l'installation photovoltaïque au cours d'une semaine est de l'ordre de  $1600 \text{ kWh}$  si les conditions sont satisfaites pendant huit heures par jour (unités d'énergie :  $1 \text{ Wh} = 3600 \text{ J}$ ).

L'énergie ainsi produite sert à l'alimentation électrique des électrolyseurs qui réclament une énergie d'environ  $2400 \text{ kWh}$  pour faire le plein des réservoirs de dihydrogène.

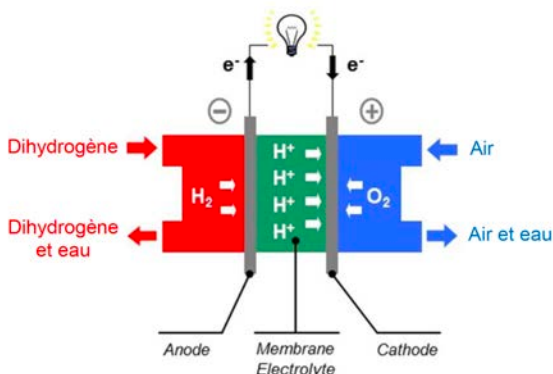
- 7- Estimer la durée nécessaire pour remplir pleinement les réservoirs en dihydrogène seulement par l'apport d'énergie des panneaux photovoltaïques. Commenter cette durée.

### Le dihydrogène pour la pile à combustible

Le stockage du dihydrogène est réalisé dans huit réservoirs de 332 L, soit l'équivalent en énergie de 230 L d'essence. Ce volume représente une énergie globale nette stockée de 1000 kWh.

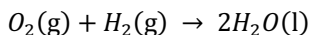
Source <https://www.energy-observer.org>

Cette pile à combustible est constituée de 400 cellules élémentaires dont le fonctionnement est décrit par le schéma ci-dessous :



Extrait du site internet d'EAS-HyMob\_Région Normandie

Au cours de son fonctionnement, chaque cellule élémentaire consomme du dihydrogène  $H_2(g)$  issu des huit réservoirs de stockage et du dioxygène  $O_2(g)$  provenant de l'air ambiant. L'équation de la réaction modélisant le fonctionnement de la pile est la suivante :



### Données :

- couples d'oxydo-réduction  $O_2(g)/H_2O(l)$  et  $H^+(aq)/H_2(g)$  ;
- masse molaire atomique :  $M(H) = 1,0 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  ;
- quantité d'électricité par mole d'électrons :  $F = 9,65 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

- 8- Écrire les équations des réactions électrochimiques modélisant les transformations chimiques se produisant à l'anode et à la cathode.

Le courant électrique circulant dans chaque cellule élémentaire a pour intensité :

$$I = 170 \text{ A}$$

Les réservoirs permettent de stocker un total de 62 kg de dihydrogène.

- 9- À l'aide des informations recueillies, montrer que la quantité de matière de  $\text{H}_2(\text{g})$  disponible pour chaque cellule élémentaire vaut 78 mol.
- 10- En déduire la quantité de matière  $n(e^-)$  d'électrons échangés par une cellule.

La durée d'autonomie de la pile correspond à la durée de fonctionnement  $\Delta t$  d'une cellule qui s'exprime en secondes par la relation :

$$\Delta t = \frac{n(e^-) \times F}{I}$$

- 11- Déterminer la durée d'autonomie de la pile à combustible en secondes, puis en heures. Conclure sur l'intérêt de constituer une réserve de dihydrogène à bord.

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## SUJET 1 - SEPTEMBRE 2022

Durée : 3 heures – Coefficient 7

L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé

En raison de la crise sanitaire, des aménagements ont été exceptionnellement proposés pour cette session 2022. L'évaluation portait sur les six compétences indiquées dans la définition d'épreuve.

Les questions du sujet mobilisaient ces compétences et permettaient de les évaluer. Pour certaines compétences repérées par des astérisques, un choix de questions à traiter était proposé au candidat.

Les questions **Q2, Q4 et Q16** étaient obligatoires.

### Compétence **\*\*C3** :

Le candidat choisit quatre questions parmi les cinq questions identifiées par deux astérisques **Q5\*\***, **Q8\*\***, **Q9\*\***, **Q13\*\*** et **Q15\*\***.

### Compétence **\*\*\*C4** :

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par trois astérisques **Q3\*\*\***, **Q6\*\*\***, **Q7\*\*\*** et **Q10\*\*\***.

### Compétence **C5** :

Les questions **Q12 et Q18** sont obligatoires.

Les astérisques identifient les compétences pour lesquelles un choix est proposé au candidat dans le tableau ci-dessous et chaque question concernée dans le sujet.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
<b>*C1</b>	<b>C2</b>	<b>**C3</b>	<b>***C4</b>	<b>C5</b>	<b>C6</b>
Analyser un document scientifique ou technologique	Effectuer des calculs nécessaires pour exploiter les documents	Interpréter des données de biochimie, de biologie ou de biotechnologie	Argumenter pour étayer un raisonnement scientifique	Rédiger ou élaborer une synthèse en mobilisant les concepts scientifiques et technologiques	Communiquer à l'écrit à l'aide d'une syntaxe claire et d'un vocabulaire scientifique ou technologique adapté
<b>3 points</b>	<b>3 point</b>	<b>5 points</b>	<b>3 points</b>	<b>5 points</b>	<b>1 point</b>

## BACTÉRIE PRÉDATRICE : UN BIOAGENT ANTIMICROBIEN

Les bactéries prédatrices sont présentes principalement dans les sols, les eaux fluviales ou le tube digestif des mammifères, où elles participent à la régulation des populations bactériennes. Par leur capacité à détruire d'autres bactéries, ces agents biologiques constituent une alternative prometteuse à l'utilisation d'antibiotiques et ouvrent la voie à des applications dans les domaines de la médecine et des biotechnologies.

Ceci est en partie le cas pour un groupe remarquable de prédateurs bactériens nommé *Bdellovibrio* et organismes apparentés, connu sous l'acronyme anglo-saxon BALOs pour *Bdellovibrio And Like Organisms*.

<b>Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)</b>
--

Cette étude a pour objet de présenter les propriétés antibactériennes de *Bdellovibrio bacteriovorus* et ses applications potentielles.

- Dans un premier temps, la voie de prédation est caractérisée et les conditions d'une application thérapeutique de cette prédation sont envisagées.
- Dans un second temps, les molécules sécrétées par *B. bacteriovorus* sont mises en évidence en vue d'une utilisation pour la désinfection du matériel médical.

### 1. UTILISATION DES BALOS PAR ACTION DIRECTE À DES FINS THÉRAPEUTIQUES

Chez les microorganismes, la prédation par action directe est une forme de parasitisme.

#### 1.1 Étude du spectre de prédation de *B. bacteriovorus*

**Q1.** (C1) Montrer que la bactérie *B. bacteriovorus* est un parasite.

Le **document 2** présente les courbes de croissance d'une bactérie à Gram positif, *Staphylococcus aureus*, en présence ou en absence de prédateur *B. bacteriovorus*.

**Q2.** (C2) Argumenter le choix d'une représentation semi-logarithmique et estimer approximativement le temps de génération.

**Q3\*\*\*.** (C4) Argumenter le fait que la bactérie Gram positif, *Staphylococcus aureus*, est résistante à l'action de *B. bacteriovorus*.

Le **document 3** présente une expérience de prédation de *B. bacteriovorus* réalisée sur six souches bactériennes Gram négatif.

Un test appelé « contrôle de prédation » est réalisé avec *A. baumannii*, bactérie Gram négatif pour laquelle *B. bacteriovorus* est une bactérie prédatrice.

**Q4.** (C2) Établir les équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques pour déterminer la concentration bactérienne de l'espèce *A. baumannii* à partir des atténuances fournies dans le **document 3**. Calculer le facteur de diminution de la concentration bactérienne en présence de *B. bacteriovorus*, considéré comme étant le facteur de diminution maximal.

Une procédure opératoire identique est réalisée sur cinq autres souches de bactéries Gram négatif.

**Q5\*\*.** (C3) Analyser les résultats pour montrer l'effet de *B. bacteriovorus* sur la croissance des bactéries Gram négatif testées.

**Q6\*\*\*.** (C4) Formuler, à l'aide de l'ensemble des expériences effectuées, une hypothèse sur le spectre de prédation par action directe des bactéries BALOs.

## 1.2 Recherche d'une immunité spécifique contre les BALOs

Certaines bactéries pathogènes peuvent devenir résistantes à l'action des antibiotiques. Les BALOs pourraient être utilisées comme bioagent antimicrobien pour éliminer ces bactéries par attaque directe. Pour cela, il faut vérifier que les BALOs ne sont pas immunogènes.

Afin d'estimer l'immunité développée contre les BALOs dans la population humaine, les anticorps anti-BALOs ont été dosés dans 25 sérums d'individus ayant été en contact avec ces bactéries. La procédure opératoire et les résultats sont présentés dans le **document 4**.

Parallèlement à la recherche d'anticorps anti-BALOs, les anticorps dirigés contre la toxine tétanique sont également dosés. En effet, cette toxine est immunogène et utilisée pour la vaccination anti-tétanique qui est obligatoire.

**Q7\*\*\*.** (C4) Proposer une explication à la présence d'anticorps anti-tétaniques dans les 25 sérums testés.

**Q8\*\*.** (C3) Représenter, en utilisant les symboles du **document 4**, l'édifice moléculaire obtenu à l'issue de la technique ELISA dans chacune des deux cupules pour un sérum contenant des anticorps anti-BALOs.

**Q9\*\*.** (C3) Analyser les résultats obtenus afin de conclure sur l'immunogénicité des BALOs.

**Q10\*\*\*.** (C4) En s'appuyant sur l'ensemble des résultats, émettre une hypothèse sur la possibilité d'utiliser les BALOs comme alternative à l'utilisation d'antibiotiques.

## **2- ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES BALOS PAR ACTION INDIRECTE**

En milieu hospitalier, les biofilms se formant sur du matériel médical ont été identifiés comme des sources potentielles d'infection nosocomiale. Un biofilm est une communauté complexe de microorganismes se développant dans une matrice. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles ou d'échapper à des attaques antimicrobiennes.

Le traitement du matériel médical par des produits antibactériens détruisant ces biofilms est donc nécessaire. Les molécules sécrétées par les BALOs sont testées pour leur action dirigée contre les biofilms.

### **2.1 Étude de la dégradation d'un biofilm de *Staphylococcus aureus* soumis aux BALOs**

Le **document 5** présente la quantification d'un biofilm formé par la bactérie *Staphylococcus aureus* soumis à la présence de molécules sécrétées par la bactérie prédatrice *B. bacteriovorus*.

**Q11\*.** (C1) Analyser le **document 5** pour en déduire l'effet des molécules sécrétées par *B. bacteriovorus* sur le biofilm bactérien.

**Q12.** (C5) Comparer les procédures opératoires des expériences présentées dans les **documents 2 et 5** pour préciser l'action de *B. bacteriovorus* sur la bactérie *Staphylococcus aureus*.

### **2.2 Caractérisation des molécules de *B.bacteriovorus* actives sur des biofilms bactériens**

Les biofilms bactériens sont attachés aux surfaces grâce à une matrice polymérique extracellulaire composée notamment de protéines et de glucides.

Après culture de *B. bacteriovorus*, le surnageant a été récupéré et purifié pour obtenir deux fractions protéiques. L'activité protéasique de ces fractions a été testée. Les résultats sont présentés dans le **document 6**.

**Q13\*\*.** (C3) Valider la procédure opératoire réalisée à l'aide des deux témoins.

**Q14\*.** (C1) Analyser les résultats obtenus avec les fractions protéiques 1 et 2 pour conclure sur l'activité protéasique de chaque extrait.

**Q15\*\*.** (C3) Proposer une hypothèse quant à l'effet des fractions protéiques sur le biofilm.

Les vitesses initiales d'hydrolyse sont déterminées selon la procédure présentée dans le **document 7**.

**Q16.** (C2) Établir les équations aux unités et aux valeurs numériques afin de calculer la valeur de la vitesse initiale d'hydrolyse pour la fraction protéique 1.

**Q17\*.** (C1) Identifier la fraction protéique la plus adaptée pour lutter contre les biofilms bactériens, en expliquant la démarche suivie.

<b>Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)</b>
---

Divers essais chez l'animal et dans la filière agroalimentaire confirment l'intérêt des bactéries prédatrices comme bioagents antibactériens. Néanmoins, des études cliniques chez l'être humain restent nécessaires pour envisager leur utilisation thérapeutique.

D'autres stratégies non médicamenteuses pour remédier à la résistance aux antibiotiques sont utilisées, comme les bactériophages.

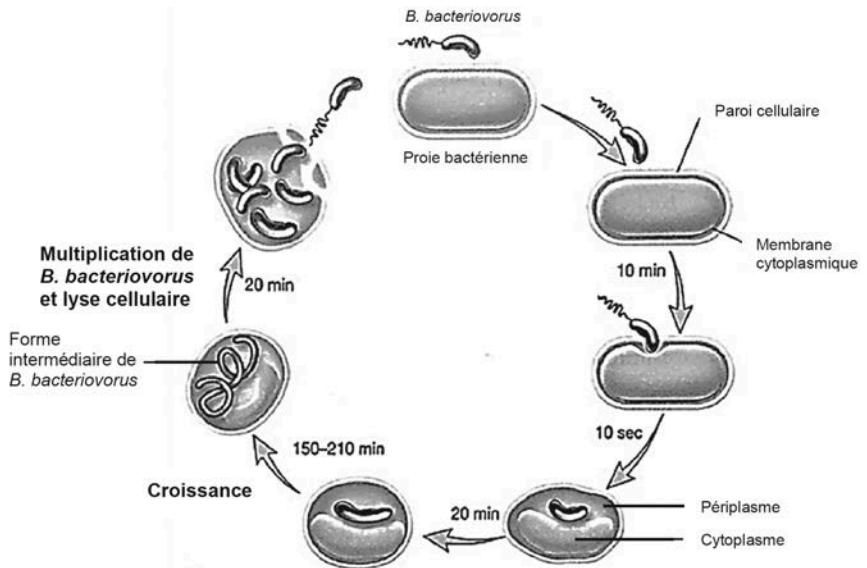
Le **document 8** présente des extraits d'articles concernant une stratégie thérapeutique utilisant des bactériophages contre des bactéries pathogènes et la mise sur le marché d'un traitement phagique.

**Q18.** (C5) Argumenter en faveur et en défaveur de l'utilisation des phages comme traitement thérapeutique antibactérien.



## **DOCUMENT 1 : Cycle biologique de prédation endobiotique de *Bdellovibrio bacteriovorus***

Adapté de Prescott, Willey, Sherwood, Woolverton : *Microbiologie*, 4ème édition.



## **DOCUMENT 2 : Courbe de croissance de *Staphylococcus aureus* en présence ou en absence de *B. bacteriovorus***

Adapté de Monnappa, A., et al. *Sci Rep* 4, 3811 (2014).

### **a - Procédure opératoire**

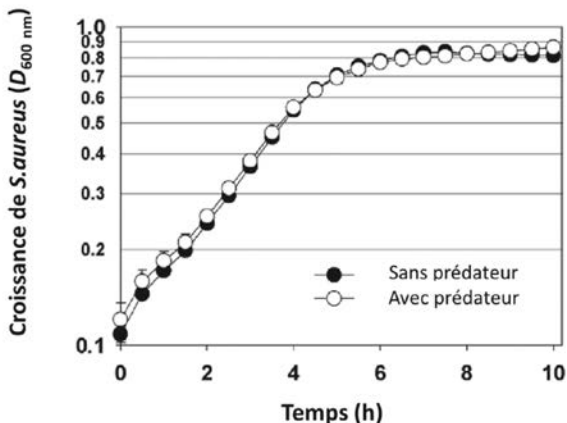
- **Croissance sans prédateur** : on introduit 0,5 mL d'une préculture de *S. aureus* dans 4,5 mL de milieu de culture.
- **Croissance avec prédateur** : on introduit 0,5 mL d'une préculture de *S. aureus* et 0,5 mL de la souche prédatrice *B. bacteriovorus* HD100 dans 4 mL de milieu de culture.

Les milieux ensemencés sont incubés 10 h à 30 °C sous agitation.

L'atténuation de chaque culture est mesurée au cours du temps par spectrophotométrie à 600 nm.

## b - Résultats

L'axe des ordonnées est en échelle logarithmique.



### DOCUMENT 3 : Étude de l'action prédatrice de *B.bacteriovorus*

Adapté de Monnappa, A., et al. *Sci Rep* 4, 3811 (2014).

#### a - Procédure opératoire de la mise en œuvre de la prédation par *B. bacteriovorus*

On introduit 0,5 mL d'une préculture de bactérie-cible dans 4 mL de milieu de culture. Le milieu ensemencé est incubé 4 h à 30 °C sous agitation.

Un volume de 0,5 mL de la souche prédatrice *B. bacteriovorus* HD100 est additionné à la culture qui est incubée 8 h supplémentaires.

L'atténuation de la culture est mesurée par un spectrophotomètre à 600 nm.

Un témoin de croissance sans prédateur est réalisé dans les mêmes conditions opératoires.

#### b - Résultats expérimentaux obtenus pour le contrôle de prédation sur *A. baumannii*

	Croissance sans prédateur	Croissance + prédateur <i>B. bacteriovorus</i>
D (600 nm)	0,700	0,124
CN ( <i>A. baumannii</i> ; milieu) (cellules·mL <sup>-1</sup> )	8,4·10 <sup>8</sup>	À déterminer

## Données :

Pour une suspension homogène d'*A. baumannii*, dont l'atténuation à 600 nm est comprise entre 0,050 et 0,800, on estime qu'une unité d'atténuation est égale à  $1,2 \cdot 10^9$  cellules·mL<sup>-1</sup>. On considère que la bactérie *B. bacteriovorus* a un effet de prédation dès lors que la concentration de bactéries est diminuée d'un facteur 2 à l'issue de la mise en œuvre de la procédure opératoire.

## c - Résultats expérimentaux obtenus pour le test de prédation sur cinq bactéries Gram négatif

Souches bactériennes Gram négatif	$C_N$ (bactéries ; milieu) (cellules·mL <sup>-1</sup> )	
	Croissance sans prédateur	Croissance + prédateur <i>B. bacteriovorus</i>
<i>Salmonella enterica</i>	$4,4 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^8$
<i>Yersinia bercovieri</i>	$4,7 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^8$
<i>Yersinia enterocolitica</i>	$4,6 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^8$
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	$6,9 \cdot 10^8$	$3,4 \cdot 10^8$
<i>Yersinia rohdei</i>	$5,2 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^8$

## **DOCUMENT 4 : Dosage des anticorps circulant anti-BALOs dans 25 sérums humains par technique ELISA**

*Adapté de Raghunathan, D., et al. Sci Rep 9, 4293 (2019)*

Le but de l'expérience est de déterminer si les BALOs sont immunogènes. Pour cela, le dosage des anticorps dirigés contre *B. bacteriovorus* éventuellement présents dans le sang est réalisé par méthode ELISA.

### a - Procédure opératoire

Sélectionner les antigènes à fixer à la surface de chacune des cupules.

Dans chacune des cupules :

1<sup>e</sup> étape : Fixation des antigènes sur la cupule

- Déposer 50  $\mu$ L de solution d'antigène dans la cupule et incuber 24 h.
- Laver les cupules 3 fois au PBS-Tween 0,1 %.

## 2<sup>e</sup> étape : Dosage des anticorps

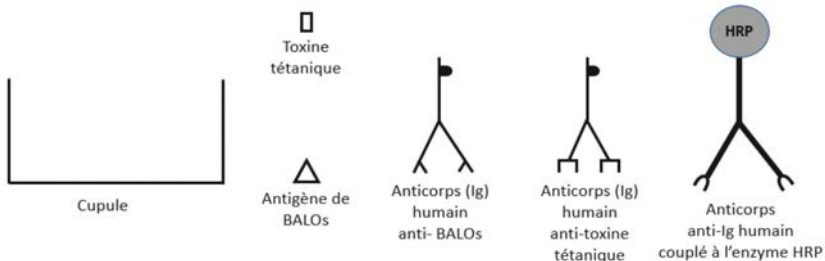
- Ajouter 50  $\mu\text{L}$  de sérum humain dilué au 1/100e en PBS-SAB 1 %.
- Incuber 1,5 h à température ambiante.
- Laver les cupules 3 fois au PBS-Tween 0,1 %.
- Ajouter l'anticorps dirigé contre les immunoglobulines (Ig) humaines, conjugué à l'enzyme HRP dilué au 1/30000<sup>e</sup>.
- Incuber pendant 1,5 h à température ambiante.
- Laver les cupules 3 fois au PBS-Tween 0,1 %.
- Ajouter le substrat de l'enzyme (TMB).
- Incuber 15 min à température ambiante.
- Ajouter une solution de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .
- Lire l'absorbance à 450 nm.

## b - Résultats

Antigènes utilisés	Lysat de BALOs	Toxine tétanique
Concentration en anticorps circulants dans 25 sérums humains ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	8	51

Seuil de positivité :  $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

## c - Symboles pouvant être utilisés pour schématiser les édifices moléculaires



## **DOCUMENT 5 : Effet des molécules sécrétées de *B. bacteriovorus* sur la dégradation d'un biofilm bactérien.**

*D'après Monnappa, A., et al. Sci Rep 4, 3811 (2014).*

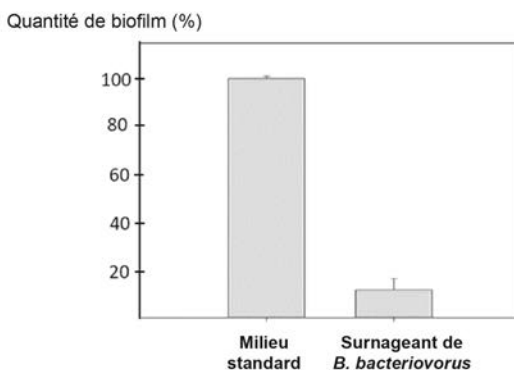
### **a - Procédure opératoire :**

Sur un biofilm de *Staphylococcus aureus* préformé, on fait agir pendant 24 h

- un milieu de culture standard ("Milieu standard") ;
- ou le surnageant d'une culture de *B. bacteriovorus* (« surnageant de *B. bacteriovorus* ») ne contenant pas de bactéries.

Le biofilm est ensuite coloré au cristal violet. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 560 nm, reflète la quantité de biofilm.

### **b - Résultats**



## **DOCUMENT 6 : Mise en évidence des propriétés protéiques des fractions protéiques**

*Adapté de Monnappa, A., et al. Sci Rep 4, 3811 (2014).*

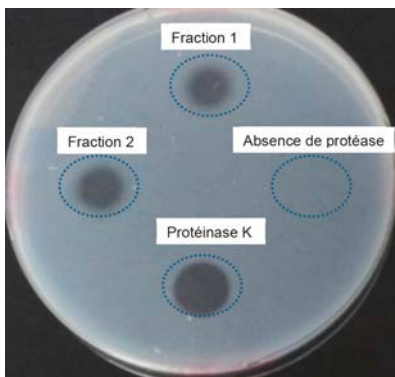
L'activité des protéases est visualisée sur une gélose composée de 1 % d'agar et 1 % de lait écrémé riche en protéines. La dégradation des protéines se traduit par une disparition locale du trouble au niveau de la zone de dépôt.

Quatre extraits différents sont déposés à la surface d'une gélose au lait :

- Fraction 1 purifiée.
- Fraction 2 purifiée.
- Protéinase K : enzyme de référence hydrolysant les protéines du lait.
- Extrait sans protéase.

La gélose est incubée 24 h à 37 °C.

Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous :

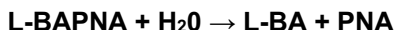


Source : adapté de concours général biotechnologie 2020

## **DOCUMENT 7 : Détermination des vitesses initiales enzymatiques par la méthode au L-BAPNA**

### **a - Principe**

L'activité enzymatique d'une protéase est mesurée par une méthode cinétique en utilisant un substrat chromogène le L-BAPNA (N-benzoyl-arginyl-L-para-nitroanilide). Ce substrat est hydrolysé par la protéase selon la réaction suivante :



Le PNA étant coloré en jaune, son apparition peut être suivie par spectrophotométrie à 405 nm.

### **b - Procédure opératoire**

Réactifs	Cuve essai
L-BAPNA à 1,25 mmol·L <sup>-1</sup>	1,5 mL
Tampon Tris	0,5 mL
Préincuber à 30 °C pendant 5 minutes	
Régler le zéro du spectrophotomètre thermostaté à 30 °C sur la cuve essai	
Déclencher la réaction par ajout de la solution de protéase	
Solution de protéase	0,05 mL
Lire les absorbances à 405 nm toutes les 30 secondes pendant 3 minutes	

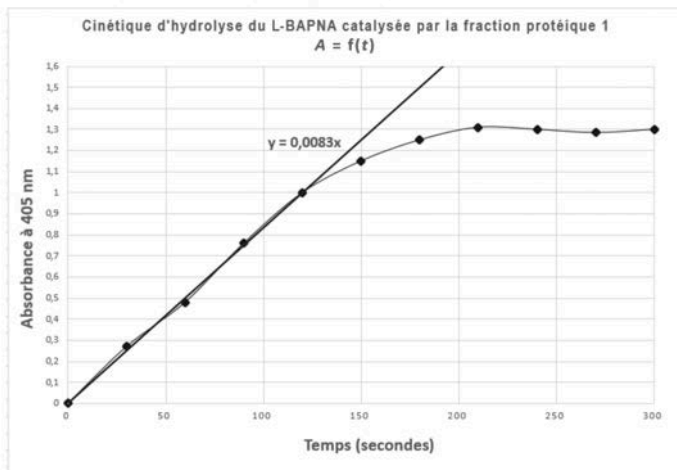
$$\text{Équation aux grandeurs} \quad v_i = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\epsilon_{\text{PNA à 405 nm}} \times l}$$

avec Longueur des cuves :  $l = 1 \text{ cm}$

Coefficient d'extinction molaire du PNA à 405 nm :  $\epsilon_{\text{PNA à 405 nm}} = 1100 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Coefficient directeur de la droite de régression en s<sup>-1</sup> :  $\frac{\Delta A}{\Delta t}$

## c - Résultats



La valeur de la vitesse initiale d'hydrolyse pour la fraction protéique 2 est de  $3,24 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ .

### **DOCUMENT 8 : Extraits d'articles concernant les thérapies antibactériennes**

#### **La phagothérapie : médecine d'hier et de demain**

*Extrait de la note du Sénat n° 24 du mois de mars 2021, Mme Catherine Procaccia.*

Les bactériophages, ou "phages", sont les virus naturels des bactéries : ils sont capables de les infecter et de s'y multiplier jusqu'à les tuer, rendant envisageable leur utilisation pour le traitement d'infections bactériennes. Connus notamment en France depuis un siècle, les phages ont rencontré un bref succès avant d'être supplantés par les antibiotiques, plus faciles d'emploi, moins coûteux et capables de cibler un large éventail de bactéries, alors que les phages sont très spécifiques de leur bactérie-cible. [...] La phagothérapie présente théoriquement de nombreux avantages :

- un traitement rapide puisqu'une seule dose peut suffire à détruire une colonie de bactéries ;
- l'absence d'effets secondaires, dans la mesure où la destruction des bactéries-cibles fait aussi disparaître les phages, une fois l'infection bactérienne traitée ;
- une thérapie très ciblée, les phages ne s'attaquant qu'aux bactéries-cibles et ne modifiant pas l'ensemble du microbiome du patient.

## Les bactéries résistantes aux antibiotiques

*Extrait de la note d'analyse n°299 de Novembre 2012, www.strategie.gouv.fr*

Face à l'augmentation des infections à bactéries multirésistantes, l'intérêt pour les phages se renouvelle ces dernières années. De plus en plus d'études sont menées chez l'animal (en préclinique) et démontrent généralement l'efficacité et l'innocuité de la phagothérapie. Forts de ces résultats, des essais cliniques se développent chez l'humain, visant à évaluer cette thérapie avec la rigueur des procédures sanitaires actuelles. Trois essais cliniques contrôlés chez l'humain ont été menés jusqu'à présent [...]. Dans les trois cas, les traitements se sont révélés efficaces et sans danger, encourageant la poursuite des essais cliniques.

Le développement de ces essais se heurte cependant à des obstacles majeurs : la difficulté de financement en l'absence d'investissement des grands industriels pharmaceutiques et un cadre réglementaire peu clair et inadapté à la phagothérapie. En effet, la législation européenne actuelle inclut les phages dans les médicaments, impliquant de suivre les procédures d'autorisation de mise sur le marché (AMM), longues et coûteuses. Les procédures d'AMM actuelles ne sont adaptées ni au développement "industriel" de cocktails de phages préparés à l'avance, ni à une approche "sur-mesure" à petite échelle, qui consiste à isoler et préparer (en quelques semaines) un phage spécifique de la bactérie du patient. En effet, les procédures d'AMM qui sont conçues pour des médicaments [...] ne permettent pas la mise à jour régulière des cocktails de phages que l'on doit adapter en fonction des bactéries [...].

### Comment se décide une autorisation de mise sur le marché (AMM) ?

*Communication du LEEM (les entreprises du médicament) du 24/11/2017*

L'AMM est la garantie que le médicament possède un profil de qualité, de sécurité et d'efficacité satisfaisant et qu'il peut être mis à disposition dans des conditions d'utilisations précises.

Le dossier d'AMM comporte plusieurs parties [...] :

- La partie Qualité renseigne tous les aspects liés à la fabrication industrielle du médicament : principalement la production des matières premières, du produit fini et les procédures de contrôle mises en place pour garantir une parfaite reproductibilité du procédé de fabrication.
- La partie Sécurité compile les études conduites lors du développement préclinique, c'est à dire les données de comportement *in vivo* dans l'organisme non humain du médicament : pharmacologie, toxicologie et pharmacocinétique principalement.
- La partie Efficacité correspond à l'ensemble des résultats des études cliniques, menées sur l'être humain, personne saine et ou malade, qui permettent de définir les conditions exactes de l'utilisation du médicament et d'établir le rapport bénéfice / risque.



## BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 2 – NOUVELLE CALEDONIE - OCT 2022

*Durée : 3 heures – Coefficient 7*

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé*

En raison de la crise sanitaire, des aménagements ont été exceptionnellement proposés pour cette session 2022. L'évaluation portait sur les six compétences indiquées dans la définition d'épreuve.

Les questions du sujet mobilisaient ces compétences et permettaient de les évaluer. Pour certaines compétences repérées par des astérisques, un choix de questions à traiter était proposé au candidat.

### **Compétence \*C1 :**

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par un astérisque Q1\*, Q2\*, Q3\* et Q4\*.

### **Compétence C2 :**

La question Q9 est obligatoire.

### **Compétence \*\*C3 :**

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par deux astérisques Q5\*\*, Q7\*\*, Q13\*\* et Q15\*\*.

### **Compétence \*\*\*C4 :**

Le candidat choisit quatre questions parmi les cinq questions identifiées par trois astérisques Q6\*\*\*, Q8\*\*\*, Q10\*\*\*, Q12\*\*\* et Q14\*\*\*.

### **Compétence C5 :**

Les questions Q11 et Q16 sont obligatoires.

Les astérisques identifient les compétences pour lesquelles un choix est proposé au candidat dans le tableau ci-dessous et chaque question concernée dans le sujet.

<b>COMPÉTENCES ÉVALUÉES</b>					
<b>*C1</b>	<b>C2</b>	<b>**C3</b>	<b>***C4</b>	<b>C5</b>	<b>C6</b>
Analyser un document scientifique ou technologique	Effectuer des calculs nécessaires pour exploiter les documents	Interpréter des données de biochimie, de biologie ou de biotechnologie	Argumenter pour étayer un raisonnement scientifique	Rédiger ou élaborer une synthèse en mobilisant les concepts scientifiques et technologiques	Communiquer à l'écrit à l'aide d'une syntaxe claire et d'un vocabulaire scientifique ou technologique adapté
<b>3 points</b>	<b>1 points</b>	<b>5 points</b>	<b>5 points</b>	<b>5 points</b>	<b>1 point</b>

# UTILISATION DE LA TOXINE DE *BACILLUS THURINGIENSIS* DANS L'AGRICULTURE

Les insecticides chimiques d'origine synthétique, destinés à lutter contre les insectes ravageurs des plantes cultivées, peuvent présenter une toxicité vis-à-vis d'êtres vivants non nuisibles comme les abeilles. Une alternative possible est l'utilisation d'un insecticide biologique d'origine naturelle à spectre d'action étroit : la toxine Bt, produite par la bactérie *Bacillus thuringiensis*.

Il existe deux stratégies utilisant la toxine Bt pour lutter contre des insectes ravageurs comme la pyrale du maïs :

- la première est exploitable en agriculture biologique. Elle s'appuie sur la pulvérisation sur les cultures ou dans la terre d'un produit phytosanitaire biologique contenant des bactéries *Bacillus thuringiensis* productrices de toxine Bt ;
- la seconde est possible en agriculture conventionnelle, non labellisée « agriculture biologique », dans de nombreux pays. Elle consiste en la culture de plants végétaux transgéniques exprimant la toxine Bt.

## Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)

Différents procédés technologiques sont mobilisés pour développer l'une ou l'autre des stratégies d'utilisation de la toxine Bt à des fins de production de pesticide d'origine biologique :

- sélectionner et cultiver à grande échelle des bactéries *Bacillus thuringiensis* productrices de toxine Bt ;
- produire des plantes exprimant la toxine Bt.

### 1- SÉLECTION ET PRODUCTION DE *BACILLUS THURINGIENSIS* À GRANDE ÉCHELLE

*Bacillus thuringiensis* est un bacille sporogène à Gram positif qui produit la toxine Bt principalement lors de la phase de sporulation. En raison de la structure de sa paroi, la spore ne fixe pas les colorants de la coloration Gram.

