

ANNALES

BTS BIOANALYSES

ET CONTRÔLES

Sessions 2022 et 2023

Avec éléments de corrigés

Nous remercions monsieur Sylvain ANDRÉ (IA-IPR de biotechnologies - génie biologique) pour la transmission des sujets ainsi que les professeurs de l'enseignement technologique et général qui ont participé à la collecte des sujets, aux relectures et propositions de corrigés notamment Jean-Noël JOFFIN et Lydie NOSSEREAU, mais aussi Bruno DURAND, Marie-Hélène SAKR, Bertrand TOKARSKI, Christine GAUFICHON-CHARRIER.

Merci également à Monsieur Antoine GAUDIN qui a réalisé la couverture.

978-2-491571-00-9



Éditions UPBM-ÉDILION
Avenue Andreï Sakharov
69339 Lyon Cedex 9

[http:// www.upbm.org](http://www.upbm.org)

Sujets avec correctifs et corrections collectés et mis en page par Nathalie GERAULT.

Photographies de couverture de Nathalie GERAULT :

1^{ère} page : prétraitement d'échantillons en SDS-PAGE ;

4^{ème} page : lampe IR de la thermobalance en chauffage ;

RÈGLEMENT D'EXAMEN

			Voie scolaire, apprentissage, formation professionnelle continue dans les établissements publics, privés non habilités, enseignement à distance et candidats justifiant de 3 ans d'expérience professionnelle	Formation professionnelle continue dans les établissements publics habilités	
Épreuves	Unités	Coef	Type d'épreuve	Durée	Forme
E1 Anglais	U10	2	CCF : 2 épreuves en fin de deuxième année		2 situations d'évaluation
E2 Mathématiques et Sciences physiques et chimiques		5		4 h	
Sous-épreuve de mathématiques	U21	2	Écrit	2 h	
Sous épreuve de sciences physiques et chimiques	U22	3	Écrit	2 h	
E3 Biochimie, biologie et technologies d'analyse		9		8 h	
Sous-épreuve de biochimie et technologies d'analyse	U31	3	Écrit	3 h	
Sous épreuve de microbiologie et technologies d'analyse	U32	3	Écrit	3 h	
Sous épreuve de biologie cellulaire et moléculaire (BCM) et technologies d'analyse	U33	3	Écrit	2 h	
E4 Sciences et technologies bio-industrielles (STBI)	U40	3	Écrit	2 h	
E5 Techniques d'analyses et de contrôles et opérations unitaires		10		2 x 12 h maxi	
Sous-épreuve de techniques de biochimie	U51	4	CCF 2 épreuves en fin de première et deuxième année	4 h maxi	2 situations d'évaluation pratique en laboratoire
Sous épreuve de techniques de microbiologie	U52	4	CCF 2 épreuves en fin de première et deuxième année	6 h maxi	2 situations d'évaluation pratique en laboratoire
Sous épreuve de techniques de biologie cellulaire et moléculaire	U53	2	CCF 2 épreuves en fin de première et deuxième année	3 h maxi	2 situations d'évaluation pratique en laboratoire
E6 Soutenance de projet	U60	4	Oral	45 min	
Épreuve facultative (*) : langue vivante étrangère	UF1	1	Oral	20 min	
Épreuve facultative (*) : engagement étudiant	UF2	1	Oral	20 min	
Session de rattrapage			Oral	20 min	2 oraux dans le domaine général si au moins 10/20 dans le domaine professionnel

(*) points au-dessus de la moyenne

Table des matières

SESSION 2022 - Sujets.....	1
Sujet de mathématiques 2022	2
Sujet de sciences physiques et chimiques 2022	6
Sujet de biochimie et technologies d'analyse 2022.....	13
Sujet de microbiologie et technologies d'analyse 2022	20
Sujet de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse 2022	27
Sujet de sciences et technologies bioindustrielles 2022	33
SESSION 2023 - Sujets.....	39
Sujet de mathématiques 2023	40
Sujet de sciences physiques et chimiques 2023	43
Sujet de biochimie et technologies d'analyse 2023.....	48
Sujet de microbiologie et technologies d'analyse 2023	57
Sujet de biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse 2023	66
Sujet de sciences et technologies bioindustrielles 2023	73
SESSION 2022 - Éléments de corrigé	81
Éléments de corrigé de mathématiques 2022.....	82
Éléments de corrigé de sciences physiques et chimiques 2022	84
Éléments de corrigé de biochimie et de technologies d'analyse 2022	86
Éléments de corrigé de microbiologie et de technologies d'analyse 2022	89
Éléments de corrigé de BCM et de technologies d'analyse 2022	92
Éléments de corrigé de sciences et technologies bioindustrielles 2022	94
SESSION 2023 - Éléments de corrigé	97
Éléments de corrigé de mathématiques 2023.....	98
Éléments de corrigé de sciences physiques et chimiques 2023	101
Éléments de corrigé de biochimie et de technologies d'analyse 2023	103
Éléments de corrigé de microbiologie et de technologies d'analyse 2023	105
Éléments de corrigé de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse 2023	107
Éléments de corrigé de sciences et technologies bioindustrielles 2023	109

SESSION 2022 - Sujets

Sujet de mathématiques 2022

La calculatrice en mode examen est autorisée ainsi que l'usage de calculatrice sans mémoire « type collège »

EXERCICE 1 (10 points)

On s'intéresse dans cet exercice à l'évolution, dans un pays de 60 millions d'habitants, du nombre de personnes équipées d'un certain implant médical. On exploitera deux modèles distincts.

Les parties A et B peuvent être traitées de manière indépendante.

Partie A

Le tableau ci-dessous indique le nombre de personnes de ce pays équipées de l'implant médical depuis 2013.

Année	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Rang de l'année k_i	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de personnes N_i (en milliers) équipées de l'implant	56,25	58,1	60,5	63,0	65,8	68,7	72,0	75,5	79,3

On décide de modéliser cette évolution par une fonction exponentielle et pour cela on effectue le changement de variable $y = \ln(N - 30)$.