La production de *Bacillus thuringiensis* à grande échelle en bioréacteur en vue de sa commercialisation nécessite d'isoler préalablement une souche productrice à partir d'échantillon de terre. Le **document 1** présente le cycle de vie des bactéries sporogènes.

**Q1\***. **C1** Analyser le **document 1** pour identifier sur la copie les étapes 1 et 2 du cycle de vie des bactéries sporogènes.

Le **document 2** présente la procédure opératoire utilisée pour isoler *Bacillus thuringiensis* d'un échantillon de terre et les résultats obtenus après culture.

**Q2\***. **C1** Montrer que l'étape de chauffage de la suspension de terre à 80 °C pendant 15 min permet de sélectionner les formes sporulées des bactéries.

**Q3\***. **C1** Analyser les observations macroscopiques obtenues après 24 h d'incubation à 37 °C dans le milieu A pour étudier la pureté de l'échantillon de terre.

**Q4\***. **C1** Comparer les résultats obtenus dans les milieux A et B pour déduire le rôle de la L-sérine dans ce contexte.

Une souche de *Bacillus thuringiensis* isolée sur le milieu B est cultivée en bioréacteur. Le **document 3** présente l'allure de la courbe de croissance obtenue.

Deux prélèvements numérotés 1 et 2 sont effectués pour observation microscopique. Les résultats sont présentés dans le **document 4**.

**Q5\*\***. **C3** Identifier le prélèvement contenant la forme sporulée de *Bacillus thuringiensis* et proposer une hypothèse expliquant l'apparition des spores en lien avec la phase de croissance correspondante.

**Q6\*\*\***. **C4** Argumenter le choix de la phase de croissance au cours de laquelle la toxine Bt peut être récupérée.

## **2- MISE EN ÉVIDENCE DE LA PRODUCTION DE LA TOXINE Bt PAR LA MÉTHODE ELISA**

La toxine Bt est extraite des bactéries obtenues dans les prélèvements 1 et 2. Le dosage de la toxine Bt se fait par une réaction antigène-anticorps selon la méthode ELISA. Le protocole de cette méthode est décrit dans le **document 5**.

**Q7\*\***. **C3** Réaliser un schéma de l'édifice moléculaire obtenu en présence de toxine Bt après ajout du substrat et incubation, en utilisant les symboles du **document 5**.

**Q8\*\*\*. C4** Expliquer le rôle de l'ajout d'une solution d'acide sulfurique.

Les résultats expérimentaux du test ELISA sont présentés dans le **document 6**.

**Q9. C2** Déterminer l'équation aux valeurs numériques permettant de calculer les concentrations exprimées en  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  de toxine Bt dans les prélèvements 1 et 2, et effectuer le calcul.

**Q10\*\*\*. C4** Montrer que les résultats obtenus confirment que la production de toxine Bt se fait en même temps que la sporulation de *Bacillus thuringiensis*.

**Q11. C5** Présenter, sous forme d'un organigramme, les principales étapes de production de la toxine Bt à partir d'un échantillon de terre.

### **3- UNE ALTERNATIVE À LA CULTURE DU *BACILLUS THURINGIENSIS* : DES PLANTES PRODUCTRICES DE LA TOXINE Bt INSECTICIDE**

L'efficacité du traitement phytosanitaire après pulvérisation dans les champs dépend des conditions environnementales. En effet, la pluie et les rayonnements ultra-violets neutralisent les effets du traitement. Plusieurs pulvérisations sont donc nécessaires sur chacune des cultures.

Pour pallier ce problème, d'autres entreprises agroalimentaires utilisent une stratégie faisant appel au génie génétique. Cette stratégie consiste en l'intégration du gène *Bt* dans le génome de certaines plantes, notamment du maïs, qui deviennent alors capables de produire la toxine Bt. Le gène *Bt* est porté sur un plasmide qu'on retrouve de façon naturelle dans la bactérie *Bacillus thuringiensis*.

Le **document 7** présente les différentes étapes de la production du maïs génétiquement modifié.

**Q12\*\*\*. C4** Argumenter le choix de l'enzyme de restriction EcoRI lors des étapes 2 et 3 dans le but d'obtenir le vecteur recombiné.

**Q13\*\*. C3** Schématiser et légender le vecteur recombiné sur la copie.

**Q14\*\*\*. C4** Expliquer le rôle de l'ampicilline et de l'herbicide dans les milieux de culture.

L'analyse génétique de plusieurs colonies bactériennes obtenues à l'étape 6 révèle que certaines contiennent le vecteur de clonage « vide », c'est-à-dire sans le gène *Bt*.

**Q15\*\*. C3** Formuler une hypothèse expliquant la possibilité de produire un vecteur de clonage « vide ».

## Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)

Le Conseil Scientifique du Patrimoine Naturel et de la Biodiversité (CSPNB) a expérimenté la pulvérisation directe de *Bacillus thuringiensis israelensis* entre 2007 et 2011 pour lutter contre les moustiques dans le Parc régional de Camargue.

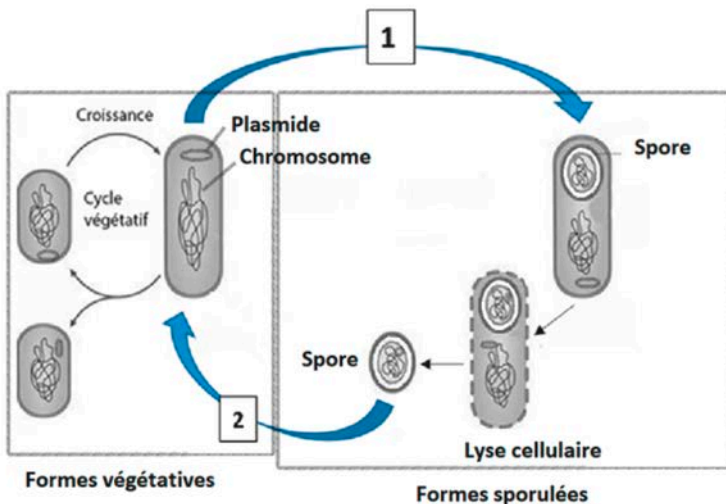
Le **document 8** présente le mode d'action direct du biopesticide *Bacillus thuringiensis israelensis* ainsi que les conclusions des études menées par le CSPNB.

L'avis du 23 novembre 2012 du CSPNB préconise de stopper l'utilisation du biopesticide.

**Q16. C5** Développer un argumentaire expliquant à la fois la pertinence de l'expérimentation menée et l'avis négatif rendu par le CSPNB.

### **DOCUMENT 1 : Cycle de vie des bactéries sporogènes**

La sporulation des bactéries se produit lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, par exemple lorsque les éléments nutritifs sont épuisés. Inversement, la germination des spores est spontanée lorsque les conditions environnementales deviennent favorables.



## **DOCUMENT 2 : Procédure pour isoler *Bacillus thuringiensis* à partir d'un échantillon de terre**

Source : d'après Andrzejczak et coll., *Polish Journal of Microbiology*, 2008, Vol 57, N° 4, P 333-335

### **a - Procédure opératoire**

- peser 1,0 g de terre séchée ;
- introduire la terre dans 9,0 mL d'eau physiologique stérile ;
- homogénéiser ;
- chauffer la suspension à 80 °C pendant 15 min ;
- étaler 0,10 mL de cette suspension à la surface de 2 milieux différents, A et B.

Les milieux sont incubés 24 h à 37 °C.

*Remarque* : Les formes végétatives de *Bacillus thuringiensis* sont détruites au-delà d'une température supérieure à 60 °C. En revanche, les formes sporulées et certaines autres bactéries du sol résistent à des températures supérieures à 80 °C.

### **b- Composition des milieux A et B**

<b>Milieu A</b>		<b>Milieu B</b>	
<b>Composition pour 1 L</b>		<b>Composition pour 1 L</b>	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	6 g	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	6 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3 g
NaCl	0,5 g	NaCl	0,5 g
NH <sub>4</sub> Cl	0,5 g	NH <sub>4</sub> Cl	0,5 g
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	24 mg	MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	24 mg
CaCl <sub>2</sub>	0,1 mg	CaCl <sub>2</sub>	0,1 mg
Glucose	10 g	Glucose	10 g
		L-sérine	0,2 mmol
Agar	15 g	Agar	15 g

### c - Observations macroscopiques obtenues après 24 h d'incubation à 37 °C

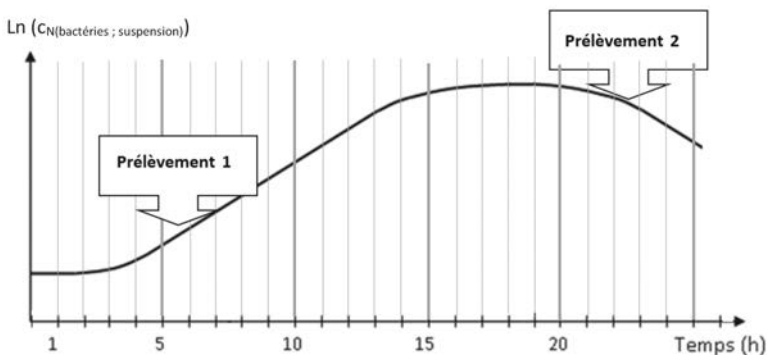
Milieu A : présence de plusieurs types différents de colonies présentant les caractéristiques suivantes :

- 4 mm, plate, crémeuse, surface rugueuse, bords irréguliers, caractéristique de *Bacillus thuringiensis* ;
- 5 mm, de type R, terne, sèche à bords irréguliers.

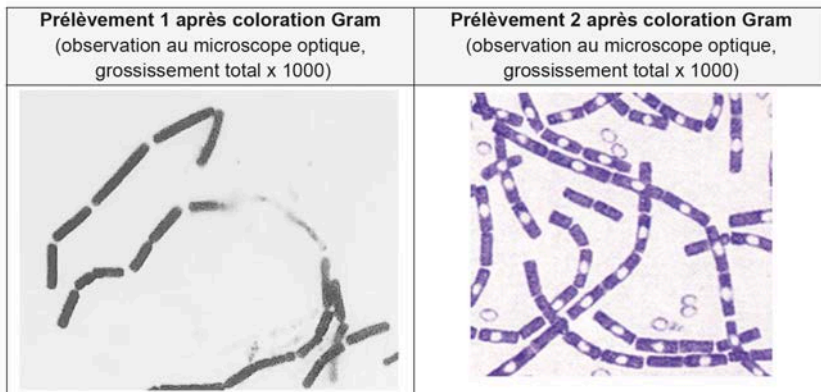
Milieu B : un seul type de colonies aux caractéristiques suivantes :

- 4 mm, plate, crémeuse, surface rugueuse, bords irréguliers, caractéristique de *Bacillus thuringiensis*.

### DOCUMENT 3 : Allure de la courbe de croissance de *Bacillus thuringiensis* cultivé en bioréacteur



### DOCUMENT 4 : Observations microscopiques des prélèvements 1 et 2




## DOCUMENT 5 : Procédure de la méthode ELISA pour doser la toxine Bt

La technique immuno-enzymatique ELISA permet de doser des molécules présentes au sein d'échantillons biologiques complexes. Les prélèvements de culture seront préalablement centrifugés, la détection de la toxine Bt se fera dans le surnageant de centrifugation.

### a - Réactifs utilisés



Cupule sensibilisée avec un anticorps anti-toxine Bt

 Anticorps anti-toxine Bt conjugué à la peroxydase

 Toxine Bt

 Substrat de la peroxydase incolore

 Produit coloré

### b - Procédure opératoire

<b>Échantillons</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- solution de toxine Bt (étalon de travail)</li><li>- surnageant du prélèvement 1 dilué au 1/100</li><li>- surnageant du prélèvement 2 dilué au 1/100</li></ul>
<b>Protocole</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- introduire 100 <math>\mu\text{L}</math> d'échantillon ;</li><li>- incuber 1 heure à 37 °C ;</li><li>- vider les puits ;</li><li>- laver les puits avec du <b>tampon de lavage</b> ;</li><li>- introduire 100 <math>\mu\text{L}</math> d'une <b>solution d'anticorps conjugué à la peroxydase</b> dans chaque puits ;</li><li>- incuber 30 minutes à 37 °C ;</li><li>- vider les puits ;</li><li>- laver les puits avec du <b>tampon de lavage</b> ;</li><li>- introduire 100 <math>\mu\text{L}</math> d'une <b>solution de substrat de la peroxydase</b> dans chaque puits ;</li><li>- incuber 30 minutes exactement à température ambiante à l'obscurité ;</li><li>- ajouter une <b>solution d'acide sulfurique à 1 mol·L<sup>-1</sup></b> (solution d'arrêt) dans chaque puits ;</li></ul>
<b>Lecture</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- mesurer l'absorbance à 450 nm contre un blanc réactif réalisé avec le milieu de culture.</li></ul>



## DOCUMENT 6 : Résultats expérimentaux du test ELISA

	Blanc réactif	Étalon	Surnageant du prélèvement 1 dilué au 1/10	Surnageant du prélèvement 2 dilué au 1/100
Absorbance à 450 nm	0,000	0,510	0,001	0,420

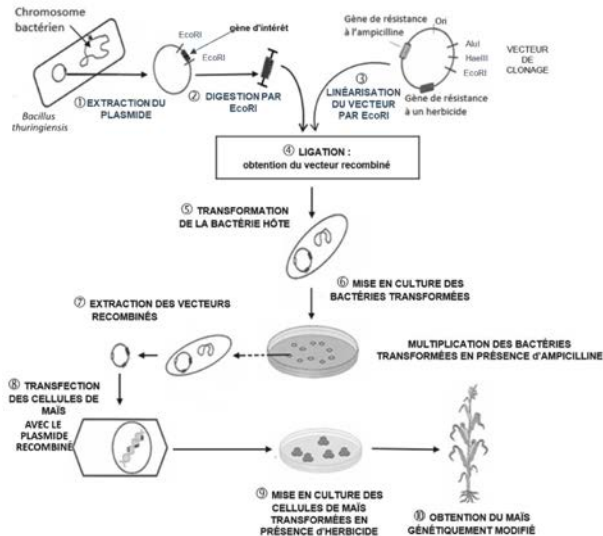
### Données :

- $C(\text{toxine Bt ; étalon de travail}) = 2,50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- La méthode est linéaire pour les valeurs d'absorbance  $A_{450\text{nm}}$  comprises entre 0,000 et 1,200. Pour cette intervalle, l'absorbance mesurée à 450 nm est proportionnelle à la concentration en toxine Bt.
- Équation aux grandeurs pour déterminer la concentration en quantité de matière de la toxine Bt dans les prélèvements :

$$C(\text{toxine Bt ; prélèvement}) = \frac{A_{450 \text{ nm ; prélèvement}}}{A_{450 \text{ nm ; étalon}}} \times C(\text{toxine Bt ; étalon de travail}) \times \text{Fd}$$

Avec Fd : facteur de dilution

## DOCUMENT 7 : Schéma d'une démarche de production de maïs transgénique résistant aux larves d'insectes



## **DOCUMENT 8 : Expérimentation de l'épandage direct de *Bacillus thuringiensis israelensis***

### **Mode d'action de *Bacillus thuringiensis israelensis***

Source du document : Baute, T. (ed), 2004.

Guide du producteur : La lutte contre les ravageurs du maïs avec la technologie du maïs Bt.  
Deuxième édition.

La coalition canadienne contre les ravageurs du maïs. Ridgeway, ON, 24 pp.

Au cours de la sporulation, la bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* produit des protoxines Bt sous forme de cristaux protéiques. Une fois ingérées par une larve d'insecte, les protoxines Bt sont hydrolysées par les protéases digestives, libérant les toxines Bt actives aux propriétés insecticides. L'activation des toxines s'effectue grâce au pH alcalin du système digestif des larves d'insectes. Les protéines Bt se lient alors à des récepteurs spécifiques sur les cellules de l'épithélium intestinal des larves. Ainsi, en quelques heures, la larve cesse de s'alimenter et la paroi de son estomac se perforé entraînant sa mort en 48 heures. Chez l'Homme, la protoxine Bt est inactivée par le pH acide de l'estomac.

### **Avis du Conseil Scientifique du Patrimoine Naturel et de la Biodiversité sur l'emploi du *Bacillus thuringiensis israelensis* dans la lutte « de confort » contre les moustiques dans le Parc naturel régional de Camargue (Extraits du rapport).**

Source du document : DREAL Provence-Alpes Côte d'Azur, [paca.developpement-durable.gouv.fr](http://paca.developpement-durable.gouv.fr)

### **Contexte**

Au 1<sup>er</sup> septembre 2006, le Conseil général des Bouches-du-Rhône a commandité une campagne de démoustication expérimentale dans le Parc naturel régional de Camargue. Cette campagne a eu recours à la pulvérisation directe de la bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* pour tuer les larves d'insectes piqueurs comme les moustiques.

### **Études sur la biologie et l'écologie des espèces de la chaîne alimentaire**

Des études scientifiques ont été menées entre 2007 et 2011 pour suivre diverses populations animales de la chaîne alimentaire en zone traitée et non traitée.

Ces études montrent que la bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* tue les larves de moustiques, mais aussi celles d'autres espèces qui sont consommées par une grande diversité d'espèces aquatiques et terrestres. Les espèces prédatrices telles que les libellules, les araignées et les oiseaux sont négativement affectées par l'emploi du biopesticide, notamment en raison du manque ou d'une modification de nourriture.

## **L'importance scientifique de conserver une Camargue exempte de traitements**

Les connaissances actuelles en matière de biodiversité permettent d'avancer que la Camargue peut être :

- Une barrière naturelle face à l'établissement de moustiques potentiellement transmetteurs de maladies émergentes.
- Une réserve de moustiques non résistants aux méthodes de lutte biologique et chimique Il est nécessaire de conserver des populations naturelles de moustiques non résistants aux traitements chimiques et biologiques afin d'éviter une évolution rapide des résistances au sein des populations. Jusqu'en 2006, ce refuge non démoustiqué était représenté par la Camargue. L'utilisation du *Bacillus thuringiensis israelensis*, auquel les moustiques peuvent parfaitement s'adapter et développer des résistances a commencé à « détruire » ce refuge vital.

## BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 3 – Métropole-Antilles-Guyane - MAI 2023

Durée : 3 heures – Coefficient 7

L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé

L'évaluation s'effectue par compétences. Les compétences sont indiquées entre parenthèses au niveau de chaque question et mobilisent des concepts et savoir-faire indiqués dans les programmes.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
C1	C2	C3	C4	C5	C6
Analyser un document	Effectuer les calculs	Interpréter des données	Argumenter un choix technique	Élaborer une synthèse	Communiquer à l'écrit
4 points	2 points	5 points	3 points	5 points	1 point

### VALORISATION DE DÉCHETS AGRICOLES PAR UN MICROORGANISME GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉ

La L-valine est un acide aminé essentiel utilisé dans le secteur pharmaceutique et le secteur cosmétique. Depuis quelques années, son utilisation s'étend surtout en tant qu'additif alimentaire pour les animaux car cet acide aminé est indispensable pour une croissance musculaire optimale dans l'objectif de produire de la viande.

La L-valine est principalement obtenue après extraction de protéines de soja. Cependant, la production du soja ayant un impact environnemental négatif, de nombreuses entreprises cherchent une alternative pour l'obtenir en grande quantité par d'autres moyens.

Les biotechnologies ont permis de réaliser une production à l'échelle industrielle de la L-valine par fermentation à l'aide d'une souche bactérienne, *Corynebacterium glutamicum*, transformée par génie génétique.

Cette bactérie est capable de dégrader des déchets agricoles et peut donc également être utile dans une stratégie de dépollution.

## Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)

Ce sujet repose sur l'étude de la mise au point d'un procédé bio-industriel de production de la L-valine par une souche de *Corynebacterium glutamicum* génétiquement modifiée notée « *C. glutamicum* GM ».

La démarche suivie se décompose en trois parties :

- 1- Étude de la production de la souche de *C. glutamicum* GM.
- 2- Suivi de croissance de *C. glutamicum* GM.
- 3- Valorisation des déchets végétaux par synthèse de L-valine.

### 1. CONSTRUCTION ET SÉLECTION DE *C. glutamicum* GM

*C. glutamicum* est capable de synthétiser par fermentation naturelle deux acides aminés à partir du pyruvate : la L-valine et la L-isoleucine. Ce procédé permet bien la production de L-valine mais en quantité limitée en raison de la production simultanée de L-isoleucine à partir du même substrat.

Afin d'augmenter la production de L-valine, la souche est modifiée génétiquement par un plasmide recombiné permettant de synthétiser la L-valine en grande quantité. Le plasmide est présenté dans le **document 1**.

#### 1.1. Construction du plasmide recombiné

Les scientifiques ont utilisé le plasmide pECKA afin d'obtenir le vecteur recombiné pECKB qui possède les trois gènes *ilvC*, *ilvN* et *ilvB* codant les enzymes impliquées dans la synthèse de la L-valine à partir du pyruvate.

**Q1.** [C1] Comparer les plasmides pECKA et pECKB pour distinguer :

- les gènes communs aux deux plasmides ;
- les gènes insérés qui ensemble constituent l'insert.

**Q2.** [C2] Calculer la taille de l'insert.

Le **document 2** présente les étapes du clonage de *C. glutamicum*.

**Q3.** [C1] Identifier les enzymes 1 et 2 et expliquer leur rôle.

**Q4.** [C3] Expliquer pourquoi le gène *lacZ* n'est plus fonctionnel dans le plasmide pECKB.

## 1.2. Sélection des clones transformés recombinés

Les bactéries obtenues après l'étape de transformation sont cultivées sur un milieu gélosé adapté à la croissance de *C. glutamicum* et additionné de kanamycine et de X-gal.

Le **document 2** présente la transformation des bactéries.

**Q5.** [C3] Montrer que les bactéries non transformées ne cultivent pas sur ce milieu.

X-gal est un substrat de la  $\beta$ -galactosidase dont la réaction est présentée dans le **document 3**.

**Q6.** [C3] Expliquer pourquoi les bactéries ayant un gène *lacZ* fonctionnel donnent des colonies bleues.

**Q7.** [C4] En déduire la couleur des colonies de *C. glutamicum* GM à sélectionner pour produire la L-valine en grande quantité.

## 2. SUIVI DE CROISSANCE DE *C. glutamicum*

Dans l'objectif d'évaluer la possibilité d'utiliser la souche génétiquement modifiée à des fins de production, un suivi de la croissance des souches de *C. glutamicum* et de *C. glutamicum* GM est effectué par mesure de l'atténuation  $D$  selon une méthode turbidimétrique.

En parallèle, le dosage de la L-valine est réalisé pour permettre de déterminer la vitesse de production de l'acide aminé par les deux souches.

### 2.1. Contrôle des paramètres de croissance de *C. glutamicum*

Le **document 4** présente l'étude de la croissance en milieu non renouvelé, dans les mêmes conditions, pour *C. glutamicum* et *C. glutamicum* GM.

**Q8.** [C4] Présenter la démarche à suivre pour déterminer  $\mu_{expo}$  à partir de la courbe pour la souche de *C. glutamicum* GM.

**Q9.** [C2] Calculer la vitesse spécifique de croissance  $\mu_{expo}$  (en  $h^{-1}$ ) puis le temps de génération  $G$  de la souche de *C. glutamicum* GM pendant la phase exponentielle de croissance.

Le temps de génération de la souche *C. glutamicum* non modifiée est égal à  $1,55 \text{ h} \pm 0,05 \text{ h}$ .

**Q10.** [C3] En déduire si la modification génétique de la souche influe sur sa croissance.

## 2.2. Suivi de la production de L-valine

Le **document 4** présente également les cinétiques de production de L-valine dosée dans le milieu de culture lors de la culture de *C. glutamicum* et *C. glutamicum* GM en milieu non renouvelé.

**Q11.** **C1** Identifier la phase de croissance au cours de laquelle cet acide aminé est produit pour les deux souches.

**Q12.** **C4** Argumenter à l'aide de valeurs expérimentales sur l'intérêt de la modification génétique de la souche de *C. glutamicum* pour les industriels produisant la L-valine.

## 3. SYNTHÈSE DE L-VALINE ET VALORISATION DES DÉCHETS VÉGÉTAUX

La production industrielle de L-valine à l'aide d'autres souches bactériennes nécessite actuellement de les cultiver dans des milieux contenant de fortes quantités de glucose, substrat coûteux à grande échelle et dont l'utilisation à des fins industrielles entre en compétition avec les besoins nutritionnels de la population.

Les déchets végétaux contiennent de grandes quantités de xylose, or la souche de *C. glutamicum* utilise du xylose en tant que nutriment pour produire de l'énergie.

Le **document 5** montre une représentation simplifiée du métabolisme mis en place par les souches de *C. glutamicum*.

**Q13.** **C1** À l'aide du document, établir le bilan de matière de la dégradation d'une mole de glucose en pyruvate pour la voie B puis, par la même méthode, établir le bilan de matière de la dégradation d'une mole de xylose en pyruvate pour la voie A.

**Q14.** **C2** Déterminer alors le nombre de moles d'ATP produit à partir d'une mole de xylose en sachant qu'une mole de NADH, H<sup>+</sup>, fournit 3 moles d'ATP.

**Q15.** **C3** Montrer que *C. glutamicum* GM présente un intérêt dans la valorisation des déchets végétaux.

## 4. BILAN

**Q16.** **C5** Comparer sous la forme d'un tableau l'ensemble des caractéristiques biochimiques et métaboliques des souches de *C. glutamicum* non modifiée et *C. glutamicum* GM, évoquées dans les 3 parties précédentes.

**Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)**

L'utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM) soulève des questions de société en raison notamment des risques qu'ils présentent pour l'environnement. L'utilisation des bactéries génétiquement modifiées dans les bio-productions industrielles et celle des plantes génétiquement modifiées sont étroitement contrôlées.

Le **document 6** présente des extraits de rapports officiels mentionnant les risques environnementaux liés à l'utilisation des OGM, et les règlements à suivre pour l'utilisation de microorganismes GM.

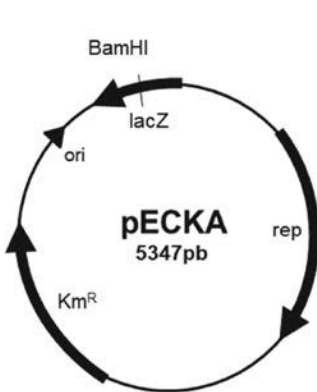
**Q17.** C5 Rédiger un texte présentant une démarche d'analyse des risques appliquée aux plantes génétiquement modifiées.

**DOCUMENT 1 : Cartes simplifiées des plasmides utilisés dans le clonage de *C. glutamicum***

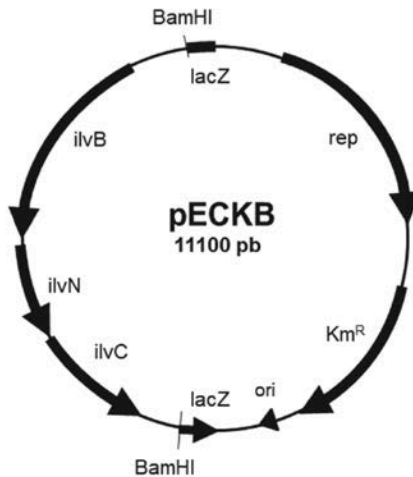
Contrairement aux virus, les bactéries disposent d'une activité métabolique propre et peuvent ainsi produire l'énergie dont elles ont besoin.

Les bactéries produisent leur énergie sous forme d'ATP à partir du glucose selon deux voies métaboliques principales, la fermentation et la respiration.

**A - Plasmide pECKA**



**B- Plasmide recombiné pECKB**





## Légende :

**ori** : origine de réplication du plasmide

**Km<sup>R</sup>** : gène de résistance à la kanamycine (antibiotique)

**ilvC, ilvN, ilvB** : gènes codant les enzymes impliquées dans la synthèse de la L-valine

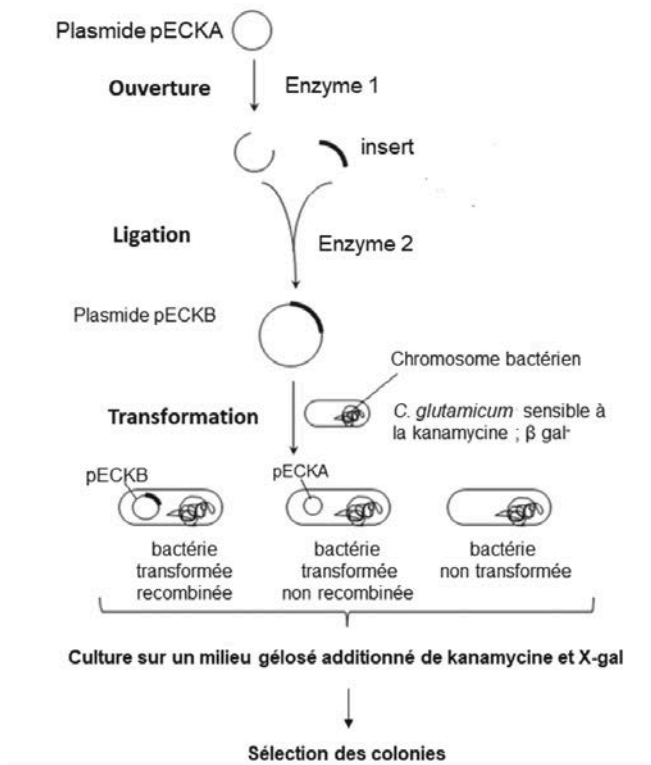
**BamHI** : site de restriction enzymatique

**lacZ** : gène de sélection codant la  $\beta$ -galactosidase

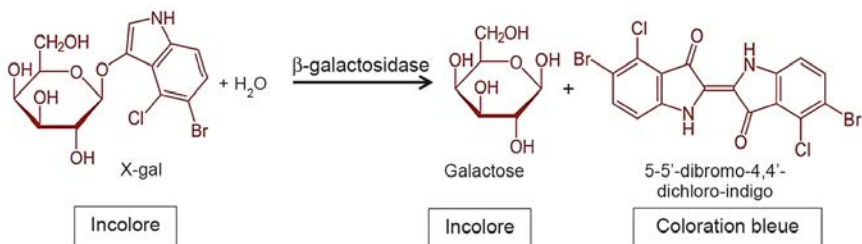
**rep** : gène codant la protéine initiatrice de la réplication du plasmide

Source du document : extrait modifié du brevet US 7,585,959 B2 (8 septembre 2009)

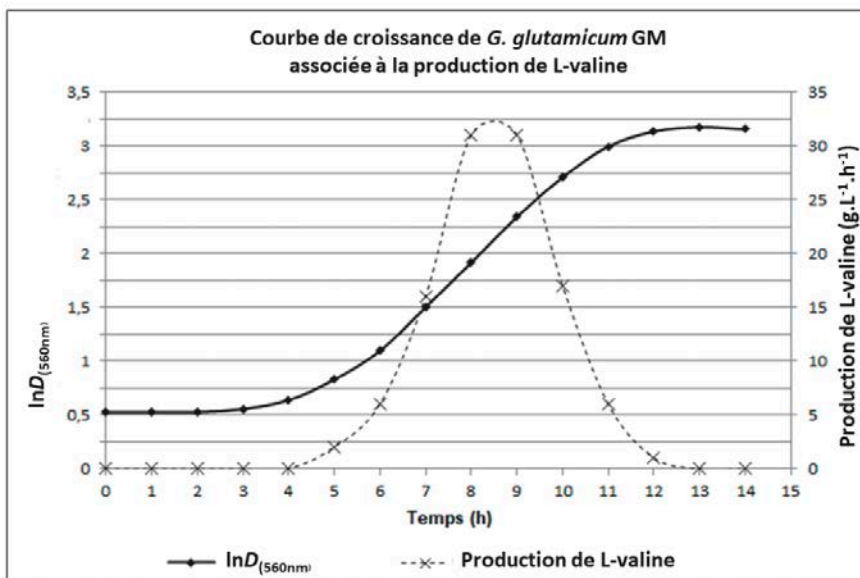
## DOCUMENT 2 : Étapes du clonage de *C. glutamicum*

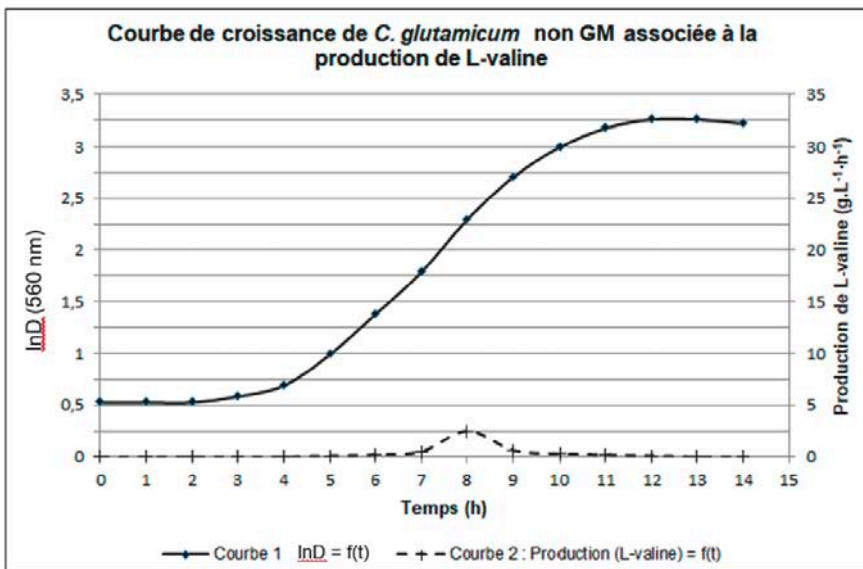


### DOCUMENT 3 : Réaction d'hydrolyse du X-gal par la $\beta$ -galactosidase



### DOCUMENT 4 : Courbes de croissance de *C. glutamicum* et de *C. glutamicum* génétiquement modifiée, associées aux cinétiques de production de L-valine





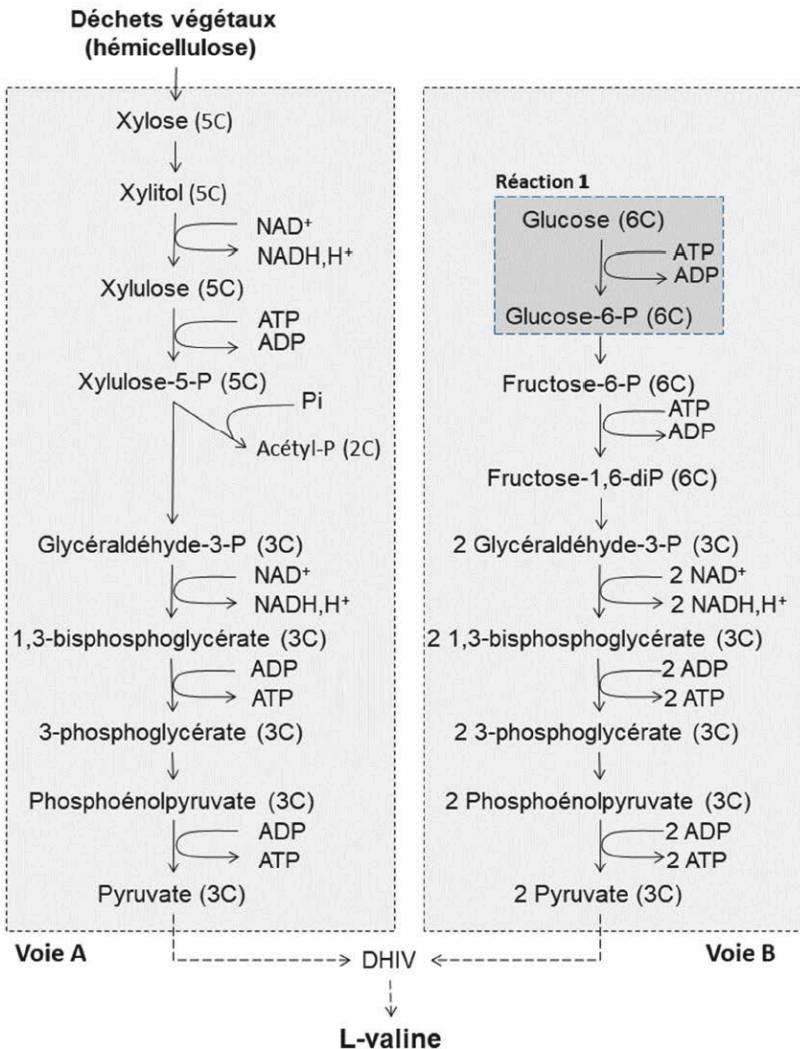
**Données :**

Équations aux grandeurs	
Vitesse spécifique de croissance (h <sup>-1</sup> )	Temps de génération
$\mu_{\text{expo}} = \frac{\ln D_2 - \ln D_1}{t_2 - t_1}$	$G = \frac{\ln 2}{\mu_{\text{expo}}}$

## DOCUMENT 5 : Schéma simplifié du métabolisme de *C. glutamicum*

La souche de *C. glutamicum* est capable d'utiliser les deux voies métaboliques A et B : voie de dégradation du glucose (B) et voie de dégradation du xylose (A).