- Compléter le tableau donné **en annexe à rendre avec la copie**. On arrondira les valeurs au millièmes.
- À l'aide de la calculatrice, déterminer une équation de la droite d'ajustement du nuage de points $M_i(k_i, y_i)$ par méthode des moindres carrés. On écrira cette équation sous la forme $y = ak + b$ où a et b sont des coefficients que l'on arrondira au centième.
 - En utilisant cette équation de droite, déduire que le nombre de personnes (en milliers) équipées de l'implant médical dans ce pays, en fonction du rang k , peut être modélisé par la fonction N d'expression :
$$N(k) = 30 + 26,05e^{0,08k}.$$
- On formule l'hypothèse que le modèle proposé reste valide plusieurs années encore.
 - Quel devrait être le nombre de personnes, au millier près, équipées de l'implant médical dans ce pays en 2026 ?
 - Si on suppose que le nombre d'habitants du pays reste stable sur le long terme, le modèle étudié reste-t-il valide sur le long terme ? Justifier votre réponse.

Partie B

- Dans cette question, on considère la fonction g définie et dérivable sur l'intervalle $[0, +\infty[$ qui vérifie $g(0) = 8$ et qui est solution de l'équation différentielle (E) sur l'intervalle $[0, +\infty[$:

$$(E) : y' + 0,05 y = 0,05$$

- Résoudre sur l'intervalle $[0, +\infty[$ l'équation différentielle $(E_0) : y' + 0,05 y = 0$.
- Déterminer une solution constante de l'équation différentielle (E).
- Résoudre sur l'intervalle $[0, +\infty[$ l'équation différentielle (E).
- On rappelle que $g(0) = 8$.
En déduire une expression de la fonction g sur l'intervalle $[0, +\infty[$.

Soit la fonction f définie sur l'intervalle $[0, +\infty[$ par :

$$f(t) = \frac{450}{1 + 7e^{-0,05t}}$$

On admet que cette fonction permet de modéliser l'évolution du nombre de personnes équipées de l'implant médical dans ce pays.

Plus précisément, $f(t)$ représente le nombre de personnes, exprimé en milliers, équipées de l'implant médical dans ce pays en fonction du temps t mesuré en années depuis 2013.

Par exemple, $f(1)$ représente le nombre de personnes de ce pays équipées de l'implant médical en 2014.

2. Déterminer, selon ce modèle, combien de personnes, au millier près, seront équipées de l'implant médical en 2026.
3. Déterminer la limite de la fonction f en $+\infty$. Interpréter le résultat dans le contexte de l'exercice.
4. À l'aide d'un logiciel de calcul formel, on a obtenu l'expression suivante :

$$f'(t) = \frac{315 e^{-0,05t}}{2(1 + 7e^{-0,05t})^2}$$

En déduire le sens de variation de la fonction f sur l'intervalle $[0, +\infty[$ et l'interpréter dans le contexte de l'exercice.

5. Déterminer à partir de quelle année le nombre de personnes de ce pays équipées de cet implant médical dépassera 120 000, c'est-à-dire 120 milliers. On expliquera la méthode employée.

EXERCICE 2 (10 points)

Les trois parties de cet exercice sont indépendantes.

Dans une usine, une machine à embouteiller est alimentée par un réservoir d'eau et par une file d'entrée qui permet l'approvisionnement en bouteilles vides.

Partie A : défaut d'approvisionnement

On considère qu'il y a défaut d'approvisionnement lorsqu'au moins un des deux cas suivants est réalisé :

- la file d'entrée des bouteilles est vide ;
- le réservoir est vide.

On choisit au hasard un jour d'activité de l'entreprise dans l'année. On note :

- A l'événement : « la file d'entrée des bouteilles est vide au moins une fois dans la journée » ;
- B l'événement : « le réservoir est vide au moins une fois dans la journée ».

On admet que les événements A et B sont indépendants.

Une étude statistique permet de dire que les probabilités des événements A et B sont respectivement données par $P(A) = 0,03$ et $P(B) = 0,02$.

Chaque phrase du tableau de gauche est associée à une unique information correspondante dans le tableau de droite. Pour chacune des quatre réponses, écrire sur la copie le numéro de la phrase avec la lettre qui correspond à l'information associée. Aucune justification n'est demandée.

1	La probabilité de l'événement : « la file d'entrée ne se vide pas dans la journée. »
2	L'événement : « la file d'entrée est vide au moins une fois dans la journée mais pas le réservoir. »
3	La probabilité de l'événement : « la file d'entrée et le réservoir ont été tous les deux vides au moins une fois au cours de la journée. »
4	La probabilité de l'événement : « la machine a connu un défaut d'approvisionnement dans la journée. »

A	$\bar{A} \cap B$
B	0,05
C	$A \cap \bar{B}$
D	0,0494
E	0,97
F	0,0006

Partie B : pannes de la machine à embouteiller sur une durée de 200 jours

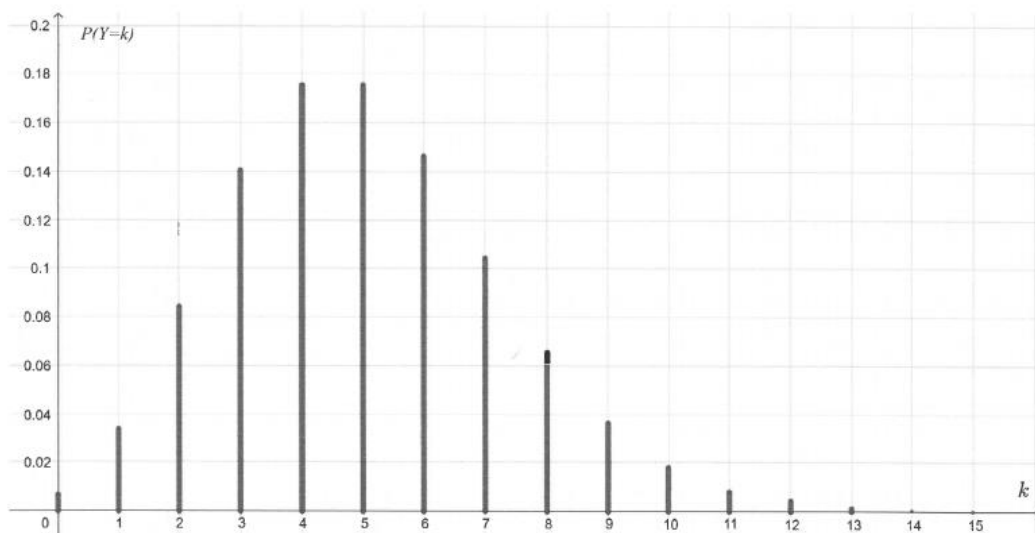
1. Lorsque la machine tombe en panne, elle est immobilisée pour le reste de la journée et réparée pour le lendemain. La probabilité qu'elle tombe en panne un jour quelconque est égale à 0,025.

On note X la variable aléatoire qui, à toute période de 200 jours consécutifs choisie au hasard, associe le nombre de jours où la machine est tombée en panne. On considère que les jours où les pannes surviennent sont indépendants les uns des autres.

Donner, sans justifier, la loi de probabilité suivie par la variable X . Préciser ses paramètres.

2. On admet que la loi de la variable aléatoire X peut être approchée par une loi de Poisson de paramètre λ . Soit Y une variable aléatoire qui suit cette loi de Poisson.

- Justifier que $\lambda = 5$.
- Donner la valeur arrondie à 10^{-3} de la probabilité $P(Y \leq 10)$.
- On a représenté ci-dessous les valeurs de $P(Y = k)$ en fonction des premières valeurs de k :



Cette représentation graphique suggère que la probabilité $P(Y = 15)$ est égale à 0.

On admet que pour tout entier $k \geq 1$ on a :

$$P(Y = k) = \frac{5^k e^{-5}}{1 \times 2 \times \dots \times k}$$

La conjecture « $P(Y = 15)$ est égale à 0 » est-elle vraie ou fausse ? Justifier.

Partie C : qualité de l'embouteillage

Un laboratoire analyse la qualité de l'embouteillage en sortie de machine.

La machine est correctement réglée quand une bouteille remplie contient un volume d'eau dont l'arrondi au centilitre est 75 cL.

On souhaite tester l'hypothèse « la machine est correctement réglée » à l'aide d'un test bilatéral au seuil de confiance de 95 %.

On note :

- m la quantité moyenne d'eau en centilitres dans une bouteille remplie par la machine ;
- s l'écart type correspondant.

On réalise une mesure du volume d'eau arrondi au centilitre pour un échantillon de 100 bouteilles remplies par la machine. Les résultats obtenus figurent dans le tableau ci-dessous :

Quantité d'eau contenue (cL)	73	74	75	76	77
Nombre de bouteilles	17	20	43	13	7

1. Déterminer, à l'aide de la calculatrice, la moyenne $\bar{x}$ et l'écart type σ de cet échantillon.
On donnera la valeur arrondie de l'écart type à 10^{-2} .
2. On souhaite réaliser le test bilatéral suivant au seuil de confiance de 95 % :

$$H_0 : \langle m = 75 \rangle \text{ et } H_1 : \langle m \neq 75 \rangle.$$

On note $\bar{Z}$ la variable aléatoire qui à tout échantillon de 100 bouteilles remplies par la machine associe la moyenne du volume d'eau contenue dans les bouteilles, mesuré en centilitres. On suppose que la variable aléatoire $\bar{Z}$ suit la loi normale d'espérance m et d'écart type s .

Dans la suite, on remplace l'écart type s des volumes d'eau contenue après remplissage par la machine par son estimateur 0,11.

Sous l'hypothèse H_0 , $\bar{Z}$ suit donc la loi normale d'espérance 75 et d'écart type 0,11.

- a. Déterminer un nombre réel h vérifiant $P(75 - h \leq \bar{Z} \leq 75 + h) \approx 0,95$ à 10^{-2} près.
- b. Énoncer la règle de décision du test.
- c. D'après les résultats de l'échantillon donné, peut-on accepter l'hypothèse $H_0 : \langle m = 75 \rangle$?

Annexe à rendre avec la copie

Exercice 1 - Partie A- Question 1

Rang de l'année k_i	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de personnes N_i (en milliers) équipées de l'implant	56,25	58,1	60,5	63,0	65,8	68,7	72,0	75,5	79,3
$y_i = \ln(N_i - 30)$									

Sujet de sciences physiques et chimiques 2022

Matériel autorisé : calculatrice avec mode examen et calculatrice sans mémoire, « type collège »

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante de l'appréciation des copies. Le sujet traite des cosmétiques. Il est composé de quatre parties indépendantes.

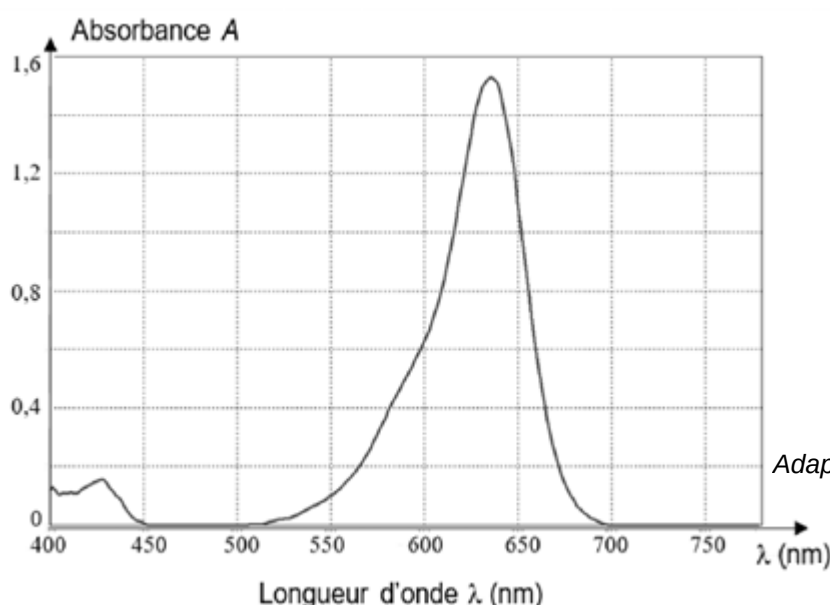
A – Couleur : pigments et colorants (10 points)

Certains pigments et colorants sont autorisés dans la formulation de cosmétiques, et utilisés par les fabricants pour teinter les produits, afin parfois d'augmenter l'attractivité du produit auprès des utilisateurs.