En présence de xylose, la souche *C. glutamicum* GM ne peut pas réaliser la réaction 1. De ce fait, seule la voie de dégradation du xylose est utilisée chez la souche GM.



## **DOCUMENT 6 - Risques dus à l'utilisation des OGM**

### **Les organismes génétiquement modifiés (OGM)**

*D'après : Les organismes génétiquement modifiés (OGM), Ministère de la Transition écologique et de la Cohésion des territoires, 11 Avril 2022. <https://www.ecologie.gouv.fr/>*

La culture d'OGM de manière non contrôlée comporte des risques environnementaux significatifs. Par exemple, les plantes génétiquement modifiées (GM) peuvent se croiser avec des variétés sauvages et disséminer leurs gènes de manière incontrôlée dans la nature. À titre d'exemple, une plante GM tolérante à un herbicide risque de transmettre cette tolérance à des plantes sauvages de la même famille.

Les plantes GM qui produisent une protéine insecticide peuvent ne pas être nocives uniquement pour les insectes cibles mais peuvent aussi affecter d'autres espèces d'insectes (dites non cibles) qui jouent un rôle dans l'équilibre écologique global en étant, par exemple, prédateurs de parasites. Enfin, l'utilisation en continu de ces plantes GM pour sécréter des insecticides favorise l'apparition, chez les insectes cibles, de mécanismes de résistance à la molécule insecticide. [...]

### **Utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés**

*Adapté du Manuel du Haut Conseil des Biotechnologies pour l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés (p4, p177) – 4 juillet 2019 <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr>*

Selon le Code de l'environnement, les organismes (micro-organismes et plantes génétiquement modifiés GM) sont classés en quatre groupes distincts en fonction des risques qu'ils présentent pour la santé publique ou l'environnement, et notamment de leur pathogénicité.

Le groupe I comprend les organismes GM réunissant les conditions suivantes : ni l'organisme parental, ni le vecteur et l'insert, ni l'organisme récepteur, ni l'organisme GM entier, ne sont susceptibles de provoquer une maladie chez l'être humain, les animaux ou les végétaux, ni de causer des effets négatifs sur l'environnement.

Les installations mettant en œuvre des microorganismes GM de groupe I dans un processus de production industrielle sont soumises à la réglementation prévue pour la protection de l'intervenant et de l'environnement.

Les principes de bonnes pratiques microbiologiques sont appliqués au sein de l'établissement. Les fermenteurs sont équipés de dispositifs permettant d'assurer l'étanchéité. Ils sont munis d'un système de prise d'échantillon stérilisable à la vapeur. La mise en culture doit être réalisée en système clos. Une analyse des effluents aqueux permettant de rechercher la présence de microorganismes GM viables doit être réalisée au minimum une fois par trimestre. Les déchets, les emballages où subsistent des microorganismes

GM et la biomasse des fermenteurs doivent être inactivés par des moyens validés avant élimination. En cas de bris de verre ou de fuite de cuve, les débris et produits sont inactivés au moyen d'un produit désinfectant approprié.

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## SUJET 4 – Polynésie – MAI 2023

Durée : 3 heures – Coefficient 7

L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé

L'évaluation s'effectue par compétences. Les compétences sont indiquées entre parenthèses au niveau de chaque question et mobilisent des concepts et savoir-faire indiqués dans les programmes.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
C1	C2	C3	C4	C5	C6
Analyser un document	Effectuer les calculs	Interpréter des données	Argumenter un choix technique	Élaborer une synthèse	Communiquer à l'écrit
3 points	3 points	5 points	3 points	5 points	1 point

### TRANSITION ÉCOLOGIQUE : DÉVELOPPEMENT DES BIOPESTICIDES

Les biopesticides constituent une alternative aux pesticides chimiques dans la lutte contre les insectes qui affectent les cultures végétales ou la population humaine.

*Bacillus thuringiensis* est une bactérie qui possède un gène *cry* codant une protéine Bt aux propriétés insecticides. En effet, cette toxine possède une activité larvicide sur différentes espèces d'insectes. Elle est largement utilisée en agriculture pour la lutte contre les insectes ravageurs, et notamment contre la pyrale du maïs, une chenille pouvant entraîner des pertes considérables en production agricole.

#### Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)

Une stratégie de lutte consiste en l'épandage direct de *Bacillus thuringiensis* dans la nature ou sur les cultures. Cette stratégie nécessite des pulvérisations aériennes régulières des bactéries. Le but est de lutter contre des ravageurs en agriculture biologique ou paysagère, mais également contre les moustiques qui nuisent au confort des populations humaines.

Une autre stratégie a été choisie par un laboratoire de recherche agricole qui a développé une méthode de production de maïs OGM luttant contre les larves qui attaquent les cultures. Le but est de produire une plante insecticide, exprimant le gène *cry*, lui permettant de lutter elle-même contre les larves qui détruisent les cultures agricoles.

**Q1.** **C3** Proposer un avantage à modifier génétiquement le plant de maïs avec le gène de la toxine Bt plutôt que de réaliser un épandage direct de *Bacillus thuringiensis* sur les plants de maïs.

Cette production de maïs génétiquement modifié capable de résister à l'attaque d'insectes repose sur l'utilisation de deux bactéries :

- *Bacillus thuringiensis* qui possède un plasmide non injectable dans les cellules végétales, et qui porte le gène *cry* codant la protéine Bt.
- *Agrobacterium tumefaciens* qui est capable d'injecter son plasmide Ti dans des cellules végétales de maïs, l'ADN ainsi transféré s'intégrant dans le génome des plants de maïs.

## 1. DÉMARCHE D'OBTENTION DE PLANTS DE MAÏS GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉ

Au cours de la production des plants OGM, le laboratoire a procédé à des contrôles permettant de vérifier les étapes clés :

- Vérification de la modification génétique d'*Agrobacterium tumefaciens*,
- Contrôle de la production de la protéine Bt dans les plants de maïs génétiquement modifiés.

Le **document 1** présente la démarche de production de plants de maïs génétiquement modifiés.

**Q2.** **C1** Identifier les étapes qui conduisent à la modification génétique d'*Agrobacterium tumefaciens* puis celles aboutissant ensuite à l'obtention d'un plant de maïs génétiquement modifié.

**Q3.** **C3** Expliquer l'intérêt de transférer le gène *cry* de la bactérie *Bacillus thuringiensis* à la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*.



## 2. VÉRIFICATION DE LA MODIFICATION GÉNÉTIQUE D'AGROBACTERIUM

### 2.1 Amplification du gène d'intérêt *cry* par PCR

Avant d'insérer le gène *cry* dans le plasmide Ti, il est amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) comme précisé dans l'étape 2 du **document 1**.

Le **document 2** présente le principe de la PCR ainsi que la séquence du gène *cry* et des amorces utilisées.

**Q4.**  C1 Analyser le **document 2** afin d'identifier de façon argumentée chacune des étapes 1, 2 et 3 de la PCR.

**Q5.**  C1 En déduire une propriété que doit posséder l'ADN polymérase utilisée lors de la PCR.

**Q6.**  C3 Écrire la séquence d'ADN complémentaire de l'amorce anti-sens selon l'orientation 5'→3'.

**Q7.**  C4 Argumenter sur quelle séquence simple brin du gène *cry* (1, 2, 3 ou 4) s'hybride l'amorce anti-sens.

Le **document 3** présente le résultat de la migration électrophorétique des produits de PCR.

**Q8.**  C3 Exploiter le résultat obtenu pour le témoin d'efficacité pour déterminer la taille du gène *cry*.

**Q9.**  C4 Expliquer en quoi la composition du témoin déposé sur la piste 3 permet de vérifier la spécificité de la PCR.

**Q10.**  C3 Interpréter les résultats expérimentaux présentés dans le **document 3**.

### 2.2 Intégration du gène *cry* dans le plasmide Ti

Conformément à l'étape 3 décrite dans le **document 1**, le gène *cry* est intégré dans le plasmide Ti. Ce plasmide a une taille de  $190 \cdot 10^3$  pb.

**Q11.**  C2 Calculer la taille du plasmide TiR recombiné avec le gène *cry*.

Après sélection du plasmide TiR recombiné, les souches bactériennes *Agrobacterium tumefaciens* sont transformées avec ce plasmide puis mises en culture comme précisé dans les étapes 4 à 6 du **document 1**.

Le **document 4** présente les résultats de la mise en culture d'*Agrobacterium* après l'étape de transformation.

**Q12.** [C3] Comparer les résultats de culture d'*Agrobacterium tumefaciens* sur les deux milieux pour expliquer en quoi ils permettent de dire que l'efficacité de transformation n'est pas de 100 %.

### 3. CONTRÔLE DE LA PRODUCTION DE LA PROTÉINE Bt DANS LES PLANTS GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉS

Après transfection des cellules de plant de maïs par *Agrobacterium tumefaciens*, le laboratoire a obtenu un plant de maïs génétiquement modifié par le gène *cry* appelé « maïs OGM Bt ».

Afin de vérifier la production de toxine Bt et de mesurer sa concentration, le laboratoire utilise une méthode de dosage ELISA sandwich présentée dans le **document 5**.

**Q13.** [C1] Repérer dans la liste des matériels et réactifs fournie par le coffret, les éléments reconnaissant spécifiquement la toxine Bt.

**Q14.** [C4] Expliquer le rôle des différents lavages.

**Q15.** [C3] Schématiser sur la copie la cupule échantillon après le lavage réalisé à l'étape 4 en utilisant les symboles du **document 6**.

**Q16.** [C3] Identifier les deux rôles de la solution d'arrêt ajoutée à l'étape 6 de l'ELISA.

Le **document 7** présente les résultats expérimentaux du dosage de la toxine Bt par ELISA sandwich.

**Q17.** [C2] À partir de l'équation de la droite, établir l'équation aux grandeurs permettant de calculer la concentration en masse de toxine dans l'échantillon de maïs OGM Bt.

**Q18.** [C2] Établir l'équation aux valeurs numériques puis déterminer la concentration en masse de toxine Bt dans l'échantillon de maïs OGM Bt.

### 4. BILAN

**Q19.** [C5] Récapituler l'ensemble des vérifications mises en place par le laboratoire qui ont permis la production d'un maïs OGM Bt.

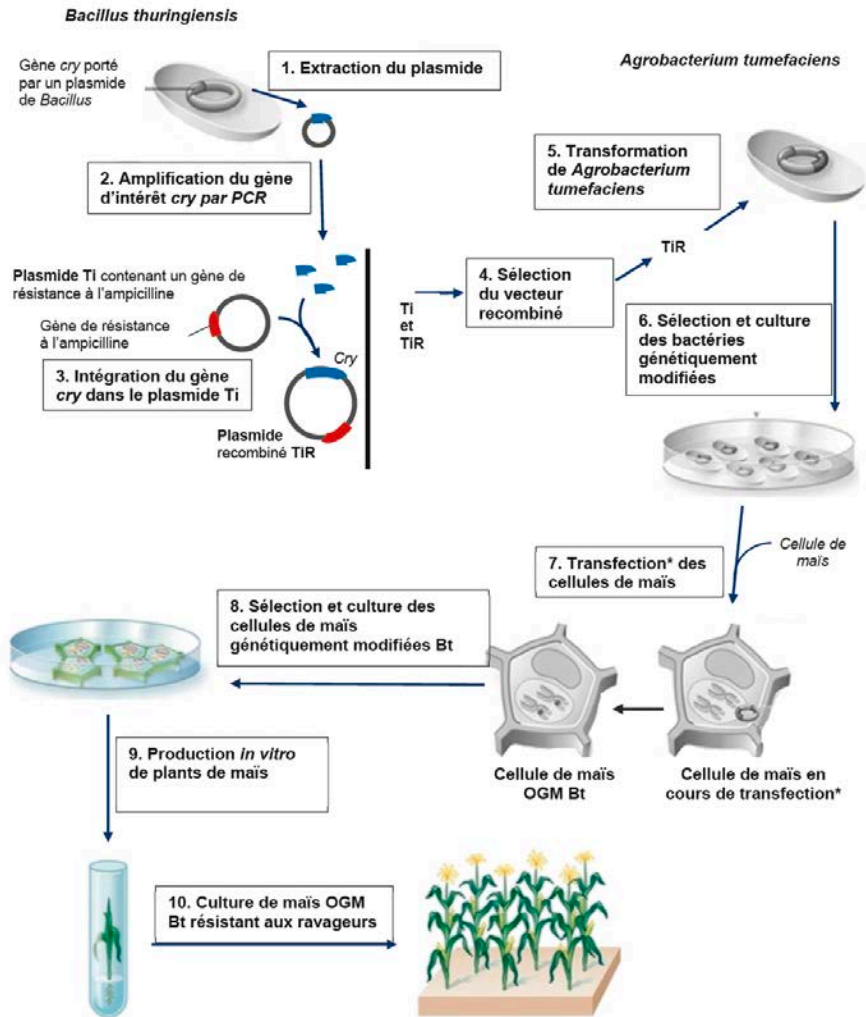
## Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)

Le maïs MON810 est une lignée de maïs génétiquement modifié qui produit la toxine Bt, créé par la firme américaine Monsanto et cultivé dans certains pays d'Europe depuis 1998. Malgré l'avis émis par l'Agence Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA), la France et plusieurs autres pays ont décidé de maintenir l'interdiction de la culture à visée de consommation des OGM sur leur territoire. Le **document 8** présente plusieurs ressources :

- « le maïs MON810 sans risques ? » ;
- « une résistance dominante contre le maïs Bt » ;
- « maïs OGM MON810 : pas d'effets détectés sur la santé et le métabolisme de rats ».

**Q20.** **C5** Exposer les arguments scientifiques sur lesquels l'agence européenne EFSA s'est appuyée pour rendre son avis en faveur de l'utilisation du maïs MON810, et les arguments en faveur de l'interdiction de la culture du maïs MON810.

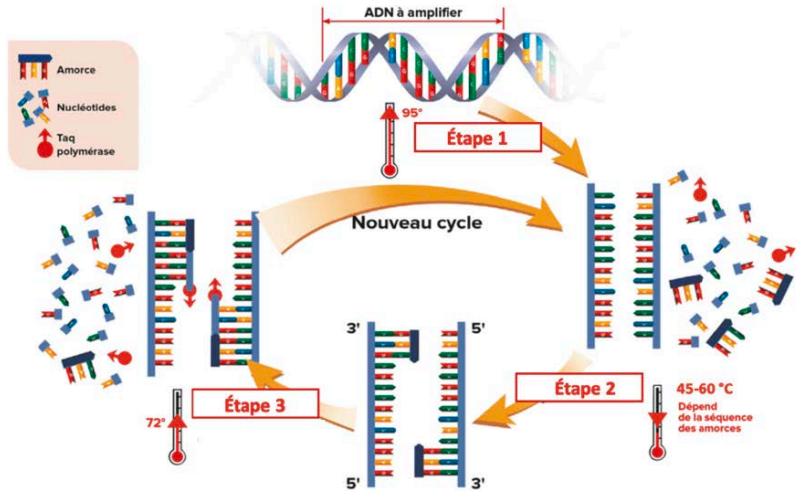
# DOCUMENT 1 : Représentation schématique du processus d'obtention du maïs Bt génétiquement modifié (OGM)



\* La transfection est un processus d'entrée d'ADN étranger dans des cellules eucaryotes  
 Source : Schéma modifié de Léonie Schlosser (encyclopédie Larousse)

## DOCUMENT 2 : Amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) du gène d'intérêt *cry*

Schéma représentant le cycle des 3 étapes de la polymérisation en chaîne (PCR)



La Taq polymérase est une ADN polymérase

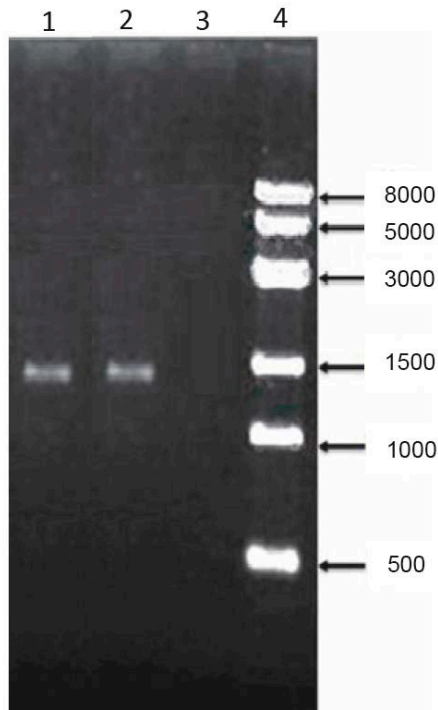
Source du document : <https://www.gnis-pedagogie.org/sujet/coeur-adn/>

Les séquences du gène *cry* et des amorces utilisées en PCR

Séquence du gène <i>cry</i>	
ADN double brin	<p>①</p> <p>5' GGTGCTTCCTATTCTTTGGCGTAC [...] TATGGTAATCAAGGGACCTGGTCA 3'</p> <p>3' CCACGAAGGATAAGAAACCGCATG [...] ATACCATTAGTTCCCTGGACCAGT 5'</p> <p>②</p>
	<p>③</p> <p>④</p>

Séquences des amorces utilisées pour amplifier le gène <i>cry</i>	
Amorce anti-sens	5' TGACCAGGTCCTTGATTAC 3'
Amorce sens	5' GGTGCTTCCTATTCTTTGGC 3'

### DOCUMENT 3 : Photographie d'électrophorèse des produits de PCR



Dépôts	Noms des dépôts PCR	Composition des mélanges réactionnels
1	Témoin d'efficacité	Gène <i>cry</i> Amorces spécifiques de <i>cry</i> Nucléotides Enzyme Taq polymérase Tampon et co-enzymes
2	Essai	Gène <i>cry</i> extrait de <i>Bacillus thuringiensis</i> Amorces spécifiques de <i>cry</i> Nucléotides Enzyme Taq polymérase Tampon et co-enzymes
3	Témoin de spécificité	Séquence d'ADN ne contenant pas le gène <i>cry</i> Amorces spécifiques de <i>cry</i> Nucléotides Enzyme Taq polymérase Tampon et co-enzymes
4	marqueur de taille en pb	Fragments d'ADN de tailles connues

## DOCUMENT 4 : *Agrobacterium tumefaciens* obtenues après transformation par le plasmide recombiné TiR

Après l'étape de transformation avec le plasmide TiR, deux milieux de culture différents sontensemencés à l'anse calibrée avec la même suspension d'*Agrobacterium tumefaciens*.

Après 24 heures d'incubation, les géloses sont observées.



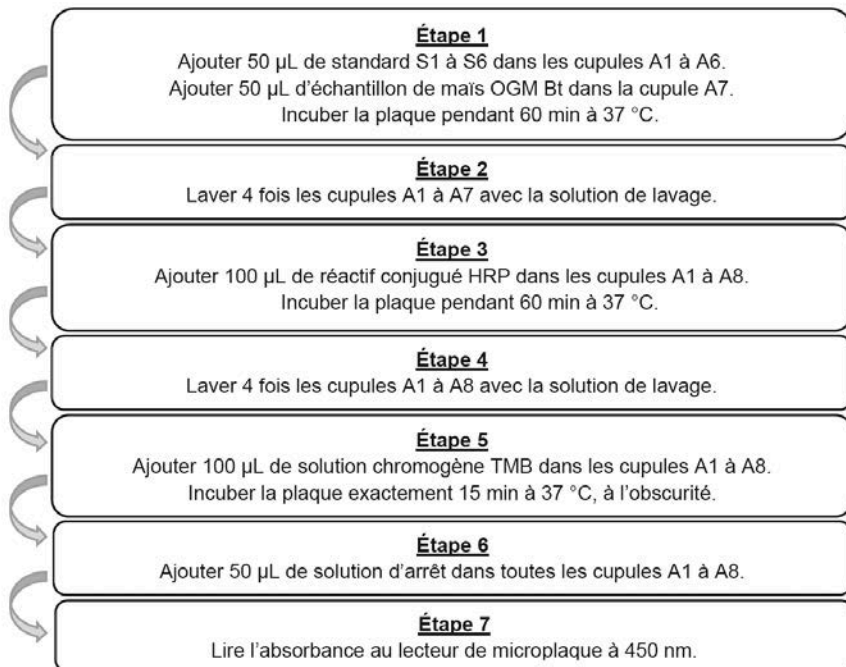
## DOCUMENT 5 : Extraits de la fiche technique du coffret « Plant *Bacillus thuringiensis* CRY1AB Toxin (BT) ELISA »

Le coffret « Plant *Bacillus Thuringiensis* CRY1AB Toxin (BT) ELISA » permet de déterminer la concentration en masse de toxine Bt présente dans des extraits de maïs par méthode immuno-enzymatique ELISA sandwich. Cette technique repose sur l'utilisation d'un anticorps immobilisé et d'un anticorps soluble marqué reconnaissant des déterminants antigéniques différents.

### Matériel et réactifs fournis dans le coffret :

<b>Barrette de 9 cupules :</b> <ul style="list-style-type: none"><li>● Des anticorps anti-toxine Bt sont immobilisés au fond des cupules A1 à A8</li></ul>
<b>Standards S1 à S6 :</b> solutions étalons de toxine Bt à des concentrations en masse croissantes
<b>Réactif conjugué HRP :</b> solution d'anticorps anti-toxine Bt couplé à la peroxydase de raifort (HRP)
<b>Solution de lavage</b>
<b>Solution chromogène TMB :</b> le 3,3',5,5'- tétraméthylbenzidine est le substrat de la HRP. Le produit de la réaction enzymatique devient jaune en milieu acide et absorbe à 450 nm
<b>Solution d'arrêt :</b> solution acide

## Mode opératoire :



Source du document : fiche technique du coffret Plant *Bacillus Thuringiensis* CRY1AB Toxin (Bt) ELISA Kit - MyBioSource

## DOCUMENT 6 : Symboles à utiliser pour la schématisation de l'édifice moléculaire

Extrait de maïs OGM Bt contenant :



Toxine Bt



Autres protéines de maïs

Composants du kit



Anticorps anti-toxine Bt immobilisé au fond de la cupule



Anticorps anti-toxine Bt couplé à la peroxydase de raifort (HRP)



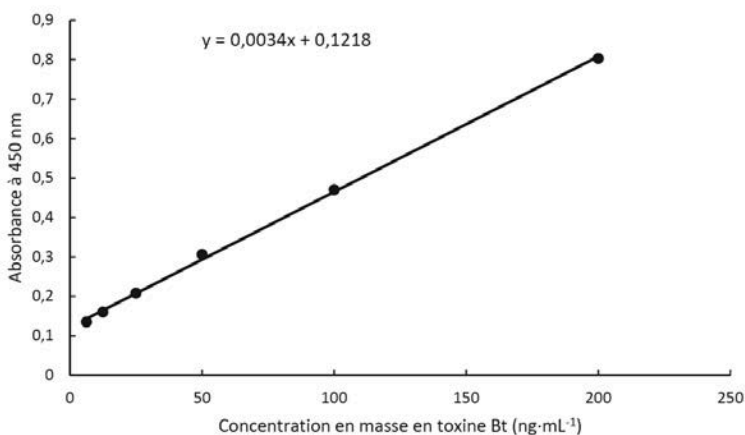
## DOCUMENT 7 : Dosage de l'échantillon de maïs OGM Bt par ELISA sandwich

### Résultats expérimentaux

	Gamme étalon							essai
$\rho$ (toxine Bt ; échantillon) (ng · mL <sup>-1</sup> )	0	6,25	12,5	25	50	100	200	?
$A_{450\text{ nm}}$	0,122	0,135	0,160	0,208	0,306	0,470	0,805	0,700

### Courbe d'étalonnage

$A_{450\text{ nm}} = f(\text{Concentration en masse toxine Bt})$



## DOCUMENT 8 : La culture des maïs génétiquement modifiés en France

### Le maïs MON810 sans risques ?

*D'après Techniques de l'ingénieur, mai 2017*

Le groupe de travail sur les OGM de l'EFSA a évalué le rapport annuel 2015 de Monsanto portant sur le suivi environnemental post-commercial du maïs MON 810. Son avis est publié le 8 mai 2017. (...) Les insectes ne sont pas encore devenus résistants à cet OGM. Par ailleurs, aucun effet indésirable n'a été observé chez l'être humain ou l'animal. Au final, l'EFSA estime qu'il n'y a aucune preuve qui pourrait invalider les évaluations précédentes sur la sécurité du maïs MON 810.

Toutefois, le groupe de travail réitère ses recommandations précédentes pour améliorer la méthodologie. Elle considère que la sensibilité de détection pour surveiller la résistance des insectes est pour le moment insuffisante.

## **Une résistance dominante contre le maïs Bt**

*D'après Biofutur 2013*

Le maïs transgénique Bt exprime une toxine insecticide issue de la bactérie *Bacillus thuringiensis*. Il repousse ainsi les insectes prédateurs en détruisant les parois de l'estomac des larves après l'ingestion des feuilles ou des tiges de maïs OGM. Mais les ravageurs s'adaptent. En effet, certains d'entre eux portent une mutation récessive qui leur permet de ne pas fixer la toxine au niveau intestinal. Pour limiter la transmission du gène conférant la résistance, les agriculteurs et les chercheurs prévoient une zone « refuge », dépourvue de maïs Bt, qui permette de conserver un pool de prédateurs sensibles à la toxine et de limiter ainsi l'expression de la résistance au sein de la population globale.

Mais cette solution risque de devenir insuffisante. Des chercheurs de l'IRD et de l'Université Paris-Saclay (Orsay) ont découvert un nouveau mécanisme de protection contre le maïs Bt. Afin d'évaluer la distribution sud-africaine du gène récessif de résistance au sein des chenilles du papillon de nuit *B. fusca*, les chercheurs ont réalisé des croisements avec des insectes contrôlés. Ils ont observé que la descendance survit à la toxine Bt.

Un nouveau gène de résistance, à transmission dominante cette fois, est apparu en Afrique du Sud. Si les mécanismes physiologiques à l'origine de la résistance doivent encore être caractérisés, les chercheurs ont observé une transmission très rapide de ce gène.

## **Mais OGM MON810 : pas d'effets détectés sur la santé et le métabolisme des rats**

*D'après www.inrae.fr*

Des rats ont été nourris pendant 6 mois avec un régime contenant soit du maïs transgénique [MON810], soit un maïs contrôle non-OGM. Cette période de temps, qui double celle du test requis par la réglementation européenne, équivaut au tiers de la vie moyenne des rats. L'objectif des chercheurs était d'identifier des biomarqueurs précoces d'altération de certaines fonctions biologiques chez les rats nourris au maïs OGM pendant 3 mois et 6 mois.

Pour cela, ils ont utilisé deux techniques à haut débit ultra-sensibles : la métabolomique (étude des métabolites) et la transcriptomique (étude de l'expression des gènes). Ces techniques ont permis d'identifier et de doser des métabolites (acides aminés, sucres et autres petites molécules) et de

caractériser l'expression des ARN messagers cellulaires. Les résultats ont montré qu'il n'y avait aucune différence significative du point de vue biologique entre régimes OGM et non-OGM.

Par ailleurs, aucune altération des organes et, en particulier, du foie, des reins ou de l'appareil reproducteur des rats nourris avec le maïs OGM n'a été observée par les techniques d'anatomopathologie (études macro- et microscopique des tissus pour détecter d'éventuelles anomalies).

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## SUJET 5 – La Réunion – MAI 2023

Durée : 3 heures – Coefficient 7

L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé

L'évaluation s'effectue par compétences. Les compétences sont indiquées entre parenthèses au niveau de chaque question et mobilisent des concepts et savoir-faire indiqués dans les programmes.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
C1	C2	C3	C4	C5	C6
Analyser un document	Effectuer les calculs	Interpréter des données	Argumenter un choix technique	Élaborer une synthèse	Communiquer à l'écrit
3 points	3 points	4 points	4 points	5 points	1 point

### AMÉLIORATION DE MICROALGUES POUR L'ÉLABORATION D'UN COMPLÉMENT ALIMENTAIRE LIPIDIQUE

Les microalgues sont des microorganismes souvent utilisés en milieu agroalimentaire et industriel. En effet, les microalgues sont faciles à cultiver et produisent des quantités importantes de lipides. Chez certaines microalgues, ces lipides sont riches en acides gras polyinsaturés à très longue chaîne, d'intérêt majeur pour la santé humaine et la santé animale.

#### Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)

Un laboratoire cherche à faire évoluer de manière naturelle des microalgues du genre *Tisochrysis lutea* afin d'obtenir une souche ultraproductrice de lipides qui servira de base dans la composition d'un nouveau complément alimentaire.

Pour cela, le laboratoire met en œuvre une étude en trois étapes :

- obtention de mutants par pression de sélection continue ;
- suivi de croissance des microalgues sauvages et mutées
- production de lipides dans le but de fabriquer un complément alimentaire riche en lipides.

## 1. OBTENTION DE MICROALGUES MUTÉES PAR PRESSION DE SÉLECTION CONTINUE

L'obtention de mutants par pression de sélection continue vise à produire des souches d'intérêt sans modification artificielle du génome : elle repose sur le principe de sélection naturelle mis en évidence par Darwin.

Le **document 1** présente le principe d'obtention de mutants par pression de sélection ainsi que les résultats obtenus dans deux conditions expérimentales.

**Q1.** (C1) Analyser les résultats pour montrer que les conditions de culture 1 et 2 impactent la croissance de la microalgue.

**Q2.** (C4) Argumenter le choix de la condition 2 de culture pour sélectionner une microalgue qui s'est adaptée à son environnement.

Le séquençage du génome de la souche de microalgue obtenue dans la condition 2 a permis de mettre en évidence une mutation par substitution nucléotidiques sur le gène codant une enzyme nommée  $\beta$ -cétol-ACP réductase.

La  $\beta$ -cétol-ACP réductase est impliquée dans la synthèse des acides gras. Le **document 2** présente la réaction catalysée par cette enzyme et les propriétés spectrales de son coenzyme.

La longueur d'onde choisie pour suivre la réaction enzymatique est de 340 nm.

**Q3.** (C4) Argumenter le choix de cette longueur d'onde.

**Q4.** (C3) Nommer le composé suivi et en déduire le sens de la variation de l'absorbance au cours de la réaction enzymatique.

Les structures spatiales des  $\beta$ -cétol-ACP réductases des microalgues sauvages et mutées ont été déterminées. Le **document 3** présente les résultats obtenus.