Un fournisseur de lotion démaquillante indique une concentration en colorant "CI 42090" de $(4,0 \pm 0,2) \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Ce colorant est un colorant azoïque et est appelé « bleu brillant ». L'objectif de cet exercice est de vérifier la conformité du produit.

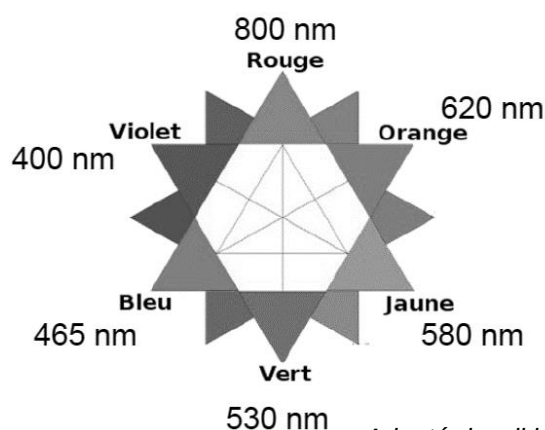
1. Spectre d'absorption : couleur et choix de la longueur d'onde

On donne le spectre d'absorption UV-visible d'une solution aqueuse de CI 42090 entre 400 et 780 nm :



Adapté de <http://www.sciences-edu.net>.

On appelle « étoile chromatique » la représentation ci-contre donnant sur deux branches opposées les couleurs complémentaires : lorsque la matière absorbe une couleur du spectre lumineux, alors l'œil perçoit cette matière comme étant colorée de la couleur complémentaire. Les valeurs des longueurs d'onde associées à chaque couleur sont précisées sur la représentation ci-contre.



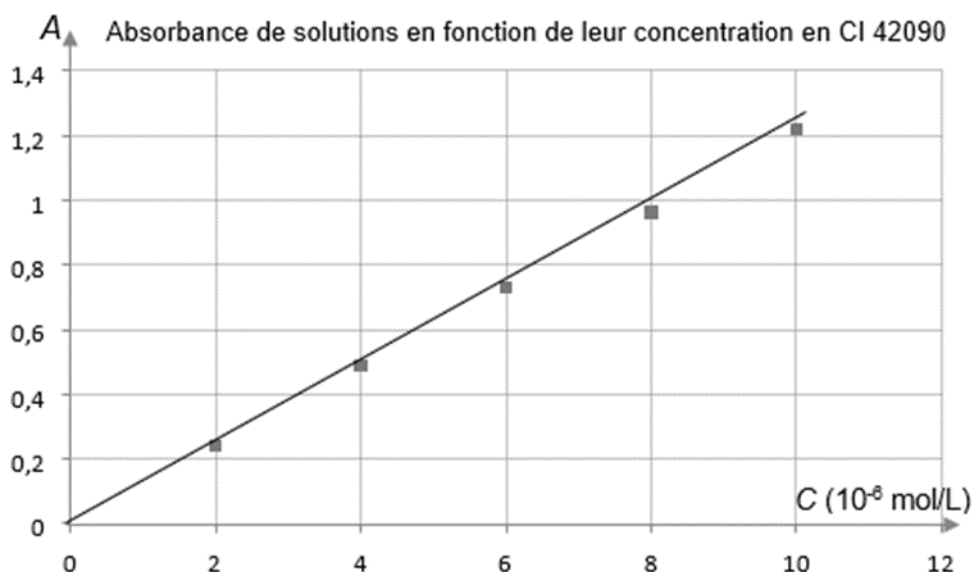
Adapté de wikipedia.org.

Q1. Vérifier en justifiant que la couleur de la solution aqueuse de CI 42090, dit « bleu brillant » est bien bleue.

Q2. Indiquer la longueur d'onde à laquelle il est judicieux de régler le spectrophotomètre pour réaliser le dosage spectrophotométrique d'une solution contenant le colorant CI 42090. Justifier brièvement votre réponse.

2. Courbe d'étalonnage

Une gamme d'étalonnage a été réalisée par dilution d'une solution aqueuse de CI 42090 de concentration $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Après avoir réalisé le blanc optique du spectrophotomètre avec de l'eau distillée, l'absorbance de chacune des solutions de la gamme a été mesurée à la longueur d'onde déterminée précédemment. Les résultats ont permis de tracer le graphe suivant :



La modélisation de la droite passant par une majorité de points donne la relation suivante entre absorbance et concentration : $A = 1,2 \times 10^5 \times C$ avec C en $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Q3. Exprimer la loi de Beer-Lambert en détaillant chacune des grandeurs (nom et unités).

Q4. Justifier par une méthode de votre choix que, dans cet exemple, les conditions de linéarité de la loi de Beer-Lambert sont vérifiées.

3. Mesures

Dans les mêmes conditions, l'absorbance de la lotion étudiée est : $A = 0,462$. On admet que la lotion démaquillante peut être considérée comme une solution aqueuse dans laquelle seul le colorant CI 42090 absorbe à cette longueur d'onde.

Q5. Déterminer la concentration en colorant CI 42090 dans cette lotion démaquillante.

On estime que l'incertitude-type relative lors de ce dosage est de 5 %.

Q6. Exprimer le résultat de mesure.

Q7. Préciser en justifiant si cette lotion démaquillante est conforme à l'indication du fabricant.

B- Eau oxygénée (10 points)

L'eau oxygénée, solution aqueuse de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , est utilisée en cosmétique dans la formulation de produits capillaires pour décolorer les cheveux ou comme fixateur dans les processus chimiques mis en jeu pour les colorations. Elle est aussi utilisée, à une concentration beaucoup plus faible, pour l'éclaircissement des dents.

Différentes concentrations d'eau oxygénée existent en fonction de l'utilisation prévue.

Cet exercice propose de contrôler la concentration en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 de l'eau oxygénée commerciale utilisée par un coiffeur en réalisant un titrage avec réaction d'oxydoréduction support du titrage.

Données :

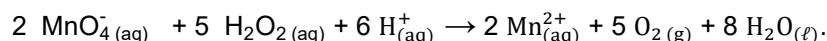
- masse molaire H_2O_2 : $M = 34,0 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$;
- H_2O_2 peut intervenir dans plusieurs couples oxydant-réducteur, notamment $\text{O}_2(\text{g}) / \text{H}_2\text{O}_2(\text{aq})$ de potentiel standard : $E^0 = 0,69 \text{ V}$ à 25°C ;
- l'ion permanganate est l'oxydant du couple oxydant-réducteur $\text{MnO}_4^-(\text{aq}) / \text{Mn}^{2+}(\text{aq})$ de potentiel standard : $E^0 = 1,51 \text{ V}$ à 25°C .

L'eau oxygénée commerciale étudiée est, au préalable, diluée au vingtième. Cette solution diluée sera notée $S_{\text{diluée}}$. Le titrage de cette solution diluée est réalisé par une solution de permanganate de potassium ($K^+_{(aq)}, MnO_4^-_{(aq)}$) en milieu acide, selon le protocole suivant :

- Verser, dans un erlenmeyer, une prise d'essai $V = 10,0$ mL de solution diluée d'eau oxygénée $S_{\text{diluée}}$.
- Ajouter 90 mL d'eau puis doucement 10 mL de solution d'acide sulfurique à 10 % (sous hotte avec gants et lunettes de protection).
- Verser progressivement, à l'aide d'une burette graduée, la solution de permanganate de potassium de concentration connue : $C_0 = 2,00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.
- Déterminer le volume V_E de solution de permanganate de potassium à l'équivalence, l'équivalence étant repérée par la persistance d'une teinte rose.

Q8. Écrire les demi-équations électroniques des couples oxydant-réducteur à prendre en compte pour ce titrage.

Q9. Montrer que l'équation de la réaction chimique support de ce titrage est :



Q10. Établir l'expression de la quantité de matière de $n_{\text{H}_2\text{O}_2}$ de peroxyde d'hydrogène dans la prise d'essai en fonction de C_0 et de V_E .

La concentration de l'eau oxygénée peut s'exprimer en "volumes" : c'est le volume en litres de dioxygène que peut libérer 1,00 L d'eau oxygénée selon l'équation de dismutation suivante : $\text{H}_2\text{O}_{2(aq)} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_{(l)} + \frac{1}{2} \text{O}_{2(g)}$.

Ce volume est mesuré dans les conditions standards de température et pression (0 °C, 1 bar) ; ainsi, une solution d'eau oxygénée à $1,00 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ est à 11,2 volumes.

Q11. Montrer que la concentration en « volumes » C_{volumes} de la solution commerciale d'eau oxygénée a pour expression $C_{\text{volumes}} = \frac{560 \times C_0 \times V_E}{V}$ dans les conditions standards de pression 1 bar, à 0 °C.

Le volume équivalent est : $V_E = 17,4$ mL.

Q12. Déterminer la concentration en « volumes » C_{volumes} de cette solution commerciale.

L'eau oxygénée fait partie des substances utilisées dans les produits cosmétiques pour lesquelles l'Union Européenne a fixé des restrictions. Ainsi, le règlement N° 1197/2013 publié au Journal officiel de l'Union européenne le 26.11.2013 donne les restrictions suivantes concernant le peroxyde d'hydrogène :

Nom chimiques	Restrictions		Libellé des conditions d'emploi et des avertissements
	Type de produit, parties du corps	Concentration maximale dans les préparations prêtes à l'emploi	
Peroxyde d'hydrogène et autres composés ou mélanges libérant du peroxyde d'hydrogène, dont le peroxyde de carbamide et le peroxyde de zinc	a) Produits pour les cheveux et la pilosité faciale	a) 12 % de H_2O_2 (40 volumes) présent ou dégagé	Pour a) et f) : Porter des gants appropriés. Pour a), b), c) et e) : Contient du peroxyde d'hydrogène. Éviter le contact avec les yeux. Rincer immédiatement les yeux si le produit entre en contact avec ceux-ci. e) Concentration du H_2O_2 présent ou dégagé indiquée en pourcentage. « Ne pas utiliser chez les enfants/ adolescents âgés de moins de dix-huit ans ». Doit être vendu uniquement à des praticiens de l'art dentaire. [...]
	b) Produits pour la peau	b) 4 % de H_2O_2 présent ou dégagé	
	c) Produits pour durcir les ongles	c) 2 % de H_2O_2 présent ou dégagé	
	d) Produits buccodentaires, y compris les produits de rinçage buccal, les dentifrices et les produits de blanchiment ou d'éclaircissement des dents	d) $\leq 0,1$ % de H_2O_2 présent ou dégagé	
	e) Produits de blanchiment ou d'éclaircissement des dents	e) $> 0,1$ % et ≤ 6 % de H_2O_2 présent ou dégagé	
	f) Produits destinés aux cils	f) 2 % de H_2O_2 présent ou dégagé	

Q13. Indiquer en justifiant si la solution commerciale étudiée dans cet exercice peut être utilisée dans des « produits pour les cheveux » au sens du règlement du Parlement Européen.

Q14. Indiquer les précautions d'utilisation imposée par le règlement du Parlement Européen pour ce type de produit.

C- Odeur ; synthèse du (–)-linalol (11 points)

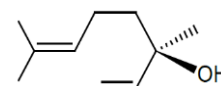
Données :

- Numéro atomique et électronégativité de quelques éléments chimiques :

Élément chimique	H	C	O	Mg	Cl	Br
Numéro atomique	1	6	8	12	17	35
Électronégativité E.N. (échelle de Pauling)	2,2	2,55	3,44	1,31	3,16	2,96

- Formule topologique du (–)-linalol en représentation de Cram :

- Pouvoir rotatoire spécifique du (–)-linalol : $[\alpha]_D^{20} \approx -18 \pm 3^\circ \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{dm}^{-1}$.