**Q5.** (C1) Comparer les structures protéiques des deux enzymes.

Pour poursuivre l'étude, une comparaison des deux vitesses initiales maximales ( $v_{i, \max}$ ) de réaction des deux enzymes est effectuée. Le **document 4** présente les variations de la vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat permettant de déterminer  $v_{i, \max}$ .

**Q6.** (C1) Estimer la valeur de  $v_{i, max}$  pour chacune des deux enzymes étudiées.

**Q7.** (C3) Comparer les vitesses  $v_{i, max}$  des deux enzymes et conclure sur l'impact de la mutation sur le fonctionnement de cet enzyme.

Afin d'étudier les conséquences de cette mutation, l'activité catalytique de l'enzyme est déterminée pour la souche sauvage et la souche mutée. Les résultats sont fournis dans le **document 5**.

**Q8.** (C3) Analyser les résultats et en déduire la conséquence attendue sur la synthèse des lipides par la microalgue mutée.

**Q9.** (C5) Mettre en lien les analyses précédentes afin de proposer une hypothèse à la différence d'activité catalytique  $z$  observée entre l'enzyme de la souche sauvage et de la souche mutante.

## **2. SUIVI DE CROISSANCE DE LA SOUCHE SAUVAGE ET DE LA SOUCHE MUTÉE EN MILIEU NON RENOUVELÉ**

Une fois l'étape de mutation de la microalgue par pression de sélection continue effectuée, les souches de *Tisochrysis lutea* sauvage et mutée sont cultivées en milieu non renouvelé afin de comparer les paramètres de croissance des deux souches. Les résultats de suivi de croissance sont présentés dans le **document 6**.

**Q10.** (C1) Identifier et délimiter les différentes phases de croissance pour la souche sauvage en précisant les temps de début et de fin de chaque phase.

**Q11.** (C3) Interpréter les résultats obtenus pour conclure sur la quantité de biomasse produite en phase stationnaire.

**Q12.** (C2) Calculer la vitesse spécifique de croissance  $\mu_{expo}$  pour chacune des souches.

**Q13.** (C2) Déterminer le temps de génération pour la souche sauvage et la souche mutée.

**Q14.** (C4) À l'aide du rapport des biomasses produites et des temps de génération, expliquer si une des deux souches a une croissance plus avantageuse pour une production industrielle de microalgues.

### 3. COMPARAISON DE LA PRODUCTION DE LIPIDES DES DEUX SOUCHES

Les souches de *Trisochrysis lutea* sauvage et mutée sont récupérées puis centrifugées afin d'extraire et de doser les lipides qu'elles contiennent. Le **document 7** présente la procédure opératoire de mesure de la concentration en lipides extraits par méthode enzymatique. Les résultats obtenus à la suite de ce dosage sont rassemblés dans le **document 8**.

**Q15.** (C1) Identifier, dans la procédure opératoire, le volume de prise d'essai des échantillons à doser.

**Q16.** (C2) À l'aide de l'équation de la droite, démontrer l'équation suivante :

$$m_{lipide} = \frac{A_{570\text{ nm}} + 0,0062}{3,5083}$$

**Q17.** (C2) Calculer la masse de lipides obtenue dans l'extrait de microalgues sauvages et dans l'extrait de microalgues mutées. En déduire la concentration en lipides de chaque extrait.

**Q18.** (C4) Comparer ces deux valeurs pour orienter le choix de la souche de microalgue à utiliser pour produire un complément alimentaire riche en lipides.

### 4. BILAN

**Q19.** (C5) Mettre en relation l'ensemble des réponses pour choisir la souche de microalgue la plus adaptée à la production d'un complément alimentaire riche en lipides.

<b>Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)</b>
---

Le **document 9** présente :

- Un article qui traite de l'utilisation des microalgues au niveau mondial ;
- La notion de brevet et ses limites pour les matières biologiques.

**Q20.** (C5) À partir des données de la partie I et du **document 9**, développer des arguments scientifiques et techniques sur lesquels peut s'appuyer le laboratoire afin de déposer un brevet pour l'algue *Trisochrysis lutea* mutée.

## DOCUMENT 1 : Principe d'obtention de mutants de la microalgue *Tisochrysis lutea* par pression de sélection continue

D'après « Amélioration de microalgues à vocation énergétique par pression de sélection continue », thèse de H. Bonnefond, 2015.

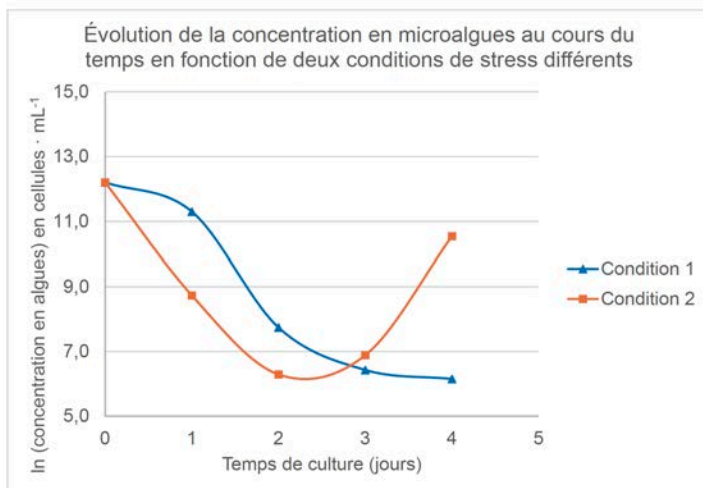
Selon le principe de la biologie de l'évolution, un organisme subissant un faible stress du fait d'un changement environnemental s'acclimata à ce stress par modification de son phénotype. À partir du moment où le stress dépasse les limites physiologiques de l'organisme, des mutations génétiques rares, aléatoires et spontanées permettent l'apparition d'individus plus aptes à résister et à proliférer dans ce nouvel environnement. Ces individus, plus performants dans ces nouvelles conditions environnementales, transmettent cette modification génétique à leur descendance.

Dans l'optique d'augmenter la capacité de la microalgue *Tisochrysis lutea* à stocker des ressources nutritives, une souche de microalgue *Tisochrysis lutea* a été cultivée dans deux conditions de stress différentes :

- condition 1 : un stress thermique en soumettant la culture à une température élevée ;
- condition 2 : un faible apport en azote.

Ces conditions sont connues pour limiter la croissance de cette microalgue.

On détermine par dénombrement direct la concentration en algues dans chaque milieu. Les résultats obtenus sont les suivants :

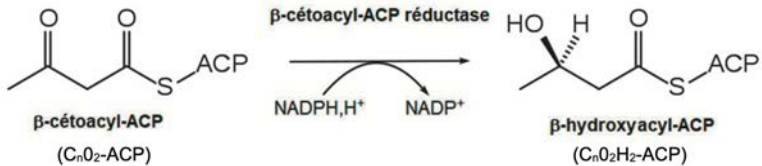


Donnée : La souche cultivée en condition optimale (sans stress) atteint  $\ln(\text{cellules} \cdot \text{mL}^{-1}) = 29,2$  après 4 jours d'incubation.

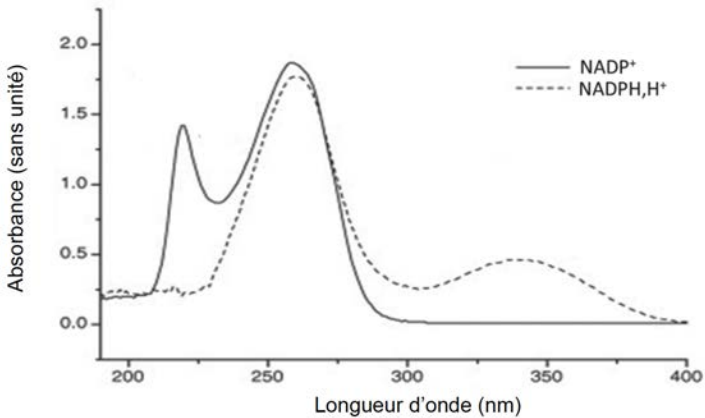


**DOCUMENT 2 : Réaction catalysée par la  $\beta$ -cétol-ACP réductase et propriétés spectrales de son coenzyme**

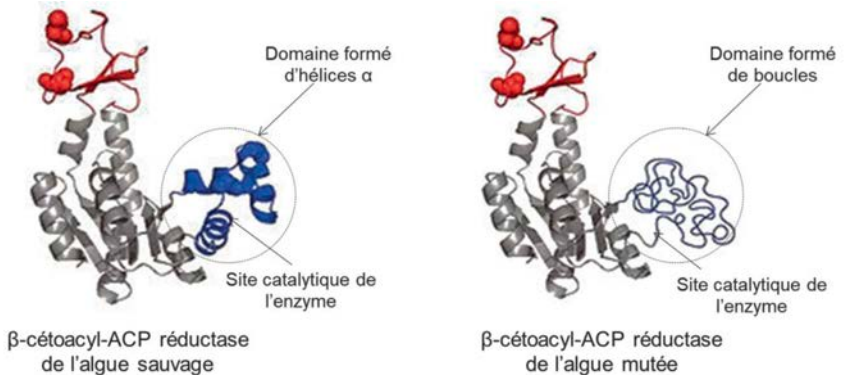
**a - Réaction catalysée par la  $\beta$ -cétol-ACP réductase**



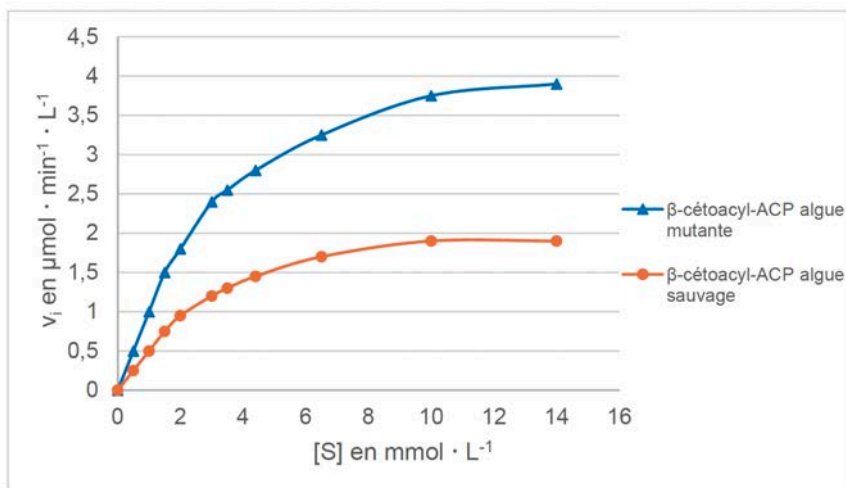
**b - Spectres d'absorption du coenzyme sous formes réduite et oxydée**



**DOCUMENT 3 : Structure tridimensionnelle des  $\beta$ -cétol-ACP réductases extraites des microalgues sauvage et mutée**



**DOCUMENT 4 : Détermination de la vitesse initiale maximale de réaction ( $v_{i, max}$ ) des  $\beta$ -cétolacyl-ACP réductases extraites des microalgues sauvages et mutées**



Représentation des courbes  $v_i = f[S]$

**DOCUMENT 5 : Comparaison de l'activité catalytique des  $\beta$ -cétolacyl-ACP réductases synthétisées par la microalgue sauvage et par la microalgue mutée**

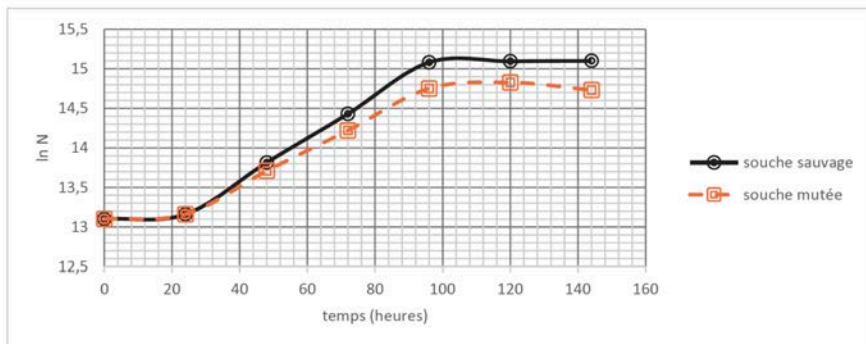
L'étude des deux  $\beta$ -cétolacyl-ACP réductases a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales à partir d'un extrait d'un milligramme de chaque souche d'algue.

L'activité catalytique mesurée dans le milieu réactionnel ( $z_{(réductase ; V_{MR})}$ ) se rapportant à 1 mg de chaque souche d'algue est mesurée dans des conditions opératoires similaires pour les deux souches. Elle est exprimée en U par mg de microalgue.

$$z_{(réductase ; V_{MR})} = v_{i(réductase)} \times V_{MR}$$

	Activité catalytique $z_{(réductase ; V_{MR})}$ (en U par mg de microalgue)
$\beta$ -cétolacyl-ACP réductase extraite de l'algue sauvage	7
$\beta$ -cétolacyl-ACP réductase extraite de l'algue mutée	16

## DOCUMENT 6 : Résultats de suivi de croissance des microalgues en milieu non renouvelé



D'après « Allocation du carbone et métabolisme azoté chez l'haptophyte *Trisochrysis lutea* », thèse de M. Garnier, 2016.

### Données :

Calcul de  $\mu_{\text{expo}}$  :

$$\mu_{\text{expo}} = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$$

### Calcul du temps de génération

$$G = \frac{\ln(2)}{\mu_{\text{expo}}}$$

**Définition du temps de génération :** durée nécessaire au doublement de la population durant la phase exponentielle de croissance.

## DOCUMENT 7 : Mesure de la concentration en lipides extraits par méthode enzymatique en point final

### a - Réactifs

- Étalon acide palmitique à  $10,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$
- Mélange enzymatique
- Solution tampon
- $100 \mu\text{L}$  d'acides gras extraits de la souche de *Trisochrysis lutea* sauvage
- $100 \mu\text{L}$  d'acides gras extraits de la souche de *Trisochrysis lutea* mutée

## b - Procédure opératoire

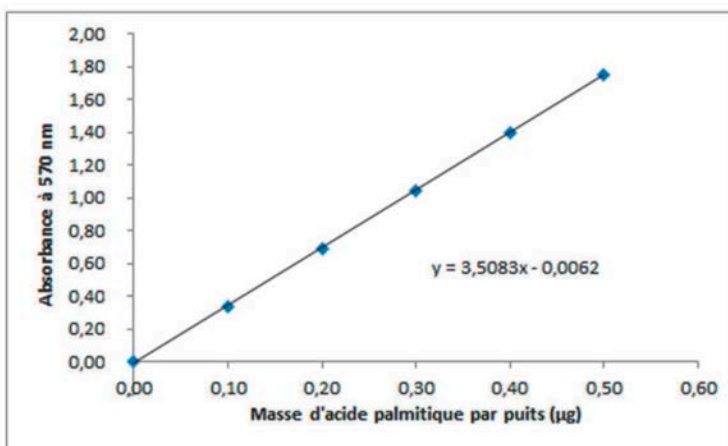
- 1- Préparation de la gamme d'étalonnage : Déposer 0, 10, 20, 30, 40, 50  $\mu\text{L}$  de la solution étalon d'acide palmitique (à  $10,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) dans 6 puits d'une microplaque. Ajuster à 50  $\mu\text{L}$  par puits avec la solution tampon.
- 2- Préparation des échantillons : Déposer 50  $\mu\text{L}$  de chaque extrait dans 2 puits différents. Les lipides contenus dans 50  $\mu\text{L}$  d'extrait proviennent de 1  $\mu\text{g}$  de microalgues.
- 3- Ajouter dans chaque puits (gamme d'étalonnage et échantillons) 50  $\mu\text{L}$  du mélange enzymatique.
- 4- Agiter puis incuber 30 minutes à  $37^\circ\text{C}$ .
- 5- Mesurer l'absorbance à 570 nm contre le blanc réactif (premier puits).

## DOCUMENT 8 : Résultats de mesure de la concentration en lipides

### a - Gamme d'étalonnage

Dosage des lipides par méthode enzymatique

$$A_{570\text{nm}} = f(m_{\text{acide palmitique}})$$



### b - Résultats obtenus pour les extraits de la souche sauvage et mutée

	Essai souche sauvage	Essai souche mutée
A à 570 nm	0,871	1,397

## DOCUMENT 9 : Données sur la brevetabilité du vivant

### a - Utilisation des microalgues à l'échelle mondiale

D'après d'un article du site *m.actu-environnement* : « Les microalgues au cœur du Green business »

Avec l'explosion des énergies renouvelables dans les années 2000, la production de biocarburant à partir de microalgues se retrouve sur le devant de la scène. Leur teneur élevée en lipides et leur forte productivité drainent plusieurs centaines de millions d'euros d'investissements depuis 2007 dans des sociétés développant des biocarburants dits de "3<sup>e</sup> génération". Chez les microalgues, le rendement de la synthèse d'acides gras destinés à la production de biocarburants est en effet jusqu'à 250 fois plus élevé que chez le soja. Si le panel d'applications possibles à partir de ces organismes photosynthétiques est très large, peu d'analystes se sont penchés sur leur potentiel commercial. Seule une dizaine de microalgues est aujourd'hui sur le marché : spirulines, chlorelles et algues des genres *Cryptocodinium*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Ulkenia*. L'industrie les exploite sous forme de biomasse sèche (microalgue entière) ou d'extrait, dans des segments de marché aussi variés que l'alimentation humaine et animale, la cosmétique ou la recherche.

### b - Brevetabilité d'une matière biologique

D'après *ipside.com*, brevetabilité des micro-algues

Un brevet est un titre de propriété qui protège une invention technique, c'est-à-dire qu'il confère à son détenteur le monopole d'exploitation de l'invention brevetée.

À la fin des années quatre-vingt-dix, la directive européenne 98/44 relative aux inventions biotechnologiques a autorisé la brevetabilité des matières biologiques.

Une matière biologique, qui peut être une souche de microorganisme, peut être brevetée si elle présente un intérêt industriel et si elle n'est pas déjà connue pour cela. Ceci inclut les organismes génétiquement modifiés par transfert de gènes ou par modification du génome, mais également ceux obtenus par mutagenèse aléatoire de la même façon que ceux préexistants à l'état naturel. En revanche, les organismes animaux et végétaux ne peuvent pas faire l'objet de brevets au sein de l'Union européenne.

Un brevet est donc possible pour un microorganisme, même lorsque celui-ci préexiste à l'état naturel, sous réserve qu'il n'ait pas été identifié jusqu'alors (critère de nouveauté) et qu'il participe à la résolution d'un problème d'ordre technique (il ne s'agit pas d'une simple découverte). Ainsi, par exemple, un microorganisme existant à l'état naturel et produisant un antibiotique serait brevetable.

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## Évaluation des compétences expérimentales

### SUJET 1

Durée : 3 heures – Coefficient de l'épreuve : 9  
L'usage de la calculatrice est autorisé

#### CONTRÔLES AU COURS DE LA FERMENTATION D'UN VIN BIOLOGIQUE

Les viticulteurs se tournent actuellement de plus en plus vers l'agriculture biologique. Les vins biologiques peuvent être obtenus à partir de raisins fermentés par la flore naturellement présente sur les baies de raisins lors de la vendange, sans ajout de microorganismes supplémentaires. La fermentation de ce type de vin biologique nécessite un suivi étroit afin de vérifier son bon déroulement. En particulier, il faut s'assurer que les levures naturellement présentes soient suffisamment bien implantées pour réaliser la fermentation alcoolique et pour inhiber le développement de microorganismes contaminants.

Par ailleurs, une acidité volatile trop élevée peut être causée par la présence de la bactérie contaminante *Gluconobacter*. Cette bactérie est capable d'oxyder l'éthanol ou les glucides du vin en acide éthanoïque donnant au vin un goût de vinaigre.

Les indicateurs contrôlés et les critères correspondants sont rassemblés dans le tableau suivant :

Indicateurs	Critères
Concentration en nombre de levures	Population minimale de levures vivantes : $5,0 \cdot 10^7$ cellules $\cdot$ mL <sup>-1</sup>
Acidité volatile du vin	Limite maximale d'acidité volatile : 1,2 g d'acide éthanoïque par litre
Recherche de contaminants	Absence de <i>Gluconobacter</i>

Dans le cadre du suivi d'un vin biologique en début de fermentation, un laboratoire d'œnologie effectue différentes analyses :

- numération des levures vivantes ;
- dosage de l'acidité volatile ;
- recherche d'un contaminant.

## RÉFLEXION PRÉLIMINAIRE

*L'ensemble des questions de la réflexion préliminaire doit être validé par l'examineur.*

Le dossier technique présente l'ensemble des fiches techniques et des documents nécessaires à la réalisation de l'épreuve.

La procédure opératoire de la numération des levures vivantes est donnée dans la **fiche technique 1**.

**Q1.** Identifier deux sources d'erreurs qui pourraient compromettre la qualité de la numération.

La procédure opératoire du dosage de l'acidité volatile est donnée dans la **fiche technique 2**.

**Q2.** Réaliser le schéma du montage expérimental permettant le dosage de l'acidité volatile du distillat « D ». Ce schéma précisera le nom des réactifs et des solutions employées ainsi que le matériel de pipetage adapté au prélèvement du distillat « D ».

**Q3.** À partir du dossier technique, identifier sur la copie un danger éventuel, sa nature, sa voie de transmission ou d'exposition, puis une situation exposant au danger. Proposer, le cas échéant, la ou les mesure(s) de prévention adaptée(s).

## RÉALISATION PRATIQUE

*La réalisation pratique doit débuter par une **analyse des risques de l'ensemble des manipulations**. La mise en œuvre, par le candidat, des mesures de prévention appropriées à chaque manipulation est évaluée.*

*L'ordre de la réalisation pratique est laissé à l'initiative du candidat.*

*La réalisation pratique inclura la présentation des indications de mesure et/ou des observations réalisées sur le **cahier de laboratoire fourni**.*

### **1- NUMÉRATION DES LEVURES VIVANTES**

**M1.** Réaliser la numération des levures vivantes présentes dans l'échantillon « Vin ».

### **2- DOSAGE DE L'ACIDITÉ VOLATILE**

**M2.** Réaliser le dosage de l'acidité volatile du distillat « D ».

### **3. RECHERCHE DE *GLUCONOBACTER***

La recherche de *Gluconobacter* est réalisée par PCR. La procédure opératoire est présentée dans la **fiche technique 3**.

**M3.** Réaliser la préparation des témoins et de l'essai à déposer.

**M4.** Réaliser le dépôt du marqueur de taille et des 3 échantillons sur gel d'agarose.

## **EXPLOITATION DES RÉSULTATS**

### **1. NUMÉRATION DES LEVURES VIVANTES**

**Q4.** Établir l'équation aux valeurs numériques et calculer la concentration en nombre de levures vivantes dans l'échantillon « Vin »  $C_{N(\text{cellules vivantes}; \text{vin})}$  exprimée en cellules  $\cdot \text{mL}^{-1}$ .

### **2. DOSAGE DE L'ACIDITÉ VOLATILE**

**Q5.** À partir du modèle de mesure fourni, établir les équations aux grandeurs et aux unités de la concentration en quantité de matière d'acide éthanoïque du distillat  $c_{(\text{CH}_3\text{-COOH}; D)}$  exprimée en mol  $\cdot \text{L}^{-1}$ .

→ **Faire valider par l'examinateur**

**Q6.** Établir l'équation aux valeurs numériques et calculer  $c_{(\text{CH}_3\text{-COOH}; D)}$  pour chaque essai.

**Q7.** Vérifier la compatibilité métrologique des valeurs obtenues.

**Q8.** Calculer la concentration en masse d'acide éthanoïque dans le vin analysé  $\rho_{(\text{CH}_3\text{-COOH}; \text{vin})}$  exprimée en g  $\cdot \text{L}^{-1}$ .

**Q9.** Exprimer le résultat final de mesure conformément aux règles de métrologie.

### **3. RECHERCHE DE *GLUCONOBACTER***

**Q10.** À partir de l'électrophorogramme fourni, valider la manipulation à l'aide des deux témoins.

**Q11.** Analyser le résultat obtenu pour l'essai de vin.

### **4. CONCLUSION**

**Q12.** À partir des différentes analyses réalisées, conclure sur la qualité de l'échantillon de vin en expliquant le lien éventuel entre les résultats observés.



## DOSSIER TECHNIQUE

### FICHES TECHNIQUES

- **Fiche technique 1** : Numération des levures vivantes par comptage cellulaire en hématimètre de Malassez.
- **Fiche technique 2** : Dosage de l'acidité volatile.
- **Fiche technique 3** : Recherche de *Gluconobacter* par PCR.

### DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE

- Fiche technique de la mise en hématimètre.
- Aide-mémoire de métrologie.
- Électrophorégramme obtenu, fourni après réalisation de T3.

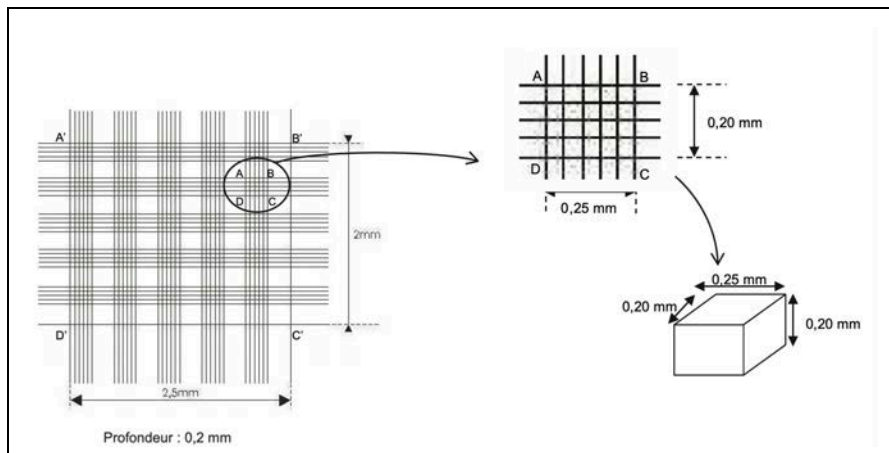
### 1- Principe de la numération des levures vivantes

Le comptage des levures vivantes est réalisé en hématimètre de Malassez en présence d'un colorant vital, le bleu de Funk. Dans ces conditions, les cellules mortes sont colorées en bleu tandis que les cellules vivantes réduisent le bleu de Funk en un dérivé incolore.

### 2- Échantillon et réactifs

- 1 mL d'échantillon de vin noté « Vin » en tube à hémolyse
- 1 mL de bleu de Funk en tube à hémolyse

### 3- Présentation du quadrillage de l'hématimètre de Malassez



Volume de la totalité de la chambre  
de comptage (rectangle A'B'C'D')

$$= 2,5 \times 2 \times 0,2 = 1 \text{ mm}^3 = 1 \text{ }\mu\text{L}$$

Volume d'une unité de comptage  
(rectangle ABCD)

$$= 0,25 \times 0,2 \times 0,2 = 0,01 \text{ }\mu\text{L}$$

### 4- Procédure opératoire

- Diluer l'échantillon de vin au  $\frac{1}{2}$  :

Introduire en tube un volume de 500  $\mu\text{L}$  de bleu de Funk et un volume de 500  $\mu\text{L}$  de l'échantillon « Vin ».

Homogénéiser et attendre 5 minutes.

- Réaliser la mise en hématimètre selon la fiche technique fournie par le centre.
- Vérifier l'homogénéité de la répartition des levures dans le quadrillage à l'objectif x 10.
- Procéder au comptage des levures vivantes à l'objectif x 40 dans un volume ( $V_{\text{comptage}}$ ) correspondant au volume de 6 unités de comptage.

### 5- Règles de comptage

- Pour les cellules chevauchant les limites d'une unité de comptage, ne compter que celles qui chevauchent deux limites sur quatre.
- Compter comme une seule cellule une levure bourgeonnante dont le bourgeon est inférieur à 50 % du volume de la cellule mère. Compter comme deux cellules une levure bourgeonnante dont le bourgeon est supérieur ou égal à 50 % du volume de la cellule mère.

### 6- Données de sécurité

Produit	Identification du danger	Mentions de danger
Bleu de Funk	 <b>ATTENTION</b>	H302 : Nocif en cas d'ingestion H319 : Provoque une sévère irritation des yeux

### 7- Données relatives à l'exploitation

$$C_N (\text{cellules vivantes ; } V_{in}) = \frac{N_{\text{cellules vivantes}}}{V_{\text{comptage}} \times d}$$

Avec :

$C_N$  : concentration en nombre de cellules par mL

$N$  : nombre total de cellules vivantes comptées

$V$  : volume total de comptage en mL

$d$  : dilution éventuelle de l'échantillon

Le résultat est arrondi à 2 chiffres significatifs, exprimé avec un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée.

### 1- Principe du dosage

L'acidité volatile d'un vin correspond à l'acidité apportée par l'ensemble des acides organiques volatiles présents dans le vin. Ils sont produits par certaines levures et bactéries à partir de l'éthanol ou des glucides présents dans le raisin. On considérera que, dans un vin en début de fermentation, l'acidité volatile est exclusivement due à la présence d'acide éthanoïque  $\text{CH}_3\text{-COOH}$ .

Le dosage de l'acidité volatile est réalisé de la manière suivante :

- Distillation complète du vin afin de récupérer l'intégralité de l'acide éthanoïque qu'il contient.

- Dosage de l'acide éthanoïque : il repose sur une réaction acide / base entre l'acide éthanoïque  $\text{CH}_3\text{-COOH}$  et l'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{HO}^-$ ).

Le dosage est réalisé en présence de bleu de thymol qui vire du jaune au vert dès la première goutte d'hydroxyde de sodium en excès.

### 2- Échantillon et réactifs

Une procédure opératoire a permis d'extraire l'acide éthanoïque d'un échantillon de vin : un volume de 50 mL de vin a été distillé pour récupérer un volume de distillat « D » ajusté à 100 mL, contenant la totalité de l'acide éthanoïque de l'échantillon de vin.

- Distillat « D » à doser ;

- Solution d'hydroxyde de sodium  $\text{Na}^+$ ,  $\text{HO}^-$  de concentration :

$$C_{(\text{HO}^- ; \text{solution NaOH})} = 0,0100 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}.$$

### 3- Procédure opératoire du dosage

- Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire :

- $V_D = 10,0$  mL de distillat « D » ;
- Environ 10 mL d'eau déminéralisée ;
- Quelques gouttes de bleu de thymol (valeur fournie par le centre).

- Verser à la burette la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'au virage au vert de l'indicateur coloré bleu de thymol.

- Noter les deux volumes,  $V_{\text{éqNaOH}}$  obtenus à l'équivalence.

#### 4- Données relatives à l'exploitation

##### Modèle de mesure

$$c_{(CH_3COOH; D)} \times V_D = c_{(HO^-; solution NaOH)} \times V_{\text{éqNaOH}}$$

##### Données métrologiques

- Écart type de répétabilité :  $s_r = 0,0004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- Concentration en masse d'acide éthanoïque dans le vin :

$$\rho_{(CH_3COOH; vin)} = c_{(CH_3COOH; D)} \times M_{CH_3COOH} \times \frac{100}{50}$$

- Masse molaire de l'acide éthanoïque :  $M_{CH_3COOH} = 60,05 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
- Incertitude type composée :  $u_c = 0,026 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  avec un facteur d'élargissement  $k = 2$  correspondant à un intervalle de confiance de 95 %.

## 1- Principe

L'ADN génomique des micro-organismes présents dans le vin à analyser est extrait par une méthode chimique. Puis, un fragment de 460 pb (paires de bases), appartenant au gène *GOX*, spécifique à *Gluconobacter*, est amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction).

La PCR permet d'obtenir une quantité importante de ce fragment d'ADN afin de pouvoir le détecter et de déterminer si l'échantillon de vin en cours de fermentation est contaminé par la bactérie *Gluconobacter*.

La présence d'ADN amplifié est détectée par électrophorèse en gel d'agarose. L'électrophorèse en gel d'agarose est une technique permettant de séparer et d'estimer la taille des molécules d'ADN par comparaison avec un marqueur de taille.

Placées dans un champ électrique, les molécules d'ADN migrent en fonction de leur taille. Une coloration après migration permet la mise en évidence des fragments d'ADN sous lumière ultraviolette (UV).

## 2- Conditions opératoires

### 2.1- Extraction d'ADN (déjà réalisée)

L'ADN des micro-organismes présents dans 10 mL de l'échantillon « Vin » est extrait par méthode chimique.

### 2.2- Amplification du gène *GOX* par PCR (déjà réalisée)

Le témoin d'amplification est un témoin d'efficacité en présence d'un ADN de référence. Il atteste du bon déroulement de la PCR.

#### - Composition des mélanges réactionnels

Réactifs	Témoin d'amplification (T1)	Témoin de non contamination (T2)	Essai (E)
Volume d'eau ultra-pure (µL)	35	36	35
Volume de tampon de réaction 5X (µL)	10	10	10
Volume de mélanges d'amorces 1 et 2 (µL)	2	2	2
Volume de dNTP (µL)	1	1	1
Volume d'ADN extrait du vin « V » (µL)	0	0	1
Volume d'ADN chromosomique extrait à partir d'une culture de <i>Gluconobacter</i> (µL)	1	0	0
Volume d'ADN polymérase thermorésistante ( <i>Taq pol</i> ) (µL)	1	1	1
Volume final dans le tube à PCR (µL)	50	50	50

### - Programmation du thermocycleur

Les trois étapes sont répétées trente fois :

- étape 1 : 30 secondes à 95 °C,
- étape 2 : 10 secondes à 52 °C,
- étape 3 : 60 secondes à 72 °C.

### **2.3- Détection du gène GOX par électrophorèse en gel d'agarose à 1,2 %**

#### - Échantillons et réactifs

- Les tubes issus de la PCR réalisée sur les deux témoins (tubes notés T1 et T2) et l'essai (tube noté E) ;
- Tampon de charge « TC » en microtube ;
- Marqueur de taille « M » en microtube.

#### - Préparation des témoins et de l'essai à déposer :

- Ajouter un volume de 10 µL de tampon de charge dans chaque tube issu de la PCR.
- Homogénéiser par aspiration - refoulement.

#### - Sur le gel d'agarose fourni, déposer :

- Un volume de 10 µL de marqueur de taille prêt à l'emploi ;
- Un volume de 10 µL pour les témoins et l'essai.
- La migration et la révélation du gel d'agarose sous UV seront réalisées par l'examineur.

### SUJET 2

*Durée : 3 heures – Coefficient de l'épreuve : 9  
L'usage de la calculatrice est autorisé*

#### **CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE LORS DE LA FABRICATION ARTISANALE D'UNE BIÈRE**

Lors de la fabrication d'une bière de Noël dans une brasserie artisanale, chaque hiver, un artisan constate des dysfonctionnements dans le processus de fermentation : le taux d'alcool obtenu est notamment inférieur à celui attendu.

Au cours de ce processus de fabrication, l'amidon contenu dans l'orge est hydrolysé par l'action des enzymes de la céréale, en divers glucides dont le maltose et le glucose. Cette étape permet d'obtenir le moût de fermentation. Il est ensuiteensemencé par des levures à  $J_0$ .

Le maltose, contenu dans le moût de fermentation, est hydrolysé en glucose qui est ensuite fermenté en éthanol par les levures. Cette étape, qui se déroule dans une cuve non thermostatée, est appelée fermentation alcoolique. Elle dure de 3 à 10 jours et se fait préférentiellement entre 15 et 25 °C. Cette condition est nécessaire au développement des levures.

Après l'ajout des levures, pour suivre la qualité du processus de fermentation alcoolique d'un lot de bière, des prélèvements sont effectués dans la cuve à différents temps ( $J_0$ ,  $J_2$ ,  $J_4$  et  $J_8$ ) et confiés pour analyse à un laboratoire.

Les contrôles de qualité nécessitent de :

- vérifier la pureté des prélèvements en  $J_0$  et  $J_8$  ;
- contrôler la présence de glucides par chromatographie sur couche mince (CCM) en  $J_0$  et  $J_8$  ;
- suivre la croissance de la souche de levures à quatre étapes :  $J_0$ ,  $J_2$ ,  $J_4$  et  $J_8$ .



## RÉFLEXION PRÉLIMINAIRE

*L'ensemble des questions de la réflexion préliminaire doit être validé par l'examinateur.*

Le dossier technique présente l'ensemble des fiches techniques et des documents nécessaires à la réalisation de l'épreuve.

La procédure opératoire de réalisation d'une chromatographie sur couche mince est donnée dans la **fiche technique 1**.

**Q1.** Réaliser un schéma légendé à taille réelle de la chromatoplaque en faisant apparaître la ligne de dépôt. En lien avec ce schéma, identifier une source d'erreur.

La procédure opératoire de suivi de la croissance des levures est donnée dans la **fiche technique 2**.

**Q2.** Repérer un point critique de la manipulation permettant la mesure de l'atténuation.

**Q3.** À partir du dossier technique, identifier un danger éventuel, en précisant sa nature, la voie d'exposition ou de transmission et une situation exposant au danger. Proposer si nécessaire la (les) mesure(s) de prévention adaptée(s).

## RÉALISATION PRATIQUE

*La réalisation pratique doit débiter par une **analyse des risques de l'ensemble des manipulations**. La mise en œuvre, par le candidat, des mesures de prévention appropriées à chaque manipulation est évaluée.*

*L'ordre de la réalisation pratique est laissé à l'initiative du candidat.*

*La réalisation pratique inclura la présentation des indications de mesure et/ou des observations réalisées sur le **cahier de laboratoire fourni**.*

### **1- CONTRÔLE DE PURETÉ DES PRÉLÈVEMENTS ISSUS DE LA FERMENTATION**

**M1.** Réaliser un état frais et son observation microscopique sur le prélèvement  $J_0$ .

→ **Présenter un champ microscopique à l'examinateur.**

**M2.** Réaliser un isolement du prélèvement  $J_0$  sur gélose Sabouraud. Puis effectuer la lecture du contrôle de pureté des deux géloses Sabouraud fournies ( $J_0$  et  $J_8$ ).

## **2- MISE EN ÉVIDENCE DES GLUCIDES PAR CCM**

**M3.** Réaliser la chromatographie sur couche mince des prélèvements  $J_0$  et  $J_8$ . Puis effectuer la lecture de la chromatoplaque (couleur des spots, d, D).

## **3. SUIVI DE LA CROISSANCE DES LEVURES**

**M4.** Réaliser la mesure de l'atténuation des prélèvements  $J_0$ ,  $J_2$ ,  $J_4$  et  $J_8$ .

# EXPLOITATION DES RÉSULTATS

## **1- CONTRÔLE DE PURETÉ DES PRÉLÈVEMENTS ISSUS DE LA FERMENTATION**

**Q4.** Interpréter vos observations de l'état frais, et conclure sur l'éventuel contaminant de la bière.

**Q5.** Interpréter les résultats de l'observation des géloses ensemencées et conclure sur une éventuelle contamination dans la cuve de fermentation, entre  $J_0$  et  $J_8$ .

## **2- MISE EN ÉVIDENCE DES GLUCIDES PAR CCM**

L'exploitation de la CCM est présentée dans le **document 1**.

**Q6.** À l'aide du **document 1**, calculer les rapports frontaux  $R_f$ .

**Q7.** Interpréter les résultats obtenus.

**Q8.** Conclure, en argumentant votre réponse, sur l'utilisation des glucides par les levures entre  $J_0$  et  $J_8$ .

## **3. SUIVI DE LA CROISSANCE DES LEVURES**

Le **document 2** présente les données de suivi de croissance des levures.

**Q9.** Calculer la concentration en nombre de levures,  $C_N$  (levures ; moût) en levures  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>.

**Q10.** Exprimer chaque résultat conformément aux règles de métrologie.

**Q11.** Conclure sur la croissance des levures entre  $J_0$  et  $J_8$ .

## **4. CONCLUSION**

**Q12.** En considérant les conditions de fabrication et l'ensemble des résultats, expliquer l'insuffisance du taux d'alcool obtenu au cours de cette fabrication.

# DOSSIER TECHNIQUE

## FICHES TECHNIQUES

- **Fiche technique 1** : Chromatographie sur couche mince
- **Fiche technique 2** : Mesure de la croissance des levures

## DOCUMENTS

- **Document 1** : Exploitation d'une CCM : détermination d'un rapport frontal
- **Document 2** : Données de suivi de croissance des levures



## DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE

- **Fiche technique** : Réalisation d'un état frais
- Aide-mémoire de métrologie

**1- Matériel et réactifs**

- Cuve saturée par la phase mobile (solvant de migration) ;
- Plaque de silice (dimensions fournies par le centre d'examen) ;
- Réactif révélateur ;
- Thermoventilateur ;
- Étuve à 100 °C ;
- Matériel de dépôt ;
- Deux solutions témoins de glucides : glucose (« G ») ; maltose (« M ») ;
- Échantillons J<sub>0</sub> et J<sub>8</sub>.

**2. Identification des dangers**

Produits	Identification du danger	Mentions d'avertissement	Mentions de danger
Solvant de migration		Danger	H225 : Liquide et vapeurs très inflammables. H319 : Provoque une sévère irritation des yeux. H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges. H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
Réactif révélateur		Danger	H225 : Liquide et vapeurs très inflammables. H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H335 : Peut irriter les voies respiratoires.

**3. Procédure opératoire**

*Remarque : les étapes de c à h sont réalisées sous hotte ventilée*

- À l'aide d'un crayon à papier, préparer la plaque de la manière suivante :
  - identifier la plaque,
  - tracer une ligne de dépôt à 1,5 cm du bord inférieur,
  - effectuer un premier et un dernier dépôt à au moins 0,5 cm du bord latéral.
- Réaliser les dépôts des deux solutions témoins choisies et des deux échantillons J<sub>0</sub> et J<sub>8</sub>, en séchant entre chaque dépôt.
- Introduire délicatement la plaque dans la cuve de migration.
- Laisser migrer la phase mobile jusqu'à environ 1 cm du haut de la plaque.
- Matérialiser par un trait au crayon le front du solvant.
- Sécher la plaque.
- Appliquer le réactif révélateur sur la plaque.
- Révéler l'apparition des spots en plaçant la plaque à l'étuve à 100 °C ou à l'aide du thermoventilateur.

**DOCUMENT 1****Exploitation d'une CCM  
Détermination d'un rapport frontal**

Le rapport frontal est calculé pour chaque molécule ayant été révélée par le chromatogramme :

- mesurer  $d$  correspondant à la distance en cm parcourue par la molécule ;
- mesurer  $D$  correspondant à la distance en cm parcourue par le solvant ;
- calculer  $R_f$  selon l'équation aux grandeurs suivantes :

$$R_f = \frac{d}{D}$$

Remarque : le  $R_f$  s'exprime avec 2 chiffres significatifs.

**FICHE TECHNIQUE 2****Mesure de la croissance des levures****Procédure opératoire :**

- Homogénéiser l'échantillon.
- Transférer 1 mL d'échantillon « moût de fermentation » en microcuve.
- Mesurer l'atténuation à 600 nm contre le blanc approprié.

L'atténuation est proportionnelle à la concentration en nombre de levures, lorsqu'elle est inférieure à 0,700.

**DOCUMENT 2****Données de suivi de croissance des levures**

Relation de correspondance : 1 unité d'atténuation à 600 nm correspond à  $1,0 \cdot 10^6$  levures  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>.

**Données métrologiques :**

Incertitude-type composée :  $u_c = 0,25 \cdot 10^5$  levures  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> avec un facteur d'élargissement  $k = 2$  correspondant à un intervalle de confiance de 95 %.

Une croissance satisfaisante est obtenue lorsque la concentration en nombre de levures augmente d'au moins  $10^5$  levures  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> en un jour.

### SUJET 3

*Durée : 3 heures – Coefficient de l'épreuve : 9*

*L'usage de la calculatrice est autorisé*

#### MISE AU POINT D'UN PANSEMENT À BASE DE MIEL THÉRAPEUTIQUE

L'activité antiseptique, cicatrisante et anti-inflammatoire des miels est connue et exploitée de manière empirique depuis l'antiquité. L'activité antiseptique est liée, en particulier, à la présence de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).

Le peroxyde d'hydrogène est produit par oxydation du glucose présent dans le miel grâce à la glucose oxydase (GOD), enzyme sécrétée par l'abeille.



Ainsi, le miel délivre en continu une petite concentration d' $H_2O_2$  dont l'effet bactéricide a été démontré.

Un laboratoire de recherche pharmaceutique travaille sur la mise au point d'un type de pansements antiseptiques à base de miel thérapeutique pour une utilisation dans les services hospitaliers. Les travaux du laboratoire portent sur :

- l'étude de l'activité antibactérienne totale du miel ;
- la détermination de l'activité de la GOD du miel, reflet de la production d' $H_2O_2$  ;
- la vérification de la qualité microbiologique du miel, car sa stérilisation est exclue pour préserver l'activité de la GOD.

Le miel est souvent pâteux. Il doit subir une dissolution pour faciliter sa manipulation. Pour cela, 1 g de miel a été dissous dans 9 mL d'eau physiologique stérile. La solution obtenue est notée « M ».

## RÉFLEXION PRÉLIMINAIRE

*L'ensemble des questions de la réflexion préliminaire doit être validé par l'examineur.*

Le dossier technique présente l'ensemble des fiches techniques et des documents nécessaires à la réalisation de l'épreuve.

La **fiche technique 1** fournit la procédure opératoire de l'étude de l'activité antibactérienne totale du miel.

**Q1.** Analyser la **fiche technique 1** pour mettre en évidence deux sources d'erreurs possibles liées à cette manipulation.

L'activité de la GOD, reflet de la production d' $H_2O_2$  du miel, est déterminée par une méthode cinétique à deux points, dont la procédure opératoire est présentée dans la **fiche technique 2**.

**Q2.** Déterminer la longueur d'onde optimale pour la détermination de l'activité de la GOD du miel.

**Q3.** À partir du dossier technique, identifier un danger éventuel, sa nature, sa voie d'exposition ou de transmission, puis une situation exposante. Proposer le cas échéant la (ou les) mesure(s) de prévention adaptée(s).

## RÉALISATION PRATIQUE

*La réalisation pratique doit débuter par une **analyse des risques de l'ensemble des manipulations**. La mise en œuvre, par le candidat, des mesures de prévention appropriées à chaque manipulation est évaluée.*

*L'ordre de la réalisation pratique est laissé à l'initiative du candidat.*

*La réalisation pratique inclura la présentation des indications de mesure et/ou des observations réalisées sur le **cahier de laboratoire fourni**.*

### **1- ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE TOTALE DU MIEL**

**M1.** Mettre en œuvre la procédure décrite dans la **fiche technique 1**.

→ **Appeler l'examineur pour obtenir les tubes après incubation.**

Procéder à la lecture des tubesensemencés et incubés fournies.

### **2. DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ DE LA GOD DU MIEL**

**M2.** Procéder à la détermination de la concentration d'activité catalytique de la GOD dans la solution «  $M_{GOD}$  », par la méthode « deux points ».

### **3. VÉRIFICATION DE LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU MIEL**

La vérification de la qualité microbiologique du miel thérapeutique est présentée dans la **fiche technique 3**.

**M3.** Réaliser la recherche d'un contaminant microbiologique à partir du bouillon « M enrichi ». Une boîte obtenue après 48 h d'incubation à 37 °C est fournie par l'examineur. Réaliser la lecture macroscopique de la gélose Baird Parker fournie.

## **EXPLOITATION DES RÉSULTATS**

### **1- ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE TOTALE DU MIEL**

**Q4.** Analyser les témoins permettant de valider la technique.

**Q5.** Déterminer le facteur de dilution de la solution « M » dans les tubes 4 et 5. Compléter le tableau de la **fiche technique 1** (à rendre avec la copie).

**Q6.** Déterminer le plus grand facteur de dilution de la solution « M » permettant d'inhiber la croissance bactérienne. Argumenter la réponse.

### **2. DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ DE LA GOD DU MIEL**

**Q7.** En s'appuyant sur l'aide-mémoire de métrologie et sur le **document 1**, vérifier l'exactitude de mesure à l'aide du contrôle.

**Q8.** À partir des résultats de mesure, déterminer la valeur de  $\left(\frac{\Delta A}{\Delta t}\right)_i$ , reflet de la vitesse initiale de la réaction catalysée par la GOD, obtenue pour la solution « M<sub>GOD</sub> ».

**Q9.** Calculer la valeur du volume de milieu réactionnel  $V_{MR}$  en L.

**Q10.** À l'aide du **document 1**, écrire les équations aux unités, aux valeurs numériques et effectuer le calcul de la concentration d'activité catalytique de la GOD dans la solution « M<sub>GOD</sub> »,  $b_{(GOD ; solution M_{GOD})}$  en  $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ .

**Q11.** Convertir  $b_{(GOD ; solution M_{GOD})}$  en  $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

**Q12.** Exprimer le résultat de mesure  $b_{(GOD ; solution M_{GOD})}$  conformément aux règles de métrologie.

### **3. VÉRIFICATION DE LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU MIEL**

**Q13.** Analyser les résultats de culture obtenus sur la gélose Baird Parker.



#### **4. CONCLUSION**

**Q14.** Indiquer si les propriétés du miel « M » mises en évidence sont intéressantes dans le cadre d'un usage thérapeutique.

## **DOSSIER TECHNIQUE**

### **FICHES TECHNIQUES**

- **Fiche technique 1** : Étude de l'activité antibactérienne totale du miel.
- **Fiche technique 2** : Détermination de la concentration d'activité catalytique de la GOD du miel.
- **Fiche technique 3** : Vérification de la qualité du miel thérapeutique.

### **DOCUMENTS**

- **Document 1** : Données d'exploitation de la cinétique de la GOD étudiée par la méthode « deux points ».

### **DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE**

- Aide-mémoire de métrologie

## À RENDRE AVEC LA COPIE

NOM :

**1- Principe**

L'efficacité antibactérienne totale des miels est testée en pratiquant différentes dilutions de la solution de miel pour déterminer le facteur de dilution le plus fort permettant d'inhiber une croissance bactérienne.

**2. Matériel et réactifs**

- Inoculum d'une souche de référence de classe 1 noté « INO » ;
- 5 tubes à hémolyse stériles ;
- 5 mL de bouillon ordinaire stérile noté « BO » ;
- 3 mL de solution de miel dissous «M» ;
- Matériel usuel de laboratoire.

**3. Procédure opératoire**

Gamme de dilutions de la solution de miel « M » :

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de bouillon ordinaire stérile (mL)	1	0	1	1	1
Volume de solution « M » (mL)	0	1	1	1	1
Volume redistribué (mL)				1	1
Volume d'inoculum (mL)	1	1	1	1	1
Facteur de dilution finale de la solution « M »		2	4		

1 mL à éliminer

Incuber après homogénéisation 24 h à 37 °C.

**4. Interprétation**

Le miel ayant la plus grande efficacité antibactérienne totale est celui qui inhibe la croissance bactérienne en étant le plus dilué.

## 1- Principe de la détermination de la concentration d'activité catalytique de la GOD

La capacité d'un miel à produire du  $H_2O_2$  est déterminée par la mesure de l'activité de la GOD potentiellement présente.

La GOD catalyse l'oxydation du glucose en présence de dioxygène en produisant de l'acide gluconique et du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ . En présence de glucose en excès, une mesure de l'activité catalytique de la GOD est possible selon les réactions suivantes :

<p>glucose oxydase</p> $\text{Glucose} + O_2 \longrightarrow \text{acide gluconique} + H_2O_2$ <p>Le peroxyde d'hydrogène (<math>H_2O_2</math>) formé est dosé selon la réaction suivante :</p> $2H_2O_2 + \text{phenol} + \text{amino-4 antipyrine} \xrightarrow{\text{peroxydase}} \text{quinonéimine} + 4 H_2O$	<p><b>Composition du réactif noté « R »</b></p> <table> <tbody> <tr> <td>Tampon phosphate pH 6,6</td> <td>225 mmol · L<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td>Glucose</td> <td>333 mmol · L<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td>Amino-4-antipyrine</td> <td>0,3 mmol · L<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td>Phénol</td> <td>8,5 mmol · L<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td>EDTA</td> <td>5 mmol · L<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td>Peroxydase</td> <td>≥ 300 U · L<sup>-1</sup></td> </tr> </tbody> </table>	Tampon phosphate pH 6,6	225 mmol · L <sup>-1</sup>	Glucose	333 mmol · L <sup>-1</sup>	Amino-4-antipyrine	0,3 mmol · L <sup>-1</sup>	Phénol	8,5 mmol · L <sup>-1</sup>	EDTA	5 mmol · L <sup>-1</sup>	Peroxydase	≥ 300 U · L <sup>-1</sup>
Tampon phosphate pH 6,6	225 mmol · L <sup>-1</sup>												
Glucose	333 mmol · L <sup>-1</sup>												
Amino-4-antipyrine	0,3 mmol · L <sup>-1</sup>												
Phénol	8,5 mmol · L <sup>-1</sup>												
EDTA	5 mmol · L <sup>-1</sup>												
Peroxydase	≥ 300 U · L <sup>-1</sup>												
<p>L'activité de la GOD est mesurée grâce à l'apparition d'un chromophore, la quinonéimine dans le milieu réactionnel (MR). L'intensité de la coloration est mesurée par spectrophotométrie.</p> <p>Ci-contre, le spectre d'absorption de la quinonéimine.</p>													

La réaction enzymatique mise en jeu est caractérisée par une période initiale d'environ 7 minutes dans les conditions opératoires proposées.

## 2. Réactifs et matériel : disposés à proximité du spectrophotomètre

- Réactif R (pas de risque chimique associé au réactif R) ;
- Solution de miel, notée «  $M_{GOD}$  » ;
- 1 chronomètre ;
- Matériel usuel de laboratoire.

## 3. Procédure opératoire

- Réaliser une cinétique à deux points directement en macrocuve au spectrophotomètre ;
- Ajouter 2 mL de réactif R ;
- Réaliser le zéro optique ;
- Déclencher la réaction par ajout de 100  $\mu$ L de la solution «  $M_{GOD}$  » ;

- Homogénéiser immédiatement ;
- Mesurer l'absorbance :
  - à **60 secondes** d'incubation à température ambiante ;
  - à **180 secondes** d'incubation dans les mêmes conditions (la mesure se fait à partir de la même cuve).

Un contrôle a été réalisé le matin même dans les mêmes conditions que l'essai.

La valeur mesurée pour le contrôle ainsi que l'intervalle d'acceptabilité sont fournis dans le **document 1**.

<b>FICHE TECHNIQUE 3</b>	<b>Vérification de la qualité microbiologique du miel thérapeutique</b>
--------------------------	---

L'eau disponible dans les miels étant très faible, le développement microbien y est défavorable.

Cependant, certains germes pathogènes peuvent y être présents en faible nombre.

Ce miel étant amené à être appliqué sur des plaies, il doit donc respecter un certain nombre de critères microbiologiques :

- charge microbiologique inférieure à  $30 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$  de germes mésophiles ;
- absence de coliformes thermotolérants ;
- absence de germes pathogènes notamment *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

La solution « M » est placée dans un milieu d'enrichissement afin de favoriser la croissance des microorganismes éventuellement présents dans le miel. Après incubation, le bouillon d'enrichissement obtenu est noté « M enrichi ».

### 1- Matériel

- 1 gélose Baird Parker notée « BP » ;
- 1 râteau ou des billes stériles ;
- Un bouillon d'enrichissement du miel « M » noté « M enrichi ».

### 2. Procédure opératoire

- Déposer 0,1 mL du bouillon « M enrichi » sur la gélose Baird Parker ;
- Étaler à l'aide de billes ou d'un râteau le volume déposé ;
- Incuber la boîte à l'étuve à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

### 3. Exploitation des résultats

Le milieu Baird Parker est un **milieu sélectif et différentiel**, permettant l'identification de ***S. aureus***.

Caractère observé	Observation	Interprétation	Conclusion
Culture en présence d'inhibiteur	Présence de culture	Bactérie résistante au tellurite de potassium et au chlorure de lithium	Suspicion de <i>Staphylococcus</i>
Recherche de la réduction du tellurite en tellure	Coloration noire ou brune de la colonie	Réduction du tellurite en tellure	Tellurite +
	Pas de coloration noire de la colonie	Pas de réduction du tellurite en tellure	Tellurite -
Recherche d'une lipoprotéinase	Halo transparent autour des colonies	Hydrolyse des lipoprotéines du jaune d'œuf	Lipoprotéinase +
	Pas de halo	Absence d'hydrolyse des lipoprotéines du jaune d'œuf	Lipoprotéinase -

Dans le genre *Staphylococcus*, seuls les *S. aureus* réduisent le tellurite, sécrètent des lipoprotéinases, et parfois des lécithinases (caractérisées par un liseré blanc autour des colonies).

### 4. Interprétation des résultats

Le miel est inutilisable pour un usage thérapeutique dès lors que la présence d'une colonie de *S. aureus* est observée.

Des tests complémentaires devront être réalisés en cas de présence de colonies de *Staphylococcus* autre que *S. aureus*. Dans l'attente des résultats de ces tests, le miel ne pourra pas être utilisé pour un usage thérapeutique.

**Calcul de la concentration d'activité catalytique en  $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$** 

$$b_{(\text{GOD}; \text{solution } M_{\text{GOD}})} = \left( \frac{\Delta A}{\Delta t} \right)_i \times \frac{1}{\varepsilon_{\text{quinonéimine}} \times \ell} \times \frac{V_{\text{MR}}}{V_{\text{solution } M_{\text{GOD}}}} \times 10^6$$

- $b_{(\text{GOD}; \text{solution } M_1)}$  : concentration d'activité catalytique de la GOD de la solution « M » en  $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
- $\left( \frac{\Delta A}{\Delta t} \right)_i$  : différence d'absorbance par unité de temps (en secondes) pendant la période initiale en  $\text{s}^{-1}$
- $\varepsilon_{\text{quinonéimine}}$  : coefficient linéique d'absorption à pH 7 :  $7\,902 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- $\ell$  : longueur du trajet optique ;  $\ell = 1 \text{ cm}$
- $V_{\text{MR}}$  : volume de milieu réactionnel en L
- $V_{\text{solution } M_{\text{GOD}}}$  : volume de solution «  $M_{\text{GOD}}$  » testé en mL

**Valeur mesurée pour le contrôle :**

$$b_{(\text{GOD}; \text{solution}; \text{contrôle})} = 3,46 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$$

**Données métrologiques**

L'intervalle d'acceptabilité pour le contrôle est  $[3,3 - 3,7] \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$

Pour calculer l'incertitude élargie, le facteur d'élargissement choisi est  $k = 2$ , correspondant à un intervalle de confiance de 95 %, et l'incertitude type composée est  $u_c = 0,0025 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

**Données sur les unités :**

L'unité d'activité enzymatique (U) est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour hydrolyser 1  $\mu\text{mole}$  de substrat par minute dans les conditions de l'expérience.

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## Évaluation des compétences expérimentales

### SUJET 4

*Durée : 3 heures – Coefficient de l'épreuve : 9  
L'usage de la calculatrice est autorisé*

#### CONTRÔLE DU PRINCIPE ACTIF D'UN MÉDICAMENT

Le lysozyme est une protéine enzymatique utilisée dans l'industrie pharmaceutique. Il entre dans la composition de certains médicaments utilisés contre les maux de gorge, comme la Lysopaïne®.

Le principe actif de ce médicament est basé sur sa capacité à lyser les liaisons  $\beta$ 1-4 osidiques du peptidoglycane composant la paroi des bactéries.

Un laboratoire souhaite produire et commercialiser un générique de ce médicament. Pour cela, il doit contrôler le principe actif de son extrait de lysozyme (extrait L) par un dosage de l'activité enzymatique.

Le substrat utilisé pour le test est une suspension d'une souche de *Micrococcus lysodeikticus*. Le laboratoire souhaite produire lui-même ce substrat et doit donc vérifier l'identité de la souche-test.

Pour cela, il réalise :

- la détermination de l'activité enzymatique spécifique ;
- la vérification de l'identité de la souche-test.

Pour être conforme aux exigences de la fabrication du médicament générique, l'activité spécifique du lysozyme doit être supérieure ou égale à  $120 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ .

## RÉFLEXION PRÉLIMINAIRE

***L'ensemble des questions de la réflexion préliminaire doit être validé par l'examineur.***

Le dossier technique présente l'ensemble des fiches techniques et des documents nécessaires à la réalisation de l'épreuve.

La **fiche technique 2** présente la détermination de la concentration de l'activité catalytique du lysozyme dans l'extrait L.

**Q1.** Identifier deux points critiques de la procédure opératoire de la **fiche technique 2** pouvant induire une erreur de mesure. Argumenter la réponse.

**Q2.** À partir du dossier technique, identifier un danger éventuel, en précisant sa nature, la voie d'exposition ou de transmission, et une situation exposant au danger. Proposer, si nécessaire la (les) mesure(s) de prévention adaptée(s).

## RÉALISATION PRATIQUE

*La réalisation pratique doit débuter par une **analyse des risques de l'ensemble des manipulations**. La mise en œuvre, par le candidat, des mesures de prévention appropriées à chaque manipulation est évaluée.*

*L'ordre de la réalisation pratique est laissé à l'initiative du candidat.*

*La réalisation pratique inclura la présentation des indications de mesure et/ou des observations réalisées sur le **cahier de laboratoire fourni**.*

### **1- DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE DU LYSOZYME**

La **fiche technique 1** présente le dosage des protéines dans l'extrait L par la méthode du biuret.

**M1.** Réaliser le dosage des protéines de l'extrait L.

**M2.** Réaliser la détermination de l'activité du lysozyme de l'extrait L.

### **2. VÉRIFICATION DE L'IDENTITÉ DE LA SOUCHE-TEST**

La souche-test est isolée sur gélose nutritive.

**M3.** Réaliser une coloration de Gram à partir de la souche-test.

→ **Présenter le champ microscopique à un examinateur.**

Le **document 1** présente les critères d'identification de différents genres de coques.

**M4.** Effectuer le test enzymatique approprié à partir d'une colonie isolée.



## **1- DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE DU LYSOZYME**

### **1.1- Dosage des protéines par la méthode du biuret**

**Q3.** Écrire les équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques et calculer la concentration en masse de protéines de l'extrait L  $\rho_{(protéines ; extrait L)}$  en  $g \cdot L^{-1}$  pour les deux essais.

**Q4.** Vérifier la compatibilité métrologique des valeurs obtenues.

**Q5.** Exprimer la concentration en masse de protéines dans l'extrait L en conformité avec les règles métrologiques.

### **1.2 Détermination de l'activité enzymatique spécifique du lysozyme**

**Q6.** Établir l'équation aux grandeurs permettant de calculer la variation d'atténuation ( $\Delta D$ ) par minute dans la cuve de mesure. Écrire l'équation aux valeurs numériques puis effectuer le calcul.

→ ***Faire valider par l'examinateur***

**Q7.** Établir l'équation aux valeurs numériques puis calculer la concentration d'activité catalytique  $b_{(lysozyme ; extrait L)}$  en  $U \cdot mL^{-1}$  de l'extrait de lysozyme.

L'activité spécifique est un critère de pureté pour les enzymes. Elle s'exprime en nombre d'unités d'activité enzymatique par gramme de protéines.

**Q8.** Écrire l'équation aux unités, aux valeurs numériques puis calculer l'activité spécifique de l'extrait de lysozyme  $Z_{sp(extrait L)}$  en  $U \cdot mg^{-1}$  selon l'équation aux grandeurs suivante :

$$Z_{sp(extrait L)} = \frac{b_{(lysozyme ; extrait L)}}{\rho_{(protéines ; extrait L)}}$$

**Q9.** À partir de l'activité spécifique  $Z_{sp(extrait L)}$ , préciser si l'extrait L convient à la préparation du médicament générique.

## **2. VÉRIFICATION DE L'IDENTITÉ DE LA SOUCHE-TEST**

**Q10.** Interpréter les résultats de la coloration de Gram et du test enzymatique choisi.

Le **document 2** présente la recherche du type respiratoire à l'aide d'une gélose Viande-Foie (VF).

**Q11.** Compléter cette interprétation après lecture du type respiratoire, à partir de la gélose VF fournie par le centre et ensemencée avec la souche test.

**Q12.** Valider ou non l'appartenance de la souche test au genre *Micrococcus*.

# DOSSIER TECHNIQUE

## FICHES TECHNIQUES

- **Fiche technique 1** : Dosage des protéines dans l'extrait L par la méthode du biuret.
- **Fiche technique 2** : Détermination de la concentration d'activité catalytique du lysozyme dans l'extrait L.

## DOCUMENTS

- **Document 1** : Critères d'identification des différents genres de coques.
- **Document 2** : Recherche du type respiratoire à l'aide de la gélose viande-foie (VF).

## DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE

- **Fiche technique** : Frottis et coloration de Gram.
- **Fiche technique** : Recherche de l'oxydase et de la catalase.
- Aide-mémoire de métrologie.

<b>FICHE TECHNIQUE 1</b>	<b>Dosage des protéines dans l'extrait L par la méthode du biuret</b>
--------------------------	---

### Principe

Le dosage des protéines est réalisé selon la technique du biuret.

En milieu alcalin, les protéines qui possèdent au moins 4 liaisons peptidiques forment avec les ions cuivre II ( $\text{Cu}^{2+}$ ) du réactif de Gornall un complexe bleu-violet dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en protéines (la concentration en masse doit être inférieure ou égale à  $10,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

### Réactifs

**Extrait L** : solution de lysozyme à doser ;

**Solution E** : solution étalon d'albumine bovine à  $2,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;

Eau physiologique ;

Réactif de Gornall en distributeur de 2 mL.

## Procédure opératoire

Introduire directement en macrocuvettes :

	Blanc réactif	Étalon	Essai
Volume d'eau physiologique (mL)	1	-	-
Volume de solution E (mL)	-	1	-
Volume d'extrait L (mL)	-	-	1
Volume de réactif de Gornall (mL)	2	2	2

- Réaliser l'essai en double.
- Homogénéiser.
- Placer 30 minutes à l'obscurité.
- Lire les absorbances à 540 nm contre le blanc.

## Données de sécurité concernant le réactif de Gornall



### **Danger**

H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves

## Exploitation des résultats

Modèle de mesure permettant le calcul de la concentration en masse de protéines dans l'extrait L :

$$\frac{\rho(\text{protéines ; extrait L})}{\rho(\text{protéines ; solution étalon})} = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{étalon}}}$$

## Données métrologiques

- Écart-type de répétabilité,  $s_r = 0,03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
- Incertitude-type composée :  $u_c = 0,05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  avec un facteur d'élargissement  $k = 2$ .

### Principe de la mesure

La concentration d'activité catalytique est déterminée en mesurant au cours du temps la diminution de turbidité consécutive à la lyse d'une suspension bactérienne.

La baisse de turbidité est évaluée en mesurant l'atténuation ( $D$ ) à 450 nm (lue comme une absorbance au spectrophotomètre).

L'unité d'activité enzymatique (U) est définie comme étant la quantité d'enzyme qui provoque une diminution de 0,001 unité d'atténuation à 450 nm par minute dans les conditions de l'expérience et à température ambiante, et en utilisant comme substrat une suspension de *Micrococcus lysodeikticus*.