Le linalol, de formule brute $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$, est très utilisé dans les cosmétiques pour ses propriétés odorantes. Deux énantiomères de cette molécule existent : le (–)-linalol, aussi appelé licaréol, a une odeur qualifiée de boisée, proche de celle de la lavande, du muguet, et le (+)-linalol, aussi appelé coriandrol, a une odeur qualifiée de douce et florale, rappelant l'odeur d'agrumes. Ce dernier peut être extrait par distillation fractionnée de l'huile essentielle de nombreuses plantes (lavande, lavandin, coriandre, bois de rose...) ou être synthétisé.

Plusieurs voies de synthèse existent. Nous allons étudier l'une de ces voies de synthèse multi-étapes, à partir d'acétone.

1. Structure du (–)-linalol

Q15. Recopier, sur votre copie, la formule topologique du (–)-linalol représentée ci-dessus, et indiquer par un astérisque * la position de l'atome de carbone asymétrique, en justifiant.

Q16. Déterminer la configuration absolue (R ou S) du carbone asymétrique de l'énantiomère ((–)-linalol) représenté ci-dessus, en indiquant brièvement les étapes du raisonnement.

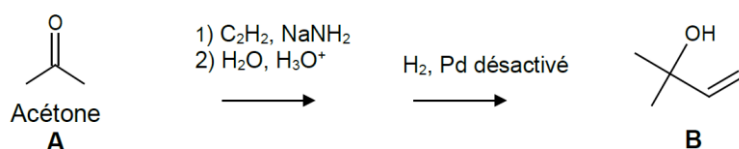
Q17. Indiquer, en justifiant votre réponse, le caractère lévogyre ou dextrogyre de la molécule de (–)-linalol.

Le linalol obtenu par cette synthèse est un mélange des deux formes du couple d'énantiomères avec 50 % de l'énantiomère de configuration absolue R et 50 % de l'énantiomère de configuration absolue S.

Q18. Préciser le nom d'un tel mélange et la valeur de son pouvoir rotatoire.

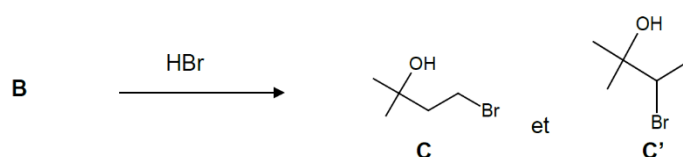
2. Étapes 1 et 2 de la synthèse

Étapes 1 et 2 de la synthèse : obtention du 2-méthylbut-3-ène-2-ol (B) par réaction de l'acétone (A) avec l'acétylène C_2H_2 et hydrolyse puis hydrogénation par catalyse hétérogène sur palladium désactivé.



Q19. Nommer la molécule d'acétone en utilisant les règles de nomenclature officielle.

3. Étape : hydrobromation

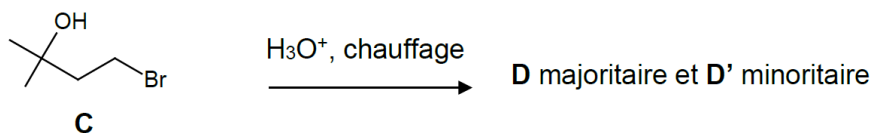


Q20. Indiquer le type de réaction de cette étape 3, parmi les termes suivants : élimination – substitution – addition.

Q21. Préciser l'espèce chimique obtenue en s'appuyant sur la règle de Markovnikov.

En fait, cette étape d'hydrobromation se fait en présence d'un peroxyde avec un mécanisme radicalaire et aboutit au composé C avec lequel on poursuit la synthèse.

4. Étape 4 : déshydratation intramoléculaire

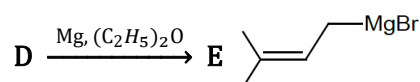


Q22. Représenter les formules topologiques des espèces chimiques **D** et **D'** obtenues.

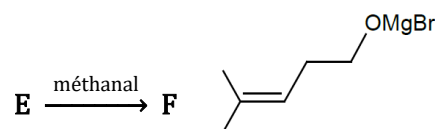
5. Étape 5 : synthèse organo-magnésienne

La synthèse organo-magnésienne est décomposée en trois sous-étapes (a, b et c).

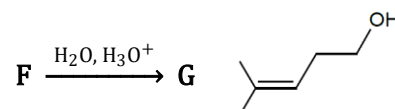
Étape 5.a) synthèse d'un organo-magnésien (réactif de Grignard)



Étape 5.b) réaction de l'organo-magnésien **E** sur un composé carbonylé : addition nucléophile pour obtenir un alcoolate de bromure de magnésium



Étape 5 c) hydrolyse acide de l'espèce chimique **F**



Q23. Justifier d'après les données et en s'appuyant sur les charges partielles, le caractère nucléophile du carbone dans la liaison C-Mg de l'organomagnésien **E**.

Q24. Représenter la formule développée du méthanal (réactif de l'étape 5.b), appelé aussi formol, et préciser à quelle famille chimique il appartient (fonction chimique).

Q25. Indiquer, en justifiant la polarité de la liaison entre le carbone et l'oxygène du méthanal et en déduire le site de cette molécule qui va subir l'attaque nucléophile de l'organo-magnésien.

Les deux dernières étapes (synthèse organo-magnésienne) conduisant à l'obtention du linalol ne seront pas étudiées.

D- Viscosité d'un liquide (9 points)

Le glycérol ou propan-1,2,3-triol, également appelé glycérine, a pour formule brute $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$. Il est utilisé dans l'industrie cosmétique notamment pour ses propriétés hydratantes. Il peut être obtenu à partir d'huiles végétales. À température ambiante, il est liquide, incolore, transparent, à la texture visqueuse.