### Réactifs

- **Suspension S** (substrat) : suspension de *Micrococcus lysodeikticus* à  $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  en tampon phosphate de sodium à  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH = 6,2
- **Extrait L** : solution de lysozyme à doser
- **Tampon phosphate de sodium** à  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH = 6,2

### Procédure opératoire

Le zéro du spectrophotomètre sera réalisé avec du tampon phosphate de sodium à  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH = 6,2.

- Homogénéiser la suspension S.
- Dans une macrocuvette, introduire 2,90 mL de suspension S.
- Homogénéiser puis relever l'atténuation  $D_1$  à 450 nm.
- Ajouter un volume  $V_e$  égal à 0,1 mL d'extrait L. Homogénéiser. Déclencher le chronomètre.
- Homogénéiser puis relever l'atténuation  $D_2$  après deux minutes exactement.

### Exploitation des résultats

Équation aux grandeurs de la concentration d'activité catalytique  $b_{(\text{lysozyme ; extrait L})}$  en  $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$  de l'extrait de lysozyme :

$$b_{(\text{lysozyme ; extrait L})} = \left| \frac{\Delta D}{\Delta t} \right| \times \frac{1}{0,001} \times \frac{1}{V_e} \quad \text{avec } V_e \text{ en mL et } \Delta t \text{ en minutes}$$

<b>DOCUMENT 1</b>	<b>Critères d'identification de différents genres de coques</b>
-------------------	---

Genres Caractères	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Neisseria</i>
Gram	+	+	+	-
Mode de groupement	Chaînes ou paires	Amas, plans irréguliers	Amas irréguliers ou tétrades	Paires
Test enzymatique	Catalase -	Catalase +	Catalase +	Oxydase +
Type respiratoire	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultatif	Aérobie strict	Aérobie strict

<b>DOCUMENT 2</b>	<b>Recherche du type respiratoire à l'aide de la gélose viande-foie (VF)</b>
-------------------	--

### 1- Composition de la gélose VF en g · L<sup>-1</sup>

Base viande foie	30
Glucose	2
Agar	6

### 2- Principe

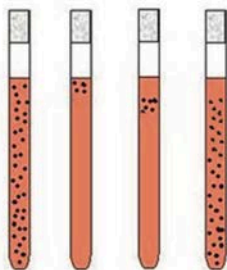
Le milieu VF est conditionné en tube fin. Après l'ensemencement, le dioxygène contenu dans l'air pénètre à partir de la surface de la gélose pour former un gradient de dioxygène. Les bactéries cultivent dans la zone où les conditions d'oxygénation leur permettent de vivre et de se multiplier.

### 3- Utilisation

- Régénérer le milieu avant utilisation en le portant pendant 20 minutes à 100 °C pour éliminer les gaz dissous.
- Ensemencement : faire une piqûre centrale puis remonter en spirale.
- Ne pas visser complètement le bouchon.

### 3- Lecture et interprétation de la gélose VF

A B C D



**A** : Type respiratoire **aéro-anaérobie facultatif**

**B** : Type respiratoire **aérobie stricte**

**C** : Type respiratoire **micro-aérophile**

**D** : Type respiratoire **anaérobie stricte**

Résultats  
après incubation 24 h à 37 °C

## Aide-mémoire de métrologie - bac STL Biotechnologies-session 2021

On considère que les qualités de justesse et de fidélité des procédures de mesure utilisées ont été étudiées et reconnues.

### 1. Vérification de la bonne exécution de la procédure

Lorsqu'un mesurage est effectué, deux types de vérification sont possibles afin de pouvoir accepter les valeurs mesurées obtenues pour des échantillons inconnus.

On peut effectuer, dans la même série de mesurages :

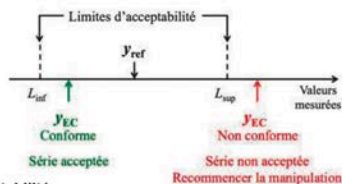
- un essai sur un étalon de contrôle ; la valeur mesurée obtenue est notée  $y_{EC}$ .
- un ou deux essais sur chacun des échantillons à doser.

#### 1.1 Vérification de l'exactitude de mesure à l'aide d'un étalon de contrôle

On dispose d'un étalon de contrôle avec sa valeur conventionnelle ( $y_{ref}$ ) ainsi que ses limites d'acceptabilité ( $L_{inf}$  et  $L_{sup}$ ). On recherche si la valeur mesurée ( $y_{EC}$ ) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit :  $L_{inf} \leq y_{EC} \leq L_{sup}$

**Si la valeur mesurée  $y_{EC}$  appartient à l'intervalle d'acceptabilité :**

- la valeur mesurée  $y_{EC}$  est **exacte**, donc **conforme** ; l'exécution de la procédure de mesure est satisfaisante dans les conditions du jour ;
- en conséquence, les valeurs mesurées obtenues pour les échantillons inconnus dans la même série sont **acceptées**.

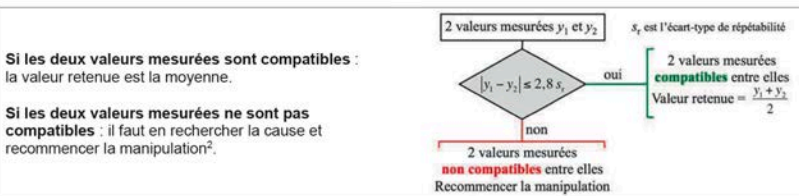


**Si la valeur mesurée  $y_{EC}$  n'appartient pas à l'intervalle d'acceptabilité :**

- la valeur mesurée  $y_{EC}$  n'est **pas exacte** donc **non conforme** ; l'exécution de la procédure de mesure n'est pas satisfaisante dans les conditions du jour ;
- en conséquence, les valeurs mesurées de toute la série **ne sont pas acceptées** ; il faut rechercher l'origine de la mauvaise exactitude avant de recommencer la manipulation<sup>1</sup>.

#### 1.2 Vérification de la compatibilité métrologique dans le cas de deux essais effectués en répétabilité

Soient deux valeurs mesurées ( $y_1$  et  $y_2$ ) pour un même échantillon et l'écart-type de répétabilité ( $s_r$ ) de la procédure de mesure correspondant à cet échantillon. Le logigramme de compatibilité à appliquer est le suivant :



### 2. Guide pour l'expression du résultat de mesure

L'incertitude élargie ( $U$ ) est directement donnée avec son niveau de confiance ou calculée en multipliant l'incertitude-type composée ( $u_c$ ) par le facteur d'élargissement  $k$ , par exemple  $k = 2$  pour un niveau de confiance de 95 %.

L'incertitude élargie est ensuite arrondie. Selon les cas :

- si le premier chiffre significatif est 1, 2, 3 ou 4 : garder deux chiffres significatifs après arrondissement ;
- si le premier chiffre significatif est 5 ou plus : garder un chiffre significatif après arrondissement.

La valeur retenue du résultat est arrondie de la façon suivante : le dernier chiffre significatif doit être à la même position décimale que le dernier chiffre de l'incertitude élargie.

**Expression du résultat de mesure :**

**Grandeur mesurée (analyse ; système) = (valeur retenue  $\pm U$ ) unité**

1.2. Si pour des raisons matérielles, il n'est pas possible de recommencer les manipulations, le candidat poursuivra l'exploitation de ses valeurs mesurées afin d'exprimer un résultat de mesure de façon complète mais en signalant clairement que ce résultat n'est pas « acceptable » au sens métrologique.

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## Épreuve orale de contrôle du second groupe d'épreuves

*Temps de préparation : 20 minutes*

*Durée épreuve : 20 minutes  
(exposé 10 minutes maximum, suivi d'un entretien avec le jury)*

*Coefficient de l'épreuve : 16*

### DÉFENSES IMMUNITAIRES ANTIBACTÉRIENNES

L'objectif est d'élucider le rôle des anticorps dans l'organisme suite à une infection bactérienne puis d'explorer une technique permettant leur recherche dans le sérum d'un patient.

#### Partie 1. Rôle des anticorps

Lors d'une infection bactérienne, une réaction immunitaire se déclenche entraînant la synthèse d'anticorps par l'organisme.

- Analyser le **document 1** et en déduire le rôle et la propriété principale des anticorps mis en évidence dans les expériences.
- À l'aide du **document 2**, expliquer le rôle des anticorps dans la phagocytose.

#### Partie 2. Recherche et dosage des anticorps dans un sérum au laboratoire

La sérologie est un examen de biologie médicale fondé sur la recherche et le dosage d'anticorps spécifiques dans le sérum afin de poser un diagnostic notamment lors d'infection bactérienne.

Le **document 3** présente le mode opératoire du sérodiagnostic d'une infection bactérienne par la méthode d'immunodiffusion double d'Ouchterlony.

- Établir les équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques permettant de calculer la masse d'agar à peser pour préparer 200 mL de gel à 1,5 % (soit 1,5 g d'agar dans 100 mL de gel).
- Effectuer la lecture des témoins à partir de la boîte fournie. Conclure.
- Observer puis interpréter le résultat du patient. Conclure.



Par une méthode immunoenzymatique, le dosage des anticorps spécifiques du patient a donné le résultat brut suivant :

$$C(\text{anticorps spécifiques ; sérum du patient}) = 30,56 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$$

- Exprimer correctement le résultat de mesure, sachant que l'incertitude-type composée  $u_c$  est égale à  $2,5 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$  et que le facteur d'élargissement  $k$  est égal à 2.

**DOCUMENT 1 : Mise en évidence du rôle et de la propriété principale des anticorps**

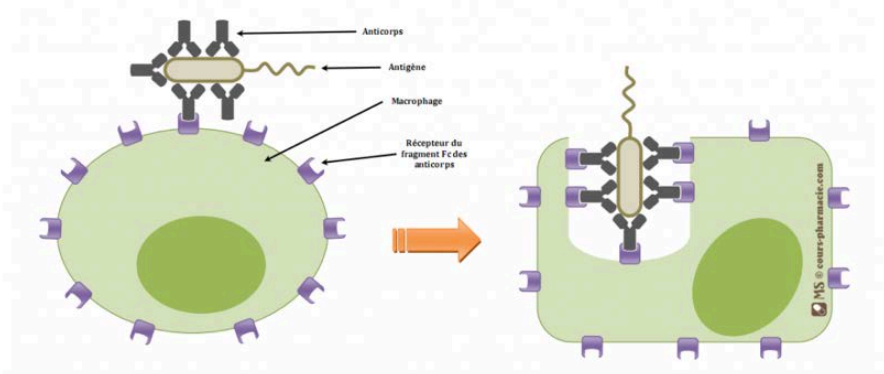
La toxine tétanique est produite par la bactérie *Clostridium tetani*. Elle est mortelle pour la souris.

La toxine botulique est produite par la bactérie *Clostridium botulinum*. Elle est mortelle pour la souris.

Expériences	Observations
On injecte l'anticorps anti-toxine tétanique puis on inocule la bactérie <i>Clostridium tetani</i> à une souris.	La souris survit
On injecte l'anticorps anti-toxine botulique puis on inocule la bactérie <i>Clostridium botulinum</i> à une souris.	La souris meurt

**DOCUMENT 2 : Rôle des anticorps au cours de la phagocytose**

(source : cours-pharmacie.com)



## DOCUMENT 3 : Sérodiagnostic d'une infection bactérienne par méthode d'Ouchterlony

### 1- Réactifs

- 1 boîte de Pétri contenant 5 mL de gel d'agar à 1,5 % dans du tampon PBS (phosphate buffered saline) pH = 7,2 ;
- Solution antigénique bactérienne ;
- Sérum du patient P ;
- Sérum témoin négatif noté S- ;
- Sérum témoin positif noté S+.



### 2- Mode opératoire

Dans les puits réalisés dans le gel d'agar, sont déposés :

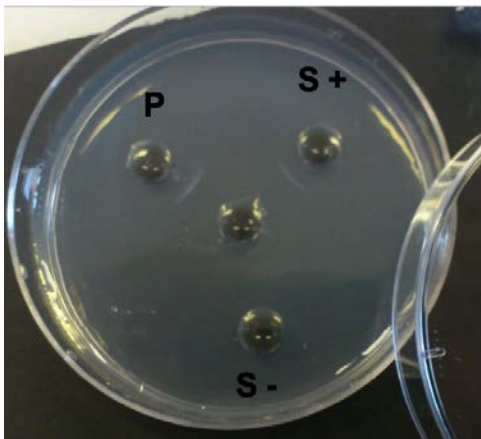
dans le puits central, 10  $\mu$ L de solution antigénique bactérienne ;  
dans les puits périphériques, 10  $\mu$ L des diverses solutions de sérum.

Placer la boîte en chambre humide, à température ambiante, pendant 48 h.

### À disposition du candidat dans le laboratoire :

Aide-mémoire de métrologie

Boîte de Pétri présentant les résultats du test d'Ouchterlony :



# ÉLÉMENTS DE CORRECTION 2023

## ÉLÉMENTS DE CORRECTION

---

---

Ces quelques corrigés, vous sont proposés pour vous aider dans la résolution de certaines épreuves proposées au baccalauréat.

**Ils ne seront d'aucune utilité si vous vous contentez de lire les réponses sans avoir fait l'effort personnel de la réflexion et de la recherche des réponses aux questions posées.**

Ces corrigés ne sont pas des modèles imposés ; d'autres démarches de raisonnement sont possibles.

En particulier pour les questions de synthèse, en seconde partie des sujets de spécialité Biochimie, Biologie et Biotechnologies, les corrigés proposés ne sont que des propositions. **D'autres rédactions sont possibles.**

Enfin, des imprécisions et/ou des erreurs ont pu se glisser dans les textes, veuillez-nous en excuser.

## SUJET 1 PHYSIQUE-CHIMIE / MATHÉMATIQUES ÉLÉMENTS DE CORRECTION

### EXERCICE 1 (4 points) (Physique - Chimie et Mathématiques)

1. Évolution de la vitesse de la voiture au cours du temps :

**1<sup>ère</sup> méthode :**

La vitesse de la voiture en tout point est égale au coefficient directeur de la tangente à la courbe à chaque  $x(t)$ . Or ces tangentes à la courbe deviennent progressivement parallèles à l'axe des abscisses jusqu'à 0,5 s, temps à partir duquel toutes les tangentes à la courbe deviennent parallèles à l'axe des abscisses jusqu'à au moins 0,8 s. Donc la vitesse de la voiture décroît jusqu'à 0,5 s puis devient nulle à partir de 0,5 s jusqu'à 0,8 s.

**2<sup>de</sup> méthode :**

En utilisant la courbe  $f(x)$  en fonction du temps on peut calculer la distance parcourue par la voiture sur un même intervalle de temps de 0,1 :

$$x(0,1) - x(0) > x(0,2) - x(0,1) > x(0,3) - x(0,2) > x(0,4) - x(0,3) = x(0,5) - x(0,4)$$

donc cette distance parcourue sur un même intervalle de temps de 0,1 s est de plus en plus petit au cours du temps donc la vitesse de la voiture est décroissante entre 0 et 0,5 s ;

À partir de 0,5 s on peut voir que  $x(0,5) = x(0,6) = x(0,7) = x(0,8)$  donc la vitesse de la voiture est nulle entre 0,5 et 0,8 s.

2. Vitesse moyenne de la voiture entre  $t_0 = 0$  et  $t = 0,1$  s

$$v_{\text{moy}} (\text{entre } 0 \text{ et } 0,1 \text{ s}) = \frac{x(0,1) - x(0)}{0,1 - 0} = \frac{0,06 - 0}{0,1} = 0,6 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

3. Détermination de  $x'(t)$  pour tout réel  $t$  = dérivée de  $x$  par rapport à la variable  $t$  pour la fonction  $x$  qui a pour expression  $x(t) = -0,58 \times t^2 + 0,65 \times t$  :

$$x'(t) = -0,58 \times 2t + 0,65 = -1,16t + 0,65$$

4. Calcul de  $x'(0)$  :

$$x'(0) = -1,16 \times 0 + 0,65 = 0,65$$

5. La grandeur physique à laquelle fait référence  $x'(0)$  est la vitesse de la voiture à l'instant  $t = 0$  s.

Regard critique : la vitesse moyenne de la voiture calculée à la question 2 est inférieure à la vitesse initiale de la voiture à  $t = 0$  s ce qui est cohérent avec une vitesse décroissante de la voiture constatée à la question 1.

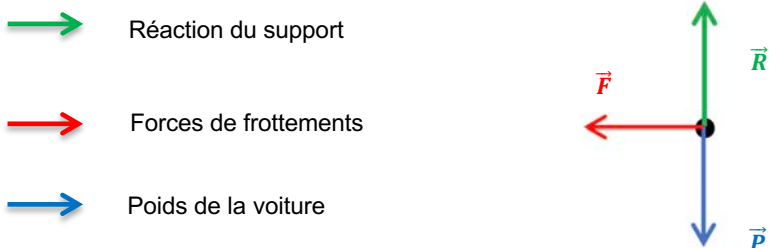
6. Valeur de l'accélération définie sur l'intervalle de temps  $[0 ; 0,5]$  :

$$a_x = \frac{dv_x}{dt} = \frac{dx'(t)}{dt} = \frac{x'(0,5) - x'(0)}{0,5 - 0} = \frac{-1,16 \times 0,5 + 0,65 - 0,65}{0,5} = -1,16 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$$

La vitesse diminue entre 0 et 0,5 s donc l'accélération est négative.

7. Bilan des forces modélisant les actions mécaniques s'exerçant sur la voiture au cours de son mouvement :

- Sans souci d'échelle
- Schéma où la voiture est réduite à son centre de masse



8. En utilisant la seconde de loi de Newton, on peut démontrer que l'intensité  $F$  de l'ensemble des forces de frottement  $F = -a \cdot m$

Dans le repère  $(O, x, y)$  supposé galiléen, on peut s'écrire :

$$\vec{a} = \begin{pmatrix} a_x \\ a_y \end{pmatrix}; \vec{R} = \begin{pmatrix} 0 \\ +R \end{pmatrix}; \vec{P} = \begin{pmatrix} 0 \\ -P \end{pmatrix} \text{ et } \vec{F} = \begin{pmatrix} -F \\ 0 \end{pmatrix}$$

D'après seconde loi de Newton :  $\vec{\Sigma F} = m \cdot \vec{a}$  donc en utilisant le bilan des forces écrit dans question 7 :

$$\vec{F} + \vec{R} + \vec{P} = m \cdot \vec{a}$$
$$\text{D'où } \begin{pmatrix} -F \\ 0 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 \\ +R \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 \\ -P \end{pmatrix} = m \cdot \begin{pmatrix} a_x \\ a_y \end{pmatrix}$$

Donc si on réalise une projection suivant l'axe  $Ox$  :

$$-F + 0 + 0 = m \cdot a_x \quad \text{d'où} \quad F = -m \cdot a_x$$

9. Application numérique :

$$F = -m \cdot a_x$$

$$F = -0,040 \cdot (-1,16) = 4,64 \cdot 10^{-2} \text{ N} = \mathbf{4,6 \cdot 10^{-2} \text{ N}}$$

10. Calcul de  $W(\vec{F})$  :

$$W(\vec{F}) = \vec{F} \times \overrightarrow{OA} = F \cdot OA \cdot \cos(\vec{F}; \overrightarrow{OA}) = F \cdot OA \cdot \cos(180^\circ) = -F \cdot OA$$

d'où  $W(\vec{F}) = -F \cdot d$  avec  $d = OA$

11. Valeur de la distance  $d$  parcourue par la voiture entre les instants  $t_0 = 0$  et  $t_f = 0,5 \text{ s}$  :

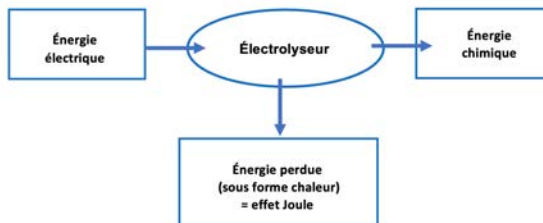
D'après énoncé variation énergie cinétique du système entre les instants  $t_0$  et  $t_f$  = travail de l'ensemble des forces de frottement d'où

$$\begin{aligned} \Delta \varepsilon_c &= W(\vec{F}) \text{ d'où} \\ \varepsilon_{c, \text{initiale}} - \varepsilon_{c, \text{finale}} &= W(\vec{F}) \text{ d'où} \\ \frac{1}{2} m \cdot v^2(0,5) - \frac{1}{2} m \cdot v^2(0) &= W(\vec{F}) = -F \cdot d \text{ d'où} \\ 0 - \frac{1}{2} m \cdot 0,65^2 &= -F \cdot d \text{ d'où} \\ d &= \frac{\frac{1}{2} m \cdot 0,65^2}{F} = \frac{\frac{1}{2} 0,040 \cdot 0,65^2}{4,6 \cdot 10^{-2}} = 0,18 \text{ m} \end{aligned}$$

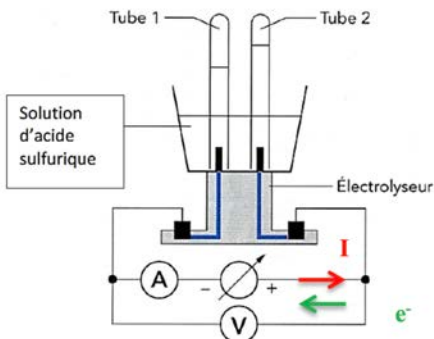
Sur la figure 1, la distance parcourue au bout de 0,5 s est bien de 0,18 m.

## EXERCICE 2 (6 points) (Physique - Chimie)

1. Dans l'introduction on définit l'électrolyseur comme « un dipôle qui convertit une partie de l'énergie électrique reçue en énergie chimique ». L'électrolyseur est donc un récepteur électrique.



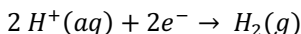
## 2. Document réponse DR1 complété



Dans cette expérience, le gaz produit à chaque électrode est récupéré dans un tube à essais.

Le courant circule du pôle + du générateur vers le pôle – et les électrons dans le sens inverse.

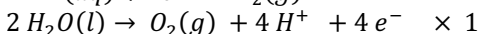
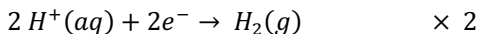
3. Équation de la réaction modélisant la transformation se produisant au niveau de l'électrode reliée à la borne négative du générateur :



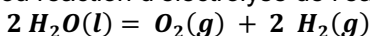
et le dégagement gazeux d' $H_2$  se produit dans le tube 1

4. Les électrons arrivent sur cette électrode donc au niveau de cette électrode se produit une réduction. Cette électrode constitue donc la cathode du dispositif.

5. Équation d'électrolyse de l'eau :



d'où réaction d'électrolyse de l'eau :



6. Valeur de la tension mesurée aux bornes de l'électrolyseur du laboratoire lorsqu'il est traversé par un courant électrique d'intensité égale à 500 mA peut être lue sur graphe « Caractéristique tension – Intensité de l'électrolyseur » = 6,5 V.

7. Valeur de la puissance électrique reçue par l'électrolyseur en fonctionnement dans ces conditions :  $P = U \cdot I$  avec  $U$  en V et  $I$  en A d'où  $P = 6,5 \cdot 0,5 = 3,25 \text{ W} = 3,3 \text{ W}$ .



8. Valeur de l'énergie électrique reçue par l'électrolyseur pendant les deux minutes de fonctionnement :

$$E = P \times \Delta t = 3,25 \times 60 \times 2 = 390 = 3,9 \cdot 10^2 \text{ J}$$

Attention l'unité  $[J] = [W \times s]$  donc  $P$  doit être en W et  $\times \Delta t$  doit être en s

9. Rendement de l'électrolyseur en fonctionnement :

Données de l'énoncé :

Donnée 1 : Énergie chimique nécessaire à la formation d'un volume égal à 1,0 mL de dihydrogène, à la pression atmosphérique, lors de l'électrolyse de l'eau réalisée au laboratoire : 11 J.

Donnée 2 : On réalise au laboratoire l'électrolyse de l'eau pendant une durée de deux minutes avec une intensité du courant maintenue égale à 500 mA. Il se forme alors un volume de dihydrogène égal à 20 mL.

Donc  $E_{\text{utile}} = 11 \times 20 = 220 \text{ J}$  et  $E_{\text{reçue par électrolyseur}} = 3,9 \cdot 10^2 \text{ J}$

donc rendement =  $\frac{220}{390} \times 100 = 56,4 \%$

or dans la littérature, les rendements indiqués dans le cas de l'électrolyse industrielle de l'eau sont compris entre 75 et 90 % donc ce rendement est inférieur à celui d'une électrolyse industrielle.

### EXERCICE 3 (4 points) (Mathématiques)

**Question 1 :**

Soit la fonction  $f$  définie sur  $[0 ; +\infty[$  par  $f(x) = (3x + 5)e^x$

$f(0) = (3 \times 0 + 5)e^0 = 5$  donc  $f(0)$  est bien un entier.

**Question 2 :**

Soit la fonction  $f$  définie et dérivable sur  $[0 ; +\infty[$  par  $f(x) = (x - 5)e^{3x}$ .

Sur  $[0 ; +\infty[$ ,  $f'(x) = 1 \times e^{3x} + (x - 5) \times 3e^{3x} = (1 + 3x - 15) \times e^{3x}$   
 $= (3x - 14)e^{3x}$

### Question 3 :

On donne :  $A = \ln\left(\frac{25}{8}\right)$

Pour  $a > 0$  et  $b > 0$ , on a  $\ln\left(\frac{a}{b}\right) = \ln(a) - \ln(b)$  donc  $\ln\left(\frac{25}{8}\right) = \ln(25) - \ln(8)$

Pour  $a > 0$  et  $n$  entier naturel non nul, on a  $\ln(a^n) = n\ln(a)$

donc  $\ln(5^2) = 2\ln(5)$  et  $\ln(8) = \ln(2^3) = 3\ln(2)$

donc  $A = \ln(25) - \ln(8) = 2\ln(5) - 3\ln(2) = -3\ln(2) + 2\ln(5)$

avec  $a = -3$  et  $b = 2$

### Question 4 :

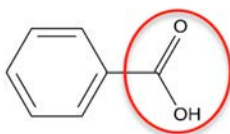
On considère l'équation différentielle (E):  $y' = 3y - 12$ , où  $y$  est une fonction de variable  $x$ , définie et dérivable sur  $\mathbb{R}$ .

- L'équation différentielle (E) :  $y' = 3y - 12$  a pour solutions les fonctions  $g_0$  définies par  $g_0(x) = ke^{3x}$  où  $k$  est un réel quelconque.
- L'équation différentielle (E) a pour solution particulière la fonction  $g$  définie par  $g(x) = 4$ .
- L'équation différentielle (E) a donc pour solutions les fonctions  $f$  telles que  $f = g + g_0$ , autrement dit définies par  $f(x) = ke^{3x} + 4$ .
- $f(0) = 8$  d'où  $ke^0 + 4 = 8$  d'où  $k = 4$ .

La fonction  $f$ , solution de (E), qui vérifie  $f(0) = 8$  est définie sur  $\mathbb{R}$  par  $f(x) = 4e^{3x} + 4$ .

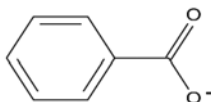
## EXERCICE 4 (6 points) (Physique - Chimie)

### 1. Groupe caractéristique de l'acide benzoïque

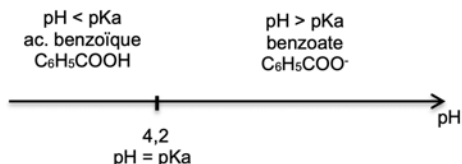


Acide carboxylique

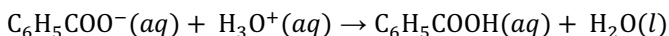
2. Formule topologique de l'ion benzoate, base conjuguée de l'acide benzoïque :



3. Diagramme de prédominance :



4. On donne l'équation chimique suivante :



L'acide chlorhydrique  $\text{H}_3\text{O}^+ + \text{Cl}^-$  est un réactif donc la réaction qui correspond à l'équation ci-dessus modélise une transformation chimique ayant lieu lors de l'expérience 1.

5. Étape 2 du protocole :

Ajout d'acide chlorhydrique jusqu'à amener le  $pH$  à environ 2 donc  $pH < pK_{a(\text{acide benzoïque/benzoate})}$  donc benzoate va donner de l'acide benzoïque (forme prédominante quand  $pH < pK_a$ ) qui peu soluble dans l'eau va précipiter (apparition solide blanc dans expérience 1).

6. Analyse étape d'extraction :

Rappel données :

	Densité	Eau	Éthanol	Éther éthylique
Acide benzoïque	-	Peu soluble	Très soluble	Très soluble
Eau	1,0		Miscible	Non miscible
Éthanol	0,76	Miscible		
Éther éthylique	0,71	Non miscible		

L'éther éthylique va permettre la dissolution du précipité d'acide benzoïque et l'éther est non miscible dans l'eau ce qui permet de récupérer uniquement la phase organique afin d'extraire l'acide benzoïque. L'éthanol étant miscible

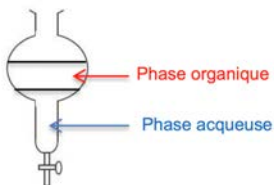
dans l'eau, on aurait qu'une seule phase d'où l'extraction de l'acide benzoïque dans une ampoule à décanter serait impossible.

7. Si on compare les densités :

Densité eau = 1,0

Densité éther éthylique = 0,71

Donc densité eau > densité éther éthylique donc phase aqueuse sera en bas et phase organique sera en haut.



8. On connaît la température de fusion de l'acide benzoïque :  $\theta_f = 122,4 \text{ }^\circ\text{C}$ . On peut donc faire une mesure de la température du point de fusion de ce solide blanc en utilisant un banc de Kofler.

9. Masse acide benzoïque théoriquement obtenue en fin d'extraction :

$$m = \rho_{\text{acide benzoïque}} \times V = c_{\text{acide benzoïque}} \times M_{\text{acide benzoïque}} \times V$$

$$m = 4,0 \cdot 10^{-4} \times 122 \times 500 \cdot 10^{-3} = 0,0244 \text{ g} = 24,4 \text{ mg}$$

donc on devrait bien obtenir 24 mg d'acide benzoïque en fin d'extraction.

10. Rendement extraction acide benzoïque :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{masse}_{\text{extraite}}}{\text{masse}_{\text{théorique}}} = \frac{10}{24,4} \times 100 = 41 \%$$

## SUJET 2 PHYSIQUE-CHIMIE / MATHÉMATIQUES ÉLÉMENTS DE CORRECTION

### EXERCICE 1 (4 points) (Physique - Chimie et Mathématiques)

#### Chute verticale dans un fluide visqueux

1. La figure 1 présentant l'évolution de la vitesse de la bille de plomb en fonction du temps montre que la bille atteint une vitesse limite constante. Donc les forces exercées : force exercée par le poids de la bille et les forces de frottement se compensent. La chute de la bille n'est donc pas une chute libre.

2. Estimation graphique de la valeur de chute de la bille en régime permanent :

$$v = 0,285 \text{ m/s}$$

3. Expression vectorielle de la seconde loi de Newton dans le référentiel du laboratoire supposé galiléen :

$$\overline{\Sigma F_{ext}} = m \times \vec{a}$$

ou

$$\vec{P} + \vec{f} = m \times \vec{a}$$

4. D'après la seconde loi de Newton :  $\overline{\Sigma F} = m \cdot \vec{a}$ , on peut écrire :

$$\vec{P} + \vec{f} = m \times \vec{a}$$
$$m \times \vec{g} - 6 \pi \eta r \vec{v} = m \times \vec{a}$$

Et donc si on projette sur l'axe Oy :

$$m \times g - 6 \pi \eta r v = m \frac{dv}{dt}$$

d'où

$$\frac{dv}{dt} = -\frac{6 \pi \eta r v}{m} + g$$

## Étude mathématique de la vitesse

5. Les solutions de l'équation différentielle (E) « sans second membre » :

$$y' = -27,7y \text{ sont les fonctions } t \rightarrow k \times e^{-27,7t} \text{ où } k \in \mathbb{R}.$$

Une solution particulière de (E) est la fonction constante  $t \rightarrow \frac{9,81}{27,7}$

Donc l'équation différentielle (E) a pour solutions les fonctions  $v$  définies par :

$$v(t) = k \times e^{-27,7t} + \frac{9,81}{27,7} \text{ où } k \in \mathbb{R}$$

$$6. v(0) = 0 \Leftrightarrow k \times e^0 + \frac{9,81}{27,7} = 0 \Leftrightarrow k = -\frac{9,81}{27,7}$$

Donc l'unique solution  $v$  de l'équation différentielle (E) qui vérifie  $v(0) = 0$  est définie par l'expression :

$$v(t) = -\frac{9,81}{27,7} \times e^{-27,7t} + \frac{9,81}{27,7},$$

$$\text{soit } v(t) = \frac{9,81}{27,7} \times (1 - e^{-27,7t})$$

$$7. \lim_{t \rightarrow +\infty} -27,7t = -\infty \text{ et } \lim_{T \rightarrow -\infty} e^T = 0 \text{ donc } \lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-27,7} = 0$$

$$\text{On en déduit que } \lim_{t \rightarrow +\infty} (1 - e^{-27,7t}) = 1 \text{ et donc que } \lim_{t \rightarrow +\infty} v(t) = \frac{9,81}{27,7}$$

### Analyse du modèle obtenu

8. Cohérence entre les valeurs des vitesses :

$$v_{\text{modèle}} = 0,35 \text{ m/s et } v_{\text{exp}} = 0,285 \text{ m/s}$$

L'ordre de grandeur est le même donc les deux valeurs de vitesses sont cohérentes.

L'écart observé peut être dû :

- à la modélisation de l'action exercée par le fluide avec une seule force de frottement ;
- au fait qu'on n'ait pas tenu compte de la poussée d'Archimède ;
- le choix de la valeur prise pour la viscosité ;
- à une chute pas exactement verticale, etc.

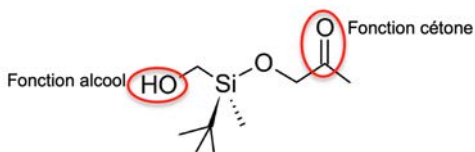
## EXERCICE 2 (6 points) (Physique - Chimie)

1. Géométrie autour de l'atome de Si dans la molécule de trichlorosilane à l'aide de la théorie VSEPR :

$AX_4$ , géométrie tétraédrique comparable à celle que l'on a avec l'atome de C dans les molécules organiques.

2. La molécule de trichlorosilane est superposable à son image dans un miroir donc n'est pas une molécule chirale.

3. Les deux groupes caractéristiques de la molécule :

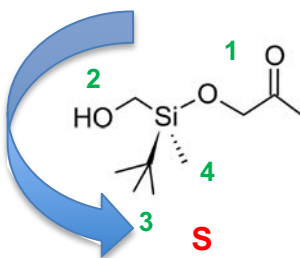


4. Un carbone asymétrique est un atome de carbone relié à 4 groupes d'atomes différents.

5. Classement des groupes d'atomes portés par l'atome de silicium dans la molécule A, selon les règles de Cahn, Ingold et Prelog :

OR > CH<sub>2</sub>OH > C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> > CH<sub>3</sub> avec R = CH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub>

6. Configuration absolue de l'atome de silicium :



Les 4 groupes d'atomes sont positionnés par ordre de priorité dans le sens inverse des aiguilles d'une montre donc l'atome de silicium dans la molécule de trichlorosilane est de configuration absolue S.

## Structure cristalline des cellules en silicium d'un panneau photovoltaïque

7. Sur le graphe présentant la mesure de la tension  $U$  (en V) aux bornes du panneau photovoltaïque en fonction de l'intensité  $I$  (en A) du courant qu'il délivre, on constate que la tension n'est pas constante et diminue fortement pour  $I > 0,5$  A donc le panneau solaire n'est pas une source idéale de tension.

8. Détermination de  $U$  et  $I$  pour  $P_{max}$  :

Sur le graphe 2, on peut déterminer  $P_{max} = 0,8$  W pour  $U = 1,6$  V

Sur le graphe 1, on en déduit  $I = 0,49$  A pour  $U = 1,6$  V.

9. Copie de la ligne de code du programme écrit en langage Python qui calcule les valeurs successives de la puissance électrique libérée  $Pé$  :

Ligne 9 : `Pe.append(U[k]* [k])`

10. Nature probable de la cellule photovoltaïque :

Calcul surface de la cellule photovoltaïque :

$$S_{cellule\ photovoltaïque} = 0,097 \times 0,076 \times = 7,4 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$$

Calcul de la puissance radiative reçue :

$$P_{reçue} = s \times E = 7,4 \cdot 10^{-3} \times 900 = 6,6 \text{ W}$$

Calcul du rendement avec  $P_{elec} = P_{max} = 0,800$  W

$$r = \frac{P_{max}}{P_{reçue}} = 0,12 \text{ soit } 12 \%$$

D'après les données fournies sur les différents types de cellules en silicium utilisées pour fabriquer des panneaux photovoltaïques, les cellules présentent un rendement de 12 % soit un rendement compris entre 11 et 18 % donc ce sont des cellules polycristallines (mc-Si).



### EXERCICE 3 (4 points) (Mathématiques)

La fonction  $f$  est définie sur  $[0 ; +\infty[$  par  $f(x) = xe^{0,02x} - 10\,000$ .

1.  $\lim_{x \rightarrow +\infty} 0,02x = +\infty$  et  $\lim_{x \rightarrow +\infty} e^x = +\infty$  donc  $\lim_{x \rightarrow +\infty} e^{0,02x} = +\infty$

On en déduit que  $\lim_{x \rightarrow +\infty} xe^{0,02x} = +\infty$  et donc  $\lim_{x \rightarrow +\infty} g(x) = +\infty$

2. On note  $f'$  la fonction dérivée de  $f$  sur  $[0 ; +\infty[$

$$f'(x) = 1 \times e^{0,02x} + x \times 0,02e^{0,02x} = (0,02x + 1) e^{0,02x}$$

3. Pour tout  $x$  de  $[0 ; +\infty[$ ,  $x \geq 0$  donc  $0,02x + 1 > 0$

Pour tout réel  $X$ ,  $e^X > 0$  donc  $e^{0,02x} > 0$

On en déduit que, pour tout  $x \geq 0$ , on a  $f'(x) > 0$  donc la fonction  $f$  est strictement croissante sur  $[0 ; +\infty[$ .

4. « Tout nombre réel  $x$ , compris entre 0 et 1000, a une image négative par  $f$ . » est une affirmation fausse. Par exemple,  $f(200) \approx 919,6 > 0$ .

5. Sur les quatre fonctions A, B, C, et D écrites dans le même programme Python, celle qui permet de déterminer la plus petite valeur entière dont l'image par  $f$  est positive est la fonction B( ).

La fonction A( ) renvoie - 10 000

La fonction C( ) renvoie  $f(1\,000)$

La fonction D( ) renvoie le nombre 1

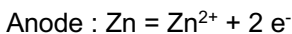
## EXERCICE 4 (6 points) (Physique - Chimie)

### Piles électrochimiques et alimentation d'une voiture télécommandée

#### Étude d'une pile Daniell

1.  $U_0 = + 1,102 \text{ V}$  donc  $U_0 > 0$  donc la borne COM est branchée sur la borne négative qui est la lame de zinc et l'autre borne est branchée sur la borne positive qui est la lame de cuivre.

2. Équations de  $\frac{1}{2}$  reactions électroniques se produisant à l'anode et à la cathode :



D'où réaction d'oxydo réduction modélisant la transformation chimique au sein de la pile :  $\text{Zn} + \text{Cu}^{2+} = \text{Cu} + \text{Zn}^{2+}$

3. Sens de déplacement des ions ammonium  $\text{NH}_4^+(\text{aq})$  et des ions nitrates  $\text{NO}_3^-(\text{aq})$  dans le pont salin :

Au niveau de la cathode, il y a consommation d'ions  $\text{Cu}^{2+}(\text{aq})$  au niveau de la lame de cuivre donc les ions ammonium vont se déplacer vers la lame de cuivre pour compenser cette consommation et assurer l'électroneutralité de la solution.

Au niveau de l'anode, il y a formation d'ions  $\text{Zn}^{2+}(\text{aq})$  au niveau de la lame de Zn donc les ions nitrates  $\text{NO}_3^-(\text{aq})$  vont se déplacer vers la lame de Zn pour assurer l'électroneutralité de la solution.

$$4. \quad n(\text{Zn}) = \frac{m_{\text{Zn}}}{M_{\text{Zn}}} = \frac{50,2}{65,4} = 7,68 \cdot 10^{-1} \text{ mol}$$

$$n(\text{Cu}^{2+}) = C_0 \times V_0 = 1,0 \cdot 10^{-2} \times 20 \cdot 10^{-3} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

Les nombres stoechiométriques sont de 1 pour chaque réactif donc les ions cuivre constituent le réactif limitant de la réaction.

5. Capacité  $Q_D$  de la pile Daniell :

$$n(\text{e}^-) = 2 \times n(\text{Cu}^{2+}) = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

$$Q_D = n(\text{e}^-) \times F = n(\text{e}^-) \times e \times N_A = 4,0 \cdot 10^{-4} \times 1,60 \cdot 10^{-19} \times 6,02 \cdot 10^{23} = 39 \text{ C}$$

La capacité  $Q_D$  de la pile Daniell est donc très inférieure à la capacité d'une pile alcaline qui peut aller de 7200 à 10 800 C.

## Étude d'une pile alcaline Power+

6. Dans le texte Wikipedia donné, on peut lire « Pour éviter le polarisation de la pile en fin de vie, on utilise plus de dioxyde de manganèse qu'il n'est nécessaire pour réagir avec la totalité du zinc » donc le zinc est le réactif limitant.

7. Oxydant :  $\text{MnO}_2$

Réducteur :  $\text{Zn}$

8. On considère qu'une chute brutale de l'intensité correspond à une pile déchargée. Sur la courbe d'évolution de l'intensité  $I$  débitée au cours du temps, on observe une chute brutale de l'intensité de cette pile alcaline AA du commerce de type Power+ au bout de 27 h donc la durée de fonctionnement de cette pile dans ces conditions d'utilisation est de 27 h.

9. Valeur de l'intensité moyenne délivrée par la pile Power+

D'après la courbe d'évolution de l'intensité  $I$  débitée au cours du temps, on peut considérer que pendant les 27 premières heures, la valeur moyenne de l'intensité du courant électrique est de 100 mA.

$$Q_{P+} = I \times \Delta t = 100 \times 27 = 2,7 \cdot 10^3 \text{ mA} \cdot \text{h}$$

Cette valeur de capacité est cohérente avec celle d'une pile alcaline.

## Alimentation d'une voiture radiocommandée et étude des performances

10. Durée d'utilisation maximale attendue de la voiture télécommandée :

$$\Delta t = \frac{Q_B}{I} = \frac{10000}{0,600} = 1,67 \cdot 10^4 \text{ s} = 4,63 \text{ h}$$

Cette durée de fonctionnement est conforme à celle attendue pour l'utilisation d'un jouet.

11. Expression de l'énergie électrique transférée par les piles au cours du test de performance :

$$E_{\text{elec}} = P \times \Delta t = U_0 \times I \times \Delta t$$

$$E_c = 0,5 \times m \times v^2 = E_{\text{elec}}$$

$$\text{D'où } v(th) = \sqrt{\frac{E_{\text{elec}}}{0,5 \times m}} = \sqrt{\frac{U_0 \times I \times \Delta t}{0,5 \times m}} = 13 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$v(exp) = \frac{d}{\Delta t} = \frac{9,0}{12} = 0,75 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

Les deux valeurs de vitesse sont très différentes et ne sont donc pas cohérentes.

L'hypothèse selon laquelle toute l'énergie électrique est convertie en énergie cinétique n'est pas correcte.

L'explication peut venir du fait que pour le calcul de  $v(th)$ , on a négligé les forces de frottements et les pertes d'énergie lors du transfert par effet Joule.

**BACTÉRIE PRÉDATRICE : UN BIOAGENT ANTIMICROBIEN**

**Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

**1. Utilisation des BALOs par action directe à des fins thérapeutiques**

**1.1 Étude du spectre de prédation de *B. bacteriovorus***

**Q1. (C1)** Le cycle de prédation endobiotique de *Bdellovibrio bacteriovorus* montre que cette bactérie croit et se multiplie à l'intérieur d'une autre bactérie et donc que *Bdellovibrio bacteriovorus* vit aux dépens d'un organisme hôte (proie bactérienne). On peut donc la qualifier de parasite.

**Q2. (C2)** La croissance d'une souche bactérienne ou suivi de l'évolution de la biomasse en fonction du temps est caractérisée par une phase exponentielle. La représentation semi-logarithmique : évolution du logarithme de la biomasse en fonction du temps permet de linéariser cette phase exponentielle ce qui va faciliter les calculs de taux de croissance népérien et de temps de génération qui sont des paramètres de croissance caractéristiques d'une souche bactérienne.

**Q3\*\*\*. (C4)** Le **document 2** présente les courbes de croissance de *S. aureus* en absence et en présence de *B. bacteriovorus*.

En absence de *B. bacteriovorus* = courbe de croissance témoin. On observe une augmentation exponentielle de l'atténuation et donc de la biomasse jusqu'à un maximum au bout de 6h. À partir de 6h on observe une stabilisation de cette biomasse jusqu'à au moins 10h.

En présence de *B. bacteriovorus*, si la souche de *S. aureus* était sensible à cette bactérie, d'après le **document 1**, la multiplication de *B. bacteriovorus* se ferait aux dépens de cette bactérie et aboutirait à la lyse de *S. aureus* et donc à une diminution de la biomasse de *S. aureus* au bout d'un certain temps. Or la courbe de croissance de *S. aureus* en présence de *B. bacteriovorus* a le même aspect (les deux courbes se superposent) qu'en absence de *B. bacteriovorus* donc pas de diminution de la biomasse donc pas de lyse de *S. aureus* donc *S. aureus* ne représente pas une bactérie proie pour *B. bacteriovorus*. Elle est donc résistante à l'action de *B. bacteriovorus*.

**Q4. (C2) EG**

$$C_{N(A.baumanii)} = D_{600nm(A.baumanii)} \times 1,2 \cdot 10^9$$

EU

$$cellule \cdot mL^{-1} = SU \times cellule \cdot mL^{-1}$$

EVN et calcul :

$$C_{N(A.baumanii ; mileu sans B.bacteriovorus)} = 0,700 \times 1,2 \cdot 10^9 = 8,4 \cdot 10^8 \text{ cellules} \cdot mL^{-1}$$

$$C_{N(A.baumanii ; mileu avec B.bacteriovorus)} = 0,124 \times 1,2 \cdot 10^9 = 1,5 \cdot 10^8 \text{ cellules} \cdot mL^{-1}$$

$$\text{Facteur de diminution} = \frac{C_{N(A.baumanii ; mileu sans B.bacteriovorus)}}{C_{N(A.baumanii ; mileu avec B.bacteriovorus)}} = \frac{8,4 \cdot 10^8}{1,5 \cdot 10^8} = 5,6$$

Facteur de diminution (*A. baumanii*) = 5,6 > 2 donc *B. bacteriovorus* a un effet de prédation sur *A. baumanii*.

**Q5\*\*.** (C3) On considère que *B. bacteriovorus* a un effet de prédation dès lors que la concentration de bactéries cibles est diminuée d'un facteur 2 à l'issue de la mise en œuvre de la procédure opératoire.

$$\text{Facteur de diminution (} S. enterica) = \frac{4,4 \cdot 10^8}{2,2 \cdot 10^8} = 2$$

$$\text{Facteur de diminution (} Y. bercovieri) = \frac{4,7 \cdot 10^8}{2,3 \cdot 10^8} = 2$$

$$\text{Facteur de diminution (} Y. enterocolitica) = \frac{4,6 \cdot 10^8}{2,3 \cdot 10^8} = 2$$

$$\text{Facteur de diminution (} Y. pseudotuberculosis) = \frac{6,9 \cdot 10^8}{3,4 \cdot 10^8} = 2$$

$$\text{Facteur de diminution (} Y. rohdei) = \frac{5,2 \cdot 10^8}{2,2 \cdot 10^8} = 2,4$$

Donc toutes ces souches ont un facteur de diminution  $\geq 2$  donc *B. bacteriovorus* a un effet de prédation sur l'ensemble de ces souches.

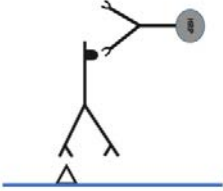
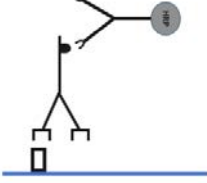
Les bactéries des genres *A. baumanii*, *Salmonella* et *Yersinia* sont des bactéries Gram négatif donc ces résultats montrent que *B. bacteriovorus* a un effet de prédation sur ces bactéries Gram négatif (difficile de généraliser à l'ensemble des bactéries à Gram négatif).

**Q6\*\*\*.** (C4) Souche de *S. aureus*, bactérie Gram +, résistante à l'action de *B. bacteriovorus* et souches de *A. baumanii*, *Salmonella* et *Yersinia*, bactéries Gram négatif, sensibles à l'action *B. bacteriovorus* donc on peut formuler l'hypothèse que le spectre de prédation par action directe des bactéries BALOs telles que *B. bacteriovorus* soit des bactéries à Gram négatif.

## 1.2 Recherche d'une immunité spécifique contre les BALOs

**Q7\*\*\*. (C4)** La toxine tétanique est **immunogène** c'est-à-dire capable de provoquer une réaction immunitaire avec production d'anticorps dirigés spécifiquement contre cette toxine et on nous dit qu'elle est utilisée pour la vaccination antitétanique (toxine inactivée mais ayant gardée son pouvoir immunogène) qui est une **vaccination obligatoire**. Or si cette vaccination utilisant une **toxine inactivée immunogène** est **obligatoire** tous les individus ont été immunisés et ont donc produit des anticorps dirigés contre cette toxine tétanique d'où la présence d'anticorps antitétaniques dans les 25 sérums testés.

**Q8\*\*. (C3)**

	
Cupule lysat BALO's	Cupule toxine tétanique

**Q9\*\*. (C3)**

**Cupule toxine tétanique :** on observe une concentration en anticorps circulants dans les 25 sérums humains de  $51 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  donc supérieure au seuil de positivité égal à  $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Les sérums étant des sérums humains d'individus vaccinés, c'est une cupule témoin permettant de valider la qualité des réactifs et l'efficacité de la procédure opératoire.

**Cupule lysat BALOs :** on observe une concentration en anticorps circulants dans les 25 sérums humains de  $8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  donc supérieure au seuil de positivité égal à  $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Donc les BALOs provoquent bien une réponse immunitaire avec production d'anticorps et sont donc bien immunogènes.

**Q10\*\*\*. (C4)** De nombreuses bactéries à Gram négatifs sont devenues résistantes à la plupart des antibiotiques. Ces BALOs comme *B. bacteriovorus* étant des bactéries prédatrices de bactéries Gram négatif pourraient donc être une alternative à l'utilisation d'antibiotiques dans le cadre de traitement d'infections à bactéries Gram négatif.

## 2- Activité antibactérienne des BALOs par action indirecte

### 2.1 Étude de la dégradation d'un biofilm de *Staphylococcus aureus* soumis aux BALOs

**Q11\*. (C1)** Sur un biofilm préformé de *S. aureus*, on a fait agir, pendant 24 h, soit un milieu de culture standard, soit le surnageant d'une culture de *B. bacteriovorus*. Le **document 5** est un histogramme présentant la quantité de biofilm en présence du milieu standard et en présence du surnageant de *B. bacteriovorus*.

On peut observer qu'en présence du milieu standard, la quantité de biofilm est de 100 % donc est égale à la quantité de biofilm préformé avant action. C'est donc une **expérience témoin** pour montrer que le milieu de culture n'a pas d'action sur la quantité de biofilm.

En présence du surnageant on peut constater que la quantité de biofilm est passée à environ 10 % donc 90 % du **biofilm préformé a été dégradé**.

**Q12. (C5) Document 2 :** procédure opératoire permettant d'étudier l'action directe des *B. bacteriovorus* sur une souche de *S. aureus* ce qui a permis de démontrer l'absence d'activité prédatrice de *B. bacteriovorus* sur une souche de *S. aureus*.

**Document 5 :** procédure opératoire permettant d'étudier l'action d'un surnageant d'une culture de *B. bacteriovorus* sur un biofilm préformé de *S. aureus*. Or le surnageant ne contient pas de bactéries mais seulement des molécules sécrétées par *B. bacteriovorus* donc la procédure a permis de montrer que des molécules sécrétées par *B. bacteriovorus* ont une activité de dégradation d'un biofilm préformé de *S. aureus*. Or la définition d'un biofilm est rappelée : communauté complexe de micro-organismes se développant dans une matrice. La procédure opératoire décrite dans le document ayant permis de démontrer l'absence d'activité prédatrice de *B. bacteriovorus* sur une souche de *S. aureus*, on peut faire l'hypothèse que le biofilm est dégradé par action de molécules sécrétées par *B. bacteriovorus* sur la matrice du biofilm. Cette dégradation d'un éventuel biofilm permet l'élimination indirecte de *S. aureus* sur le matériel médical et donc de protéger les patients d'une éventuelle infection nosocomiale à *S. aureus* ou à tout autre souche bactérienne incluse dans des biofilms éventuellement présents sur le matériel médical.

### 2.2 Caractérisation des molécules de *B. bacteriovorus* actives sur des biofilms bactériens

**Q13\*\*. (C3)** L'activité protéasique est visualisée sur une gélose composée de 1 % d'agar et de 1 % de lait écrémé riche en protéines. La dégradation des



protéines se traduit par une disparition locale du trouble au niveau de la zone de dépôt.

**Extrait sans protéase** : témoin permettant de montrer l'absence de disparition de trouble en l'absence d'activité protéasique = témoin de spécificité.

**Extrait avec protéinase K** : témoin permettant de montrer la disparition du trouble en présence d'une activité protéasique connue = témoin d'efficacité.

Les **résultats sont conformes à ceux attendus** donc la **procédure opératoire est validée** donc on peut lire les essais.

**Q14\*. (C1)** Après culture de *B. bacteriovorus*, le surnageant a été récupéré et purifié pour obtenir deux fractions protéiques. L'activité protéasique de ces fractions a été testée.

**Extraits 1 et 2** = fractions protéiques purifiées à partir d'un surnageant de culture de *B. bacteriovorus*. Pour ces deux extraits on observe la disparition du trouble au niveau de la zone de dépôt donc ces deux fractions protéiques présentent une activité protéasique.

**Q15\*\*. (C3)** On nous donne quelques informations sur les biofilms :

Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles ou d'échapper à des attaques antimicrobiennes.

Les biofilms bactériens sont attachés aux surfaces grâce à une matrice polymérique extracellulaire composée notamment de protéines et de glucides.

Les fractions protéiques purifiées à partir d'un surnageant de culture de *B. bacteriovorus* présentant une activité protéasique, **on peut émettre l'hypothèse que cette activité protéasique va agir sur les protéines de la matrice du biofilm** permettant l'adhésion du biofilm aux surfaces donc **va faciliter le détachement d'un éventuel biofilm adhérent à une surface.**

**Q16. (C2)**

EG

$$v_i = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon_{\text{PNA à 405 nm}} \times l}$$

EU

$$[\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}] = \left[ \text{s}^{-1} \times \frac{1}{\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \times \text{cm}} \right]$$

EVN

$$v_i(\text{fraction protéique 1}) = 0,0083 \times \frac{1}{1100 \times 1} = 7,55 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

**Q17\*. (C1) La lutte contre les biofilms** consiste ici à **éliminer les protéines de la matrice** grâce à une activité protéasique contenue dans des fractions protéiques purifiées de surnageant de culture de *B. bacteriovorus*. La fraction protéique la plus adaptée pour lutter contre les biofilms sera donc celle qui présentera l'activité protéasique la plus élevée. La fraction protéique 1 présente une vitesse initiale d'hydrolyse de L-BAPNA (substrat chromogène hydrolysé par des protéases) de  $7,55 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  donc supérieure à celle de la fraction protéique 2 qui est de  $3,24 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  donc la fraction protéique 1 présente une activité protéasique supérieure à celle de la fraction 2 donc **la fraction protéique 1 sera plus adaptée pour la lutte contre les biofilms bactériens.**

## Partie II – Question de synthèse

**Q18. (C5)** L'antibiorésistance est le phénomène qui consiste, pour une bactérie, à devenir résistante aux antibiotiques. Jusqu'à présent les antibiotiques étaient les seuls médicaments utilisés dans le traitement des infections bactériennes. Mais les bactéries exposées aux antibiotiques se sont progressivement adaptées et ont développées des mécanismes de défense qui leur permettent d'échapper à leur action rendant difficile voire impossible le traitement de certaines infections bactériennes.

Face à l'augmentation de ces infections à bactéries multirésistantes, la recherche commence à s'intéresser à des alternatives aux antibiotiques comme les bactéries prédatrices telles que *B. bacteriovorus* ou les bactériophages. Ces derniers sont des virus naturels des bactéries qui sont donc capables d'infecter spécifiquement certaines bactéries et d'entraîner leur lyse ce qui permet d'envisager leur utilisation dans le traitement d'infections bactériennes causées par des bactéries multirésistantes.

Cependant l'utilisation des phages comme traitement thérapeutique antibactérien n'est pas aussi simple et s'il existe un certain nombre d'arguments en faveur de leur utilisation, il existe aussi des obstacles.

**Les arguments poussant à leur utilisation sont :**

- La rapidité du traitement : une seule dose peut suffire alors qu'un traitement antibiotique nécessite généralement plusieurs prises sur plusieurs jours ;
- L'absence d'effet secondaire, les phages n'agissant que sur les bactéries et étant sans action sur les cellules eucaryotes de notre organisme ;

- La spécificité de leur action permettant une thérapie ciblée sur la bactérie pathogène sans nuire au microbiome du patient.

**Les arguments en défaveur de leur utilisation** ont pour origine un intérêt récent qui nécessite une autorisation de mise sur le marché, procédure lourde et coûteuse comme la mise au point du procédé industriel permettant d'assurer une parfaite reproductibilité du procédé de fabrication, un développement préclinique assurant la sécurité du produit fini et des essais cliniques pour tester l'efficacité du produit fini.

Cette mise sur le marché étant coûteuse, les premiers médicaments à base de phages auront un coût élevé.

De plus la spécificité des phages, un argument en faveur de leur utilisation, peut aussi être un problème car pour l'instant il n'existe pas de cocktail de phages pour toutes les bactéries pathogènes.

**Cependant leur utilisation reste une bonne alternative à l'utilisation des antibiotiques** pour des infections nosocomiales à bactéries multirésistantes. Une autorisation de mise sur le marché et une utilisation de ces phages pourraient permettre de lever les derniers obstacles à leur utilisation comme leur coût élevé et leur difficulté d'utilisation.

**UTILISATION DE LA TOXINE DE *BACILLUS THURINGIENSIS*  
DANS L'AGRICULTURE**

**Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

**1- Sélection et production de *Bacillus thuringiensis* à grande échelle**

**Q1\*. (C1)** Étape 1 → passage d'une forme végétative à une forme sporulée donc phénomène de **sporulation**.

Étape 2 → passage d'une forme sporulée à une forme végétative donc phénomène de **germination**.

**Q2\*. (C1)** L'étape de chauffage de la suspension de terre à 80 °C pendant 15 min donc à une température supérieure à 60 °C permet de détruire les formes végétatives. Or les formes sporulées résistent à de températures supérieures à 80 °C donc cette étape de chauffage permet de **sélectionner les formes sporulées** des bactéries.

**Q3\*. (C1)** Après 24 h d'incubation à 37 °C d'un ensemencement de suspension de terre sur le milieu A, on observe la présence de plusieurs types différents de colonies donc **échantillon de terre polymicrobien donc non pur**.

**Q4\*. (C1)** Comparaison des résultats obtenus sur les milieux A et B :

Sur milieu A = milieu sans L-sérine, on peut observer deux types de colonies, un type caractéristique de *B. thuringiensis* et un autre type.

Sur milieu B = milieu contenant de la L-sérine, on observe un seul type de colonies caractéristique de *Bacillus thuringiensis*.

Or la composition des deux milieux ne diffèrent que par la L-sérine donc L-sérine permet d'éliminer la flore secondaire (qui n'a pas été éliminée lors de l'étape de chauffage) pour rendre le milieu B sélectif de *B. thuringiensis*.

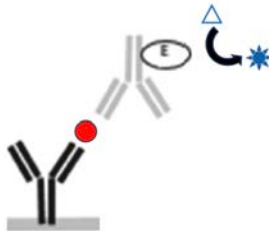
**Q5\*\*. (C3)** Après coloration de Gram, on peut observer à l'intérieur des formes bacillaires correspondant à l'observation microscopique du prélèvement 2, une structure non colorée. Or on nous dit qu'en raison de la structure de sa paroi, la spore ne fixe pas les colorants de la coloration de Gram donc cette structure arrondie correspond à une spore. Sur le document 3, on peut voir que le prélèvement 2 a été réalisé durant la phase de déclin. L'apparition des spores durant cette phase peut s'expliquer par un environnement devenu

hostile à la croissance : apauvrissement du milieu en nutriments, accumulation de déchets toxiques...

**Q6\*\*\*. (C4)** On nous dit que *Bacillus thuringiensis* produit la toxine Bt principalement lors de la phase de sporulation or on a vu en Q5 que la sporulation de *B. thuringiensis* se faisait en phase de déclin donc la toxine Bt peut être récupérée lors de la phase de déclin.

## 2- Mise en évidence de la production de la toxine Bt par la méthode ELISA

**Q7\*\*. (C3)**



**Q8\*\*\*. (C4)** La solution d'acide sulfurique ajoutée dans la procédure opératoire est une solution d'arrêt. L'enzyme étant de nature protéique, à la concentration de  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , cette solution d'acide sulfurique va entraîner la dénaturation de l'enzyme et donc stopper la réaction enzymatique.

**Q9. (C2)**

$$\text{EG} : c_{(\text{toxine Bt} ; \text{prélèvement})} = \frac{A_{450 \text{ nm}}(\text{prélèvement})}{A_{450 \text{ nm}}(\text{étalon})} \times c_{(\text{toxine Bt} ; \text{étalon})} \times Fd$$

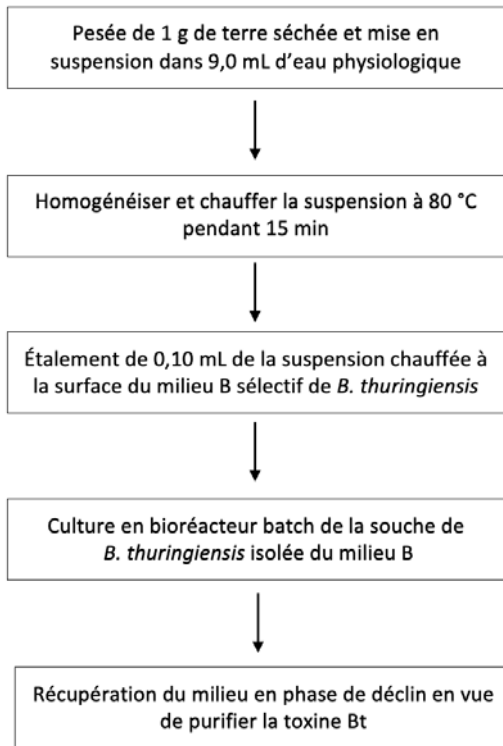
$$\text{EVN} : c_{(\text{toxine Bt} ; \text{prélèvement 1})} = \frac{0,001}{0,510} \times 2,50 \times 10 = 0,05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$c_{(\text{toxine Bt} ; \text{prélèvement 2})} = \frac{0,420}{0,510} \times 2,50 \times 100 = 205,88 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

**Q10\*\*\*. (C4)**

Dans le surnageant du prélèvement 1, on n'a qu'une très faible concentration en toxine Bt alors que dans le prélèvement 2, on a une très forte concentration en toxine Bt or le prélèvement 2 a été réalisée lors de la phase de déclin donc la **production de toxine Bt a lieu pendant la phase de déclin** qui correspond à la phase de sporulation de *Bacillus thuringiensis*.

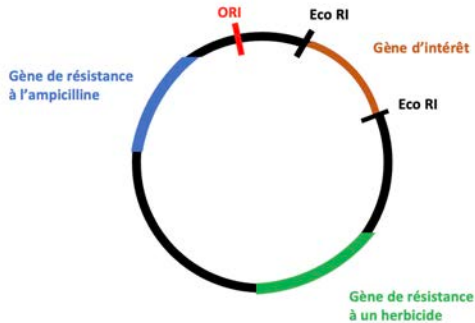
**Q11. (C5)** Organigramme des principales étapes de la production de la toxine Bt à partir d'un échantillon de terre :



### 3- Une alternative à la culture du *Bacillus thuringiensis* : des plantes productrices de la toxine Bt insecticide

**Q12\*\*\*. (C4)** Deux sites de restriction Eco RI encadrent le gène d'intérêt localisé dans un plasmide de *B. thuringiensis* et il n'y a pas d'autres sites Eco RI dans ce plasmide d'où le choix de cette enzyme de restriction Eco RI pour extraire le gène d'intérêt. De plus il existe un seul site Eco RI localisé dans la zone SCM (site de clonage multiple) du plasmide non recombiné donc insertion du gène d'intérêt extrait par coupure avec Eco RI possible dans vecteur de clonage.

### Q13\*\*. (C3)



**Q14\*\*\*. (C4)** L'ampicilline permet de sélectionner **les bactéries hôtes transformées** c'est à dire les bactéries qui ont intégrées un plasmide (recombiné ou non).

L'herbicide permet de sélectionner **les cellules de maïs transfectées** c'est-à-dire les cellules de maïs qui ont intégré un plasmide recombiné.

**Q15\*\*. (C3)** À l'étape 4 (ligation), le plasmide peut intégrer un gène d'intérêt pour donner un plasmide recombiné ou se refermer sur lui-même sans intégrer de gène d'intérêt. Dans ce dernier cas l'étape 4 produira un vecteur de clonage « vide ».

## Partie II – Question de synthèse

### Q16. (C5)

Les insecticides chimiques de synthèse, destinés à la lutte contre les insectes ravageurs des cultures peuvent présenter une toxicité vis-à-vis des d'insectes non nuisibles comme les abeilles. Une alternative possible à ces insecticides chimiques pourrait être l'épandage direct de *Bacillus thuringiensis israelensis*. Cette bactérie peut produire en effet des protoxines Bt qui ingérée par les larves d'insectes dont le pH intestinal est basique vont donner une toxine Bt active entraînant la mort de la larve d'insecte. Le pH de l'homme étant acide, les protoxines Bt ingérées lors de la consommation de la plante cultivée ne donneront pas de toxine active donc on pourrait penser que cet épandage de *Bacillus thuringiensis israelensis* pourrait protéger les cultures des insectes ravageurs sans être nuisible pour l'homme.

Partant de ce constat, le Conseil Scientifique du Patrimoine Naturel et de la Biodiversité (CSPNB) a expérimenté, à partir de 2006, un épandage de *Bacillus thuringiensis israelensis* en Camargue pour lutter contre les moustiques.