La viscosité doit être prise en compte pour le processus de fabrication puisqu'elle influe sur la facilité et sur la vitesse avec laquelle ce produit pourra être préparé puis être versé dans l'emballage final (tube, flacon...).

Un technicien dispose d'un échantillon de glycérol reçu d'un fournisseur. Ce dernier, initialement pur, a subi un stockage prolongé et il est possible qu'il se soit chargé en eau. Le technicien doit effectuer un contrôle qualité par mesure de viscosité.

L'objectif de cet exercice est donc de répondre à la problématique suivante :

« Le liquide contenu dans le flacon est-il du glycérol pur ou un mélange glycérol-eau »

Au cours de ses recherches documentaires, il remarque que pour des températures proches de la température ambiante, la masse volumique dépend peu de la température mais que la viscosité dépend fortement de la température et du pourcentage en masse de glycérol dans des mélanges glycérol - eau.

La viscosité dynamique η du liquide est déterminée en utilisant un viscosimètre à chute de bille.

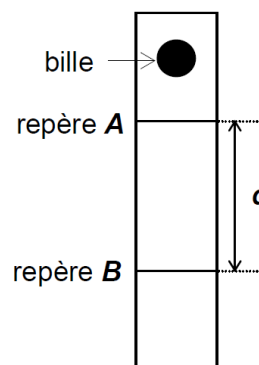
Ce dispositif comporte un long tube central vertical rempli avec le liquide de masse volumique ρ_{liquide} .

Sur ce long tube, deux traits repères fixes A et B sont séparés d'une distance d . Un dispositif permet de maintenir le tube central à une température constante connue. On lâche, sans vitesse initiale, en haut du tube, une bille calibrée sphérique, pleine, de masse volumique ρ_{bille} et de rayon R .

Grâce à des capteurs, le dispositif mesure le temps Δt de chute de la bille entre les deux repères.

Le tube est suffisamment large par rapport à la bille pour pouvoir négliger les effets des parois sur la chute de la bille.

La vitesse de la bille augmente puis atteint très rapidement une vitesse limite constante. Lorsqu'elle passe au repère A , la bille a déjà atteint sa vitesse limite de chute v ; son mouvement est alors rectiligne uniforme entre les deux repères A et B .



On souhaite comparer la valeur expérimentale de viscosité dynamique trouvée par cette expérience avec la valeur trouvée dans la littérature.

Données :

- masse volumique et viscosité de mélanges glycérol – eau :

% en masse de glycérol dans des mélanges glycérol - eau	Masse volumique $\rho_{liquide}$ ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)			Viscosité ^[1] η ($\text{Pa} \cdot \text{s}$)		
	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
100 %	1 261	1 258	1 255	1,495	0,942	0,622
99 %	1 258	1 255	1 252	1,194	0,772	0,509
98 %	1 256	1 253	1 250	0,971	0,627	0,423
97 %	1 253	1 250	1 247	0,802	0,521	0,353

^[1] Données extraites de : Lange's Handbook of Chemistry, 15th edition, John A. Dean, 1998.

- volume V d'une sphère de rayon R : $V = \frac{4}{3} \pi R^3$;

- intensité de la pesanteur sur Terre : $g = 9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$;

- poussée d'Archimède P_A qui s'exerce sur un corps de volume V immergé dans un fluide de masse volumique $\rho_{liquide}$: $P_A = m_{liquide} g = \rho_{liquide} V g$;

- loi de Stokes pour une bille sphérique de rayon R en mouvement à la vitesse v dans un fluide de viscosité dynamique η : la force $\vec{f}$ de frottement fluide est opposée à la vitesse et sa norme a pour expression : $f = 6 \pi \eta R v$.

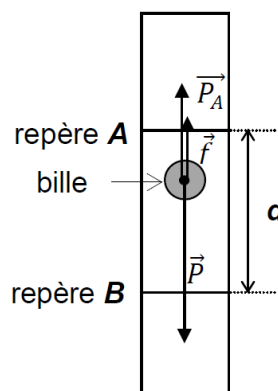
Q26. Préciser pourquoi il est nécessaire de maintenir le tube central à une **température constante** connue.

La suite de l'exercice s'intéresse au mouvement de la bille uniquement entre les deux repères fixes A et B .

Q27. Exprimer la vitesse limite moyenne v de chute de la bille, en fonction de la distance d entre les deux repères et de la durée Δt de la chute entre ces repères.

On donne ci-contre le schéma simplifié du tube central dans lequel est représentée la bille lors de sa chute rectiligne et uniforme entre les deux repères, ainsi que les forces qui lui sont appliquées : le poids $\vec{P}$, la poussée d'Archimède $\vec{P}_A$ et la force de frottement fluide $\vec{f}$.

On précise que ces forces sont appliquées au centre de gravité de la bille et que la longueur de la flèche représentant le poids est égale à la somme des longueurs de flèches verticales orientées vers le haut.



Q28. Établir l'expression littérale de la norme P du poids qui s'exerce sur la bille sphérique, en fonction du rayon R de la bille, de sa masse volumique ρ_{bille} et de l'intensité de la pesanteur g .

D'après le principe d'inertie appliqué à la bille, la norme du poids est compensée par la somme des normes de la poussée d'Archimède et de la force de frottement, on a donc : $P = P_A + f$.

Q29. Montrer que la viscosité dynamique η s'exprime :

$$\eta = \frac{2 \times (\rho_{bille} - \rho_{liquide}) \times R^2 \times g}{9 \times v}$$

À partir de cette relation, on peut exprimer la viscosité sous la forme : $\eta = K (\rho_{bille} - \rho_{liquide}) \Delta t$ où K est une constante qui a pour expression $K = \frac{2 \times R^2 \times g}{9 \times d}$.

La distance d entre les deux repères A et B est : $d = 20,0$ cm.

Le viscosimètre est livré avec plusieurs billes. La manipulation est effectuée avec une bille de rayon $R = 5,50$ mm et de masse volumique $\rho_{bille} = 7,70 \times 10^3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$.