Un suivi des conséquences de cet épandage sur la faune naturelle du parc régional de Camargue a permis d'apporter un autre regard et a amené le CSPNB à préconiser l'arrêt de l'utilisation de ce biopesticide. L'avis négatif du CSPNB repose sur plusieurs arguments :

- Ce biopesticide est peu spécifique et peut aussi entraîner la mort de larves d'insectes, autres que les moustiques, consommées par une grande diversité d'espèces aquatiques et terrestres comme les libellules, les araignées et certains oiseaux ce qui peut profondément perturber l'écosystème biologique camarguais.

- Une utilisation intensive d'insecticide chimique ou biologique peut entraîner l'apparition de moustiques résistants aux insecticides ce qui, à terme, pourrait poser problème pour garder un traitement efficace pour lutter contre ces moustiques.

En conclusion, l'utilisation de tout insecticide, chimique ou biologique doit être évitée ou se faire de manière raisonnée, si nécessaire, afin de préserver la biodiversité des écosystèmes.



**VALORISATION DE DÉCHETS AGRICOLES PAR UN MICRO-ORGANISME GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉ**

**Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

**1- Construction et sélection de *C. glutamicum* GM**

**Q1-** Gènes communs aux deux plasmides : gène *rep* codant la protéine initiateur de la réplication du plasmide + gène *KmR* de résistance à la kanamycine.

Insert : gènes *ilvB* + *ilvN* + *ilvC*.

**Q2-**

Taille de l'insert = taille plasmide recombiné – taille plasmide non recombiné

Taille insert = 11100 – 5347 = 5753 pb

**Q3-** Enzyme 1 = enzyme de restriction Bam HI permettant la coupure du vecteur de clonage pECKA et la coupure de l'ADN source de part et d'autre du gène d'intérêt.

Enzyme 2 = ligase permettant la ligation du gène d'intérêt dans le vecteur de clonage pour obtenir le plasmide recombiné pECKB.

**Q4-** Les gènes *ilvB*, *ilvN* et *ilvC* constituant l'insert ont été introduits au niveau du gène *lacZ* qui est ainsi interrompu par l'insert et donc n'est plus fonctionnel.

**Q5-** Les bactéries hôtes de *C. glutamicum* sont sensibles à la kanamycine donc toute bactérie non transformée par un plasmide apportant la résistance à la kanamycine va être incapable de croître sur un milieu contenant cet antibiotique.

**Q6-** Les bactéries présentant un gène *lac Z* fonctionnel peuvent synthétiser la  $\beta$ -galactosidase qui va hydrolyser le substrat chromogène X-Gal présent dans le milieu libérant ainsi du galactose et un composé bleu. Les colonies présentant un gène *lac Z* fonctionnel vont donc être bleues.

**Q7-** *C. glutamicum* GM producteur de valine contient un plasmide pECKB dont le gène *lac Z* a été interrompu par l'insertion des gènes *ilv* codant pour

les enzymes impliquées dans la synthèse de la L-valine. Ce gène lac Z n'est donc plus fonctionnel et ne pourra pas coder pour la synthèse de  $\beta$ -galactosidase. Les souches de *C. glutamicum* GM producteur de valine vont donc donner des colonies blanches sur milieu contenant du X-Gal. Les colonies de *C. glutamicum* GM à sélectionner pour produire de la L-valine en grande quantité sont donc les colonies incolores.

## 2- Suivi de croissance de *C. glutamicum*

### 2.1- Contrôle des paramètres de croissance de *C. glutamicum*

**Q8-** La détermination de  $\mu_X(\text{expo}; C. glutamicum GM)$  se fait en calculant le coefficient directeur de la partie linéaire de la courbe  $\ln D$  en fonction du temps au niveau de la phase exponentielle de la courbe de croissance de *C. glutamicum* GM.

**Q9-** Calcul du taux de croissance népérien :

$$\mu_{X \text{ expo } (C. glutamicum GM)} = \frac{\ln D_2 - \ln D_1}{t_2 - t_1} = \frac{2,3 - 1,5}{9 - 7} = 0,4 \text{ h}^{-1}$$

$$G_{(C. glutamicum GM)} = \frac{\ln 2}{\mu_{X \text{ expo } (C. glutamicum GM)}} = \frac{\ln 2}{0,4} = 1,73 \text{ h}$$

**Q10-** Le temps de génération de la souche de *C. glutamicum* non modifiée est de  $1,55 \text{ h} \pm 0,05 \text{ h}$  donc inférieur à celui de la souche de *C. glutamicum* GM donc la modification génétique de la souche influe sur sa croissance. Elle entraîne un ralentissement de la croissance.

**Q11-** Sur la courbe de croissance de *C. glutamicum* GM associée à la production de L-valine, on observe un pic de L-valine durant la phase exponentielle de croissance de la souche.

Sur la courbe de croissance de *C. glutamicum* non modifiée associée à la production de L-valine, on observe une très petite production de L-valine toujours durant la phase exponentielle de croissance de la souche.

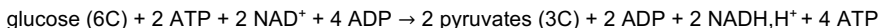
**Q12-** Sur la courbe de croissance de *C. glutamicum* GM associée à la production de L-valine, une production de L-valine jusqu'à  $32,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  au maximum aux alentours de 8h.

Sur la courbe de croissance de *C. glutamicum* non modifiée associée à la production de L-valine, la production de L-valine est nettement plus faible  $2,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  au maximum aux alentours de 8h.

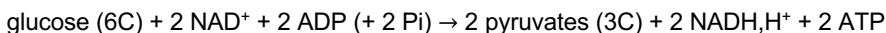
L'intérêt de la modification génétique de la souche de *C. glutamicum* pour les industriels produisant de la L-valine est donc d'obtenir une plus forte production de L-valine.

### 3- Synthèse de L-valine et valorisation des déchets végétaux

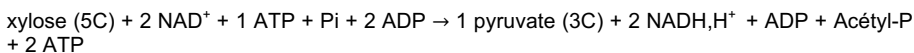
**Q13-** Bilan de matière de la dégradation d'une mole de glucose en pyruvate pour la voie B :



donc en bilan :



Bilan de matière de la dégradation d'une mole de xylose en pyruvate pour la voie A :



donc en bilan :



**Q14-** Nombre de moles d'ATP produites par la voie A :

Produits directs		Équivalents en ATP
Nombre d'ATP	1	1
Nombre de NADH, H <sup>+</sup>	2	2 × 3 = 6
	<b>TOTAL ATP</b>	<b>7</b>

**Q15-** La souche de *C. glutamicum* est capable d'utiliser les deux voies cataboliques A et B mais, en présence de xylose, la souche ne peut utiliser la réaction 1 donc ne peut utiliser la voie B et donc, dans ces conditions, seule la voie A de dégradation du xylose sera utilisée. Or les déchets végétaux contiennent de grandes quantités de xylose donc *C. glutamicum* GM présente un intérêt dans la valorisation des déchets végétaux.

**Q16-** Comparaison des caractéristiques biochimiques et métaboliques des deux souches :

<b><i>C. glutamicum</i> non modifiée</b>	<b><i>C. glutamicum</i> GM</b>
KanS	KanR
$\beta$ -gal +	$\beta$ -gal -
$G_{(C.glutamicum\ GM)} = 1,55\ h$	$\mu_{X\ expo\ (C.glutamicum\ GM)} = 0,4\ h^{-1}$ $G_{(C.glutamicum\ GM)} = 1,73\ h$
Faible production de valine	Forte production de valine
Capacité à utiliser les deux voies A et B de dégradation du glucose et du xylose	Capacité à utiliser les deux voies A et B de dégradation du glucose et du xylose mais en présence de xylose seule la voie du xylose est utilisée → valorisation déchets végétaux

## Partie II : Question de synthèse

**Démarche d'analyse des risques appliquées aux plantes génétiquement modifiées.**

L'utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM) et en particulier les plantes génétiquement modifiées comme le maïs Bt soulève des questions sociétales en raison notamment des risques qu'ils présentent pour l'environnement.

Pour mieux comprendre les risques que peuvent présenter ces plantes génétiquement modifiées, on peut appliquer une démarche d'analyse des risques.

**Le danger** est constitué par les plantes génétiquement modifiées.

**La situation dangeureuse** est représentée par les cultures en milieu extérieur.

**Les évènements déclencheurs** sont dans ce cas les évènements susceptibles de causer un dommage à l'environnement.

Pour le maïs Bt par exemple, plante génétiquement modifiée pour produire une protéine insecticide, on peut en lister un certain nombre comme

- la dissémination des gènes de manière incontrôlée dans la nature et de ce fait toucher des cultures bio qui perdraient leur label bio garantissant l'absence d'OGM,
- la destruction d'insectes non cibles importants pour la préservation de la biodiversité et jouant un rôle dans l'équilibre écologique global en étant des prédateurs de parasites ;
- l'apparition d'insectes cibles résistants à cette molécule insecticide.

De ce fait un certain nombre de **mesures de prévention** ont été mises en place en France pour limiter les risques d'utilisation d'OGM et de production d'OGM :

- l'utilisation d'OGM est soumise à la garantie de ne pas provoquer de maladies chez l'être humain, les animaux ou les végétaux ni de causer d'effets négatifs sur l'environnement.
- la production d'OGM doit se faire en système clos avec une analyse des effluents aqueux trimestrielle pour vérifier l'absence d'OGM. Les déchets susceptibles de contenir des OGM doivent être inactivés par des moyens validés avant élimination.

**TRANSITION ÉCOLOGIQUE : DÉVELOPPEMENT DES BIOPESTICIDES**

**Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

**Q1-** L'épandage direct de *Bacillus thuringiensis* dans la nature ou sur les cultures pourrait toucher non seulement les insectes ravageurs cibles mais aussi des insectes non cibles importants pour maintenir la biodiversité essentielle à l'équilibre et au bon fonctionnement des écosystèmes naturels.

L'utilisation de maïs GM limite cette dissémination. La toxine est alors produite par la plante et ne tue que les larves d'insectes qui attaquent les cultures.

**1- Démarche d'obtention de plants de maïs génétiquement modifié**

**Q2-** Étapes conduisant à la modification d'*Agrobacterium tumefaciens* :

- 1 extraction plasmide de *Bacillus thuringiensis* présentant le gène *cry*
- 2 amplification du gène d'intérêt *cry* par PCR
- 3 intégration du gène *cry* dans le vecteur de clonage : plasmide Ti pour obtenir le plasmide recombiné TiR
- 4 sélection du vecteur recombiné
- 5 transformation d'*Agrobacterium tumefaciens*
- 6 sélection et culture des bactéries génétiquement modifiées.

Étapes conduisant à l'obtention d'un plant de maïs génétiquement modifié :

- 7 transfection des cellules de maïs
- 8 sélection et culture des cellules de maïs Bt
- 9 production in vitro de plants de maïs
- 10 culture de maïs OGM Bt résistants aux ravageurs

**Q3-** Le plasmide de *Bacillus thuringiensis* portant le gène *cry* codant la protéine Bt est non injectable dans les cellules végétales alors que le plasmide Ti d'*Agrobacterium tumefaciens* peut permettre une transfection des cellules végétales d'où l'intérêt de transférer le gène *cry* de la bactérie *Bacillus thuringiensis* à la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*.

## 2- Vérification de la modification génétique d'*Agrobacterium*

### 2.1- Amplification du gène d'intérêt *cry* par PCR

#### Q4- Différentes étapes de la PCR

Étape 1 : on observe une séparation des deux brins d'ADN donc **étape de dénaturation**.

Étape 2 : on observe la fixation des amorces sur chaque brin d'ADN donc **étape d'hybridation**.

Étape 3 : on observe une synthèse des brins complémentaires pour chaque brin d'ADN matrice à partir de chaque amorce donc **étape d'élongation**.

**Q5-** L'ADN polymérase utilisée lors de la PCR doit résister aux différentes températures utilisées pour réaliser chaque cycle de la PCR et en particulier à 95 °C, température de dénaturation de l'ADN donc cette ADN polymérase doit être **thermorésistante**.

**Q6-** Séquence d'ADN complémentaire de l'amorce antisens selon l'orientation 5' → 3' :

5' GTAATCAAGGGACCTGGTCA 3'

**Q7-** L'amorce anti-sens s'hybride sur la séquence simple brin 2 du gène *cry* qui correspond à la séquence complémentaire de l'amorce antisens écrite en Q6, les deux brins (brin matrice et amorce) étant antiparallèles.

**Q8-** Le témoin d'efficacité contient le gène *cry* et un mix permettant son amplification par PCR. Après migration électrophorétique des produits de l'amplification par PCR, on peut observer, pour le témoin d'efficacité, une bande qui migre à la même distance que la bande 1500 du marqueur de taille. Donc le gène *cry* a une taille de 1500 pb.

**Q9-** Le témoin déposé sur la piste 3 contient une séquence d'ADN ne contenant pas le gène *cry* et un mix permettant l'amplification du gène *cry*. Si la PCR est spécifique, les amorces spécifiques de *cry* ne pourront pas se fixer sur cette séquence d'ADN et donc il n'y aura pas d'amplification de cette séquence d'ADN et donc pas de bande observable après migration électrophorétique des produits d'amplification au niveau de la piste 3.

**Q10-** Absence de bande au niveau de la piste 3 donc absence d'amplification d'ADN donc spécificité PCR validée.

Présence d'une bande migrant à la hauteur de 1500 pb au niveau de la bande 1 donc témoin d'efficacité de la PCR validé.

On peut donc lire les résultats de la piste 2 correspondant à l'essai. Présence d'un amplicon migrant au même niveau que l'amplicon du témoin d'efficacité donc étapes 1 (extraction du plasmide) et 2 (amplification du gène d'intérêt *cry* par PCR) de la procédure de la modification génétique d'*Agrobacterium tumefaciens* vérifiées.

## 2.2- Intégration du gène *cry* dans le plasmide Ti

**Q11-** Taille du plasmide TiR recombiné avec gène *cry* :

Taille plasmide TiR =  $190 \cdot 10^3$  pb

Taille amplicon *cry* = 1500 pb

Taille plasmide recombiné =  $190 \cdot 10^3 + 1500 = 191,5 \cdot 10^3$  pb

**Q12-** Sur gélose nutritive additionnée d'ampicilline, seules les souches résistantes à l'ampicilline vont pouvoir croître donc seules les souches d'*Agrobacterium tumefaciens* ayant intégré le plasmide recombiné TiR qui apporte la résistance à l'ampicilline.

Or les deux milieux, GN et GN + ampicilline, ont été ensemencés avec une anse calibrée donc délivrant le même volume de suspension d'*Agrobacterium tumefaciens* après étape de transformation et on peut supposer que l'étape d'incubation de 24 h s'est faite dans les mêmes conditions. Si l'efficacité de transformation était de 100 % on devrait donc obtenir le même nombre de colonies sur les deux milieux. Or le nombre de colonies sur la GN + ampicilline correspondant à des colonies de la souche effectivement transformée est nettement inférieur au nombre de colonies sur GN correspondant à la population entière d'*Agrobacterium tumefaciens* qui a été soumise à l'étape de transformation. Donc un grand nombre de bactéries d'*Agrobacterium tumefaciens* ne sont pas transformées après l'étape de transformation donc l'efficacité de transformation n'est pas de 100 %.

## 3- Contrôle de la production de la protéine Bt dans les plants génétiquement modifiés

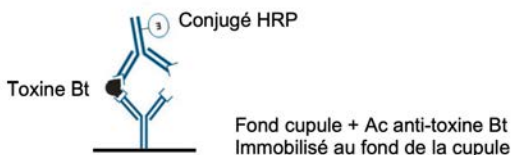
**Q13-** Les éléments reconnaissant spécifiquement la toxine Bt dans la liste de matériel et réactifs du coffret ELISA sont les anticorps anti-toxines Bt immobilisés au fond des cupules A1 à A8 des barettes de 9 cupules et les anticorps anti-toxines Bt couplé à la peroxydase de raifort qui constituent le réactif conjugué HRP.



**Q14-** Les différents lavages ont pour rôle d'éliminer, à chaque étape, tout ce qui n'est pas fixé :

- molécules autres que la toxine Bt contenues dans l'échantillon de maïs OGM Bt et qui ne peuvent donc pas former un complexe Ag-Ac avec les anticorps anti-toxine Bt immobilisés au fond des cupules après l'étape 1 ;
- anticorps conjugués en excès et donc non fixés par une réaction Ag-Ac à la toxine Bt après l'étape 3.

**Q15-** Schéma de la cupule échantillon après lavage réalisé à l'étape 4 :



**Q16-** Rôles de la solution d'arrêt ajoutée à l'étape 6 de l'ELISA

- dénaturation de l'enzyme, la peroxydase de raifort, et donc arrêt de la réaction enzymatique ;
- la solution d'arrêt est acide et le produit de la réaction enzymatique devient jaune en milieu acide et absorbe à 450 nm donc le second rôle de la solution d'arrêt est de permettre la lecture des résultats par mesure de l'absorbance à 450 nm.

**Q17-** Équation aux grandeurs de la concentration en masse de toxine dans l'échantillon de maïs OGM Bt

$$EG : \rho_{(toxine\ Bt ; \text{échantillon}\ Bt)} = \frac{A_{450\ nm(essai)}^{-0,1218}}{0,0034}$$

**Q18-** Équation aux valeurs numériques et calcul de la concentration en masse de toxine dans l'échantillon de maïs OGM Bt

$$EVN : \rho_{(toxine\ Bt ; \text{échantillon}\ Bt)} = \frac{0,700-0,1218}{0,0034} = 170,06\ ng \cdot mL^{-1}$$

## 4- Bilan

**Q19-** Ensemble des vérifications mises en place par le laboratoire pour permettre la production d'un maïs OGM Bt :

- Vérification de la modification génétique d'*Agrobacterium tumefaciens* :
  - Vérification, après l'étape 2, de l'efficacité et de la spécificité de l'amplification du gène d'intérêt *cry* par PCR ;
  - Vérification de la bonne intégration du gène *cry* dans le plasmide (étape 4 non précisée) ;
  - Vérification de l'efficacité de transformation d'*Agrobacterium tumefaciens* par le plasmide TiR et calcul du pourcentage de transformation par culture d'*Agrobacterium tumefaciens* après l'étape de transformation sur GN et sur GN + ampicilline
- Vérification de la production de toxine Bt dans les plants de maïs génétiquement modifiés et détermination de la concentration en masse de la toxine d'un échantillon de maïs par ELISA sandwich.

### Partie II – Question de synthèse

La culture et la consommation de plantes OGM sont à l'origine de nombreux débats dans notre société et le maïs MON810 ne fait pas exception. Cette lignée de maïs Bt est un OGM de la firme américaine Monsanto. Les maïs Bt sont des variétés de maïs génétiquement modifiées auxquelles a été ajouté un gène «cry» permettant à la plante de produire par elle-même une molécule insecticide.

L'Agence Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) a émis un avis positif en mettant en avant une utilisation sans risque pour l'être humain et l'animal. Une étude menée par l'INRAE confirme ce point de vue et démontre l'absence d'effets néfastes sur le métabolisme de rats après 6 mois, 1/3 de la vie du rat, de régime contenant du maïs transgénique MON 810.

Le gouvernement français et d'autres pays européens maintiennent cependant toujours leur interdiction en mettant en doute l'efficacité de la plante à combattre d'elle-même les insectes. En effet, les insectes deviennent progressivement résistants et la toxine insecticide produite par le maïs GM Bt perd alors de son efficacité.

De plus l'apparition d'un nouveau gène de résistance à transmission rapide est à l'origine d'une dissémination très rapide de cette résistance.

La culture de maïs MON810 semble donc partagée entre sûreté d'utilisation mais perte d'efficacité progressive.

**AMÉLIORATION DE MICRO-ALGUES POUR L'ÉLABORATION D'UN  
COMPLÉMENT ALIMENTAIRE LIPIDIQUE**

**Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

**1- Obtention de micro-algues mutées par pression de sélection continue**

**Q1-** Le graphe du **document 1** présente l'évolution de la concentration en micro-algues au cours du temps en fonction de deux conditions de stress différentes : culture à une température élevée et culture sur milieu pauvre en azote. Dans ces deux conditions de stress, nous pouvons observer une baisse du logarithme népérien de la concentration en algues au cours des 2,5 premiers jours et donc une baisse de la concentration en algues.

Donc les conditions de culture 1 : culture en température élevée et les conditions de culture 2 : culture en milieu appauvri en azote entraîne une **décroissance** et ont donc bien un impact sur la croissance de la microalgue.

**Q2-** Sur le même graphe du **document 1**, après une diminution de croissance jusqu'à 2,5 jours

- dans les conditions de culture 1 : culture à température élevée, on observe toujours une diminution de la concentration en microalgues ;

- dans les conditions de culture 2 : culture en environnement pauvre en azote, on observe une augmentation de la croissance jusqu'au quatrième jour pour atteindre un résultat de  $\ln C_{N(\text{microalgue})}$  égal à un peu moins de 11,0 alors que sans stress le résultat  $\ln C_{N(\text{microalgue})}$  attendu est de 29,2.

Cette remontée de la concentration en microalgues au bout de 2,5 jours dans les conditions de culture 2 traduit une adaptation de la souche à son environnement. Le choix de la condition de culture 2 pour sélectionner une souche adaptée à son environnement est donc judicieux.

**Q3-** La réaction enzymatique suivie (réaction catalysée par la  $\beta$ -cétocoacyl-ACP réductase) s'accompagne d'une oxydation du coenzyme réduit NADPH,  $H^+$  en coenzyme oxydé  $NADP^+$ . Sur le spectre d'absorption du coenzyme sous forme oxydée et réduite, on constate, qu'à 340 nm, seule la forme réduite NADPH,  $H^+$  absorbe (absorbance  $NADP^+$  à cette longueur d'onde de 340 nm

est nulle) ce qui justifie le choix de cette longueur d'onde pour suivre la réaction.

**Q4-** Le composé suivi est celui qui absorbe à 340 nm donc NADPH, H<sup>+</sup>. Or au cours de la réaction ce composé est oxydé en NADP<sup>+</sup> donc sa concentration va diminuer donc **l'absorbance va diminuer**.

**Q5-** Lorsqu'on compare les structures tridimensionnelles des deux enzymes sauvage et mutée, on peut observer une modification de la structure du site catalytique de l'enzyme alors que le reste de la structure est inchangé. Pour la microalgue sauvage, on peut observer un site catalytique en hélice proche d'un domaine lui-même formé d'hélices alpha alors que pour la microalgue mutée, on observe au niveau du site catalytique et du domaine proche de ce site une structure en boucles et donc une disparition de cette structure en hélice.

**Q6-**  $v_i \max$  correspond à la valeur maximale de  $v_i$  lorsque l'enzyme est saturée en substrat (absence d'augmentation de  $v_i$  même si on augmente la concentration en substrat).

$$v_i \max (\beta\text{-cétolacyle-ACP réductase ; algue sauvage}) = 1,9 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$v_i \max (\beta\text{-cétolacyle-ACP réductase ; algue mutante}) = 3,9 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$$

**Q7-**  $v_i \max (\beta\text{-cétolacyle-ACP réductase ; algue mutante}) = 3,9 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  supérieure à

$v_i \max (\beta\text{-cétolacyle-ACP réductase ; algue sauvage}) = 1,9 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  donc la mutation favorise l'activité de l'enzyme  $\beta\text{-cétolacyle-ACP réductase}$ .

**Q8-** L'activité catalytique  $Z_{(\text{réductase mutante}; V_{MR})} = 16 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$  de microalgue est supérieure à l'activité catalytique  $Z_{(\text{réductase sauvage}; V_{MR})} = 7 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$  de microalgue or cette enzyme intervient dans la synthèse des lipides donc la synthèse des lipides par la microalgue mutée est bien plus élevée que la synthèse des lipides par la microalgue sauvage.

**Q9-** 
$$Z = v_{i\max} \times V_{MR}$$

Or pour question Q7 on a trouvé :

$$v_i \max (\beta\text{-cétolacyle-ACP réductase ; algue mutante}) > v_i \max (\beta\text{-cétolacyle-ACP réductase ; algue sauvage})$$

$$\text{d'où } Z_{(\text{réductase mutante}; V_{MR})} > Z_{(\text{réductase sauvage}; V_{MR})}$$

Pour la question Q5 on a pu constater une modification du site catalytique qui peut être à l'origine d'une meilleure activité catalytique de l'enzyme d'où un  $Z(\text{réductase mutante} ; V_{MR}) > Z(\text{réductase sauvage} ; V_{MR})$ .

## 2- Suivi de croissance de la souche sauvage et de la souche mutée en milieu non renouvelé

**Q10-** Identification et délimitation des différentes phases de croissance pour la souche sauvage :

0 - 16 h : phase de latence

16 - 24 h : phase d'accélération

24 h - 92 h : phase exponentielle de croissance

92 h - 100 h : phase de ralentissement (peu visible à cette échelle)

100 h - 144 h : phase stationnaire

**Q11-** Quantité de biomasse produite en phase stationnaire :

$N_{max}(\text{souche sauvage}) = e^{\ln N_{max}} = e^{15,1} = 3,6 \cdot 10^6$  microalgues.

$N_{max}(\text{souche mutée}) = e^{\ln N_{max}} = e^{14,7} = 2,4 \cdot 10^6$  microalgues.

La quantité de biomasse produite en phase stationnaire par la souche sauvage est supérieure à la quantité de biomasse produite en phase stationnaire par la souche mutée.

**Q12-** Vitesse de croissance spécifique pendant la phase exponentielle pour chacune des souches :

$\mu_{expo} = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$  en prenant deux points sur la phase exponentielle de croissance et les temps en heures.

$\mu_{expo}(\text{souche sauvage}) = \frac{15 - 14,1}{92 - 60} = 0,028 \text{ h}^{-1}$

$\mu_{expo}(\text{souche mutée}) = \frac{14,4 - 14}{80 - 60} = 0,020 \text{ h}^{-1}$

**Q13-** Temps de génération pour la souche sauvage et la souche mutée :

$G_{\text{souche sauvage}} = \frac{\ln 2}{\mu_{expo}(\text{souche sauvage})} = \frac{\ln 2}{0,028} = 24,8 \text{ h}$

$G_{\text{souche mutée}} = \frac{\ln 2}{\mu_{expo}(\text{souche mutée})} = \frac{\ln 2}{0,020} = 34,7 \text{ h}$

**Q14-** La souche sauvage a un temps de génération plus court et donc va se multiplier plus vite que la souche mutée d'où une quantité de biomasse obtenue en phase stationnaire pour la souche sauvage supérieure à la quantité de biomasse obtenu pour la souche mutée donc la souche sauvage a une croissance plus avantageuse pour une production industrielle de microalgues.

### 3- Comparaison de la production de lipides des deux souches

**Q15-** Le volume de prise d'essai des échantillons à doser = volume d'échantillon déposé dans les puits essai de la procédure opératoire = 50  $\mu\text{L}$ .

$$\mathbf{Q16-} \quad m_{\text{lipides}} = \frac{A_{570 \text{ nm}} + 0,0062}{3,5083}$$

La droite d'étalonnage est une droite d'équation  $y = 3,5083 x - 0,0062$

avec  $x$  = masse en acide palmitique par puits en  $\mu\text{g}$  = masse de lipides par puits en  $\mu\text{g}$  et  $y$  = absorbance à 570 nm de chaque puits

donc  $m_{\text{lipides}} = x$  et  $A_{570 \text{ nm}} = y$

donc  $A_{570 \text{ nm}} = 3,5083 m_{\text{lipides}} - 0,0062$

donc  $3,5083 m_{\text{lipides}} = A_{570 \text{ nm}} + 0,0062$

$$\text{d'où} \quad m_{\text{lipides}} = \frac{A_{570 \text{ nm}} + 0,0062}{3,5083}$$

$$\mathbf{Q17-} \quad m_{\text{lipides extraits souche sauvage}} = \frac{0,871 + 0,0062}{3,5083} = 0,25 \mu\text{g}$$

$$m_{\text{lipides extraits souche mutée}} = \frac{1,397 + 0,0062}{3,5083} = 0,40 \mu\text{g}$$

EG

$$c_{\text{lipides extraits souche sauvage}} = \frac{m_{\text{lipides extraits souche sauvage}}}{V_{\text{extrait dans puits essai}}}$$

$$\text{EU} \quad [\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}] = \left[ \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}} \right]$$

$$\text{EVN : } c_{\text{lipides extraits souche sauvage}} = \frac{0,25}{50} = 0,005 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1} = 0,005 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$c_{\text{lipides extraits souche mutée}} = \frac{0,40}{50} = 0,008 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1} = 0,008 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$$

**Q18-**  $C_{lipides\ extraits\ souche\ mutée} = 0,008\ g \cdot L^{-1}$  est supérieure à  $C_{lipides\ extraits\ souche\ sauvage} = 0,005\ g \cdot L^{-1}$  ce qui permet d'orienter le choix de la souche de microalgue à utiliser pour produire un complément riche en lipides vers la souche mutée.

#### 4- Bilan

**Q19-** Choix de la souche de micro-algue la plus adaptée à la production d'un complément alimentaire riche en lipides :

Q14 : Biomasse en fin de culture obtenue avec la souche sauvage est supérieure à celle obtenue avec la souche mutée donc souche sauvage est plus avantageuse pour une production industrielle de microalgues que la souche mutée.

Q18 : En fin de croissance après récupération par centrifugation des microalgues sauvages et mutées et extraction des lipides, un dosage des lipides dans les deux extraits a montré une concentration en lipides dans l'extrait souche mutée supérieure à la concentration en lipides dans l'extrait souche sauvage malgré une moins bonne croissance.

En conclusion, si l'objectif est d'obtenir un complément alimentaire riche en lipides, il vaut mieux utiliser la souche de microalgue mutée.

### Partie II – Question de synthèse

Un laboratoire souhaiterait déposer un brevet pour l'algue *Trisochrysis lutea* mutée afin de produire des compléments alimentaires riches en lipides.

#### Arguments techniques

- *Trisochrysis lutea* mutée permet d'obtenir des extraits plus riches en lipides que ceux obtenus avec une souche sauvage comme démontré dans les expériences menées par le laboratoire ce qui est intéressant pour l'exploiter pour la production de compléments alimentaires riches en lipides. De plus chez les micro-algues, le rendement de synthèse d'acides gras destinés à la production de biocarburants est 250 fois plus élevé que celui obtenu avec des cultures de soja. Un autre débouché pourrait donc aussi être la production de biocarburants.
- Certaines microalgues sont déjà cultivées pour une exploitation essentiellement en agroalimentaire telles que la spiruline. De ce fait les cultures de microalgues ont déjà été mises au point et du matériel (fermenteurs) existe déjà pour les produire ce qui facilitera l'exploitation industrielle de cultures de *Trisochrysis lutea* mutée.

### Arguments scientifiques :

- *Trisochrysis lutea* mutée est un micro-organisme mutée et non un OGM animal ou végétal donc malgré qu'il soit muté il est brevetable.
- *Trisochrysis lutea* mutée a été obtenue par pression de sélection naturelle par culture en milieu pauvre en azote ce qui constitue un critère de nouveauté.
- *Trisochrysis lutea* mutée est un micro-organisme donc facilement cultivable en fermenteur sans empiéter sur les cultures vivrières et sans entraîner l'introduction d'OGM ou d'intrants (pesticides, ou autres) dans notre environnement contrairement au soja donc peut représenter aussi une alternative possible de production de biocarburants qui engendrerait moins de pollution de l'environnement. En effet l'utilisation de *Trisochrysis lutea* mutée pour produire des biocarburants permettrait de résoudre les problèmes liés à la culture intensive de céréales pour produire des biocarburants tels que l'éthanol à l'origine de l'utilisation d'engrais présentant un risque de pollution de l'environnement et de l'occupation de sols qui pouvaient jusqu'alors être utilisés pour des cultures vivrières.

Tous ces arguments permettent d'appuyer en faveur d'une brevetabilité de *Trisochrysis lutea* mutée pour produire un complément alimentaire riche en lipides mais aussi pour être étudiée en vue d'une production d'une nouvelle génération de biocarburants.



## PUBLICATIONS DE L'UPBM

L'UPBM édite d'autres annales et documents pédagogiques. Certains ouvrages épuisés sont disponibles en consultation ou en téléchargement sur le site internet de l'UPBM. <https://boutique.upbm.org>



<b>PUBLICATIONS</b>	<b>Téléchargeables</b>	<b>Disponibles à l'achat</b>
Annales Bac STL Biotechnologies	2013 - 2017	2021 2022
Annales Bac STL Biochimie Génie Biologique	1995 à 2011	-
Sujets BPH Bac ST2S	2009 à 2021	-
BTS Analyses de Biologie Médicale	2001 à 2017	2018-2019 2020-2021 2022-2023
BTS Bio-Analyses et Contrôle	2006 à 2013	2014-2015 ; 2016-2017 2018-2019 ; 2019- 2021 ; 2022-2023
BTS Biotechnologies	2003 à 2007	2016-2017 ; 2018-2019 2020-2021 ; 2022-2023
Livret Prévention du risque chimique au laboratoire	-	OUI
L'Opéron spécial étiquetage des produits chimiques Numéro spécial de la revue « l'Opéron »	-	OUI
Livret Prévention des risques biologiques au laboratoire	-	OUI
Livret Métrologie	-	OUI
LPrélèvement sanguin	-	OUI
Les laboratoires d'enseignement NSB2 Numéro spécial de la revue « l'Opéron »	-	OUI
Planches hématologiques	-	OUI
Annales concours général des lycées	2013 à 2018 2022	-

## INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

---

**Publication UPBM :** UPBM ÉDILION  
Lycée La Martinière – Duchère  
Avenue Andréï Sakharov  
69 338 LYON Cedex 9

**Site internet UPBM :** <https://upbm.org>

(bons de commande en ligne, description des formations, informations sur les séries et les poursuites d'études, ...)

- accueil boutiques <https://boutique.upbm.org>
- annales BTS : <https://boutique.upbm.org/annalesbts/>
- annales Bac STL : <https://boutique.upbm.org/annalesstl/>
- autres publications : <https://boutique.upbm.org/autrespublications/>