Q30. Calculer la valeur numérique de K et préciser son unité dans le système international.

L'expérience est réalisée dix fois à 25°C et, lors de ces différents essais, la durée de chute de la bille entre les repères A et B varie entre $0,439$ s et $0,445$ s.

La durée moyenne de chute obtenue avec ces dix essais est : $\Delta t = 0,443$ s.

Q31. Répondre à la problématique du technicien.

Sujet de biochimie et technologies d'analyse 2022

Métabolisme de la cocaïne et identification dans des produits de saisie de stupéfiants

Depuis la loi de modernisation de notre système de santé 2016, l'analyse de drogues est reconnue comme faisant partie des missions de réduction des risques pour les consommateurs de substances psychoactives. Elle s'appuie sur des techniques chromatographiques, notamment chromatographie sur couche mince (CCM) et chromatographie liquide haute performance (CLHP).

Avec une saisie de 15,7 tonnes en 2019, la cocaïne est une des substances illicites parmi les plus consommées en France. Extraite des feuilles de coca, la cocaïne fait partie des alcaloïdes, molécules organiques hétérocycliques azotées basiques d'origine naturelle, pouvant avoir une activité pharmacologique.

La molécule est transformée *in vivo* par des enzymes, dont les carboxylestérases.

D'une part, les laboratoires pharmaceutiques cherchent à mettre au point un traitement pour aider à la prise en charge des personnes intoxiquées par élimination rapide de la substance psycho-active. Ils étudient dans ce but les enzymes dégradant la cocaïne.

D'autre part, dans le cadre de la lutte contre le trafic de stupéfiants l'analyse de produits de saisies, de liquides biologiques et même d'eaux usées est un enjeu important. La demi-vie relativement courte de la cocaïne amène les laboratoires des douanes, de la police et leurs prestataires à rechercher également ses principaux produits de dégradation.

1. La cocaïne : substrat des carboxylestérases

1.1. Structure des carboxylestérases et mode d'action

Les carboxylestérases sont présentes notamment dans les cellules intestinales et les hépatocytes et interviennent dans la première étape du catabolisme des triacylglycérols.

Q1. À partir de la structure chimique d'un triacylglycérol donnée dans le **document 1**, écrire la réaction catalysée par les carboxylestérases et les produits formés possibles. En déduire la classe de l'enzyme.

Le **document 2** présente la structure d'une carboxylestérase monomérique et son mode d'action.

Q2. Décrire la structure conformationnelle de la carboxylestérase et identifier les acides aminés impliqués dans le mécanisme enzymatique. Préciser leur localisation dans le monomère.

Dans l'organisme, ces enzymes transforment principalement la cocaïne en benzoylecgonine, selon la réaction présentée dans le **document 3**.

Q3. Identifier les groupes fonctionnels intervenant dans la réaction. Expliquer pourquoi la cocaïne est un substrat des carboxylestérases.

Un laboratoire pharmaceutique cherche à mettre au point un agent thérapeutique pour accélérer les mécanismes d'élimination de la cocaïne par l'organisme dans le cadre de la prise en charge des personnes intoxiquées. Pour cela, une étude comparative des carboxylestérases est réalisée sur des extraits cellulaires hépatiques et intestinaux.

1.2. Suivi de la purification des carboxylestérases

Le procédé de purification des carboxylestérases est présenté dans le **document 4** et les conditions opératoires des mesures d'activités enzymatiques dans le **document 5**.

Q4. Montrer qu'il s'agit d'un dosage enzymatique par méthode cinétique en continu dans le visible.

Q5. À partir de la loi de Beer-Lambert, établir l'équation aux grandeurs permettant de calculer la concentration d'activité catalytique « b » en $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ puis l'activité catalytique totale « z_{totale} » en unité U.

Donnée : 1 U correspond à 1 μmol de o-nitrophénol produit par minute.

Le **document 6** présente le résultat des mesures effectuées à chaque étape de la purification des carboxylestérases.

Q6. Après avoir défini l'activité spécifique et l'enrichissement, calculer l'enrichissement après chaque étape.

L'étape d'ultrafiltration présente un faible enrichissement. Sa mise en œuvre dans le procédé décrit dans le **document 4** répond donc à un autre objectif.

Q7. Expliquer le but de l'ultrafiltration dans ce procédé de purification. Citer une technique alternative possible.

1.3. Étude comparative des extraits enzymatiques issus de tissus différents

Une étude comparative de la structure des carboxylestérases hépatique et intestinale et de leur activité enzymatique est réalisée.

Une électrophorèse SDS-PAGE est effectuée sur les extraits purifiés. Les électrophorégrammes figurent sur le **document 7**.

Q8. Exposer le principe de l'électrophorèse SDS-PAGE.

Après électrophorèse les protéines sont transférées sur membrane avant révélation.

Q9. Identifier le mode de révélation des carboxylestérases. Analyser les résultats obtenus.

Parallèlement, une chromatographie d'exclusion moléculaire est effectuée sur des extraits purifiés de carboxylestérases. Les résultats sont présentés dans le **document 8**.

Le **document 8a** présente les mesures de l'activité enzymatique dans les fractions obtenues, par suivi spectrophotométrique de l'hydrolyse du substrat o-nitrophénylacétate.

Q10. Analyser les résultats de ce chromatogramme pour préciser la structure des carboxylestérases.

Une seconde chromatographie d'exclusion moléculaire est effectuée dans les mêmes conditions sur chaque extrait purifié, mais l'activité enzymatique de chaque fraction recueillie est mesurée en utilisant la cocaïne comme substrat. Le chromatogramme obtenu est présenté dans le document 8b.

Q11. Analyser le chromatogramme.

Q12. Discuter les résultats de l'ensemble de l'étude et proposer une piste thérapeutique pour traiter les personnes intoxiquées.

2. Validation d'une méthode de dosage de la cocaïne dans les produits de saisies

2.1. Étude préliminaire par CCM

Le **document 9** présente les éléments de l'étude préliminaire par chromatographie sur couche mince.

Q13. À l'aide des résultats du **document 9**, argumenter sur le risque d'identifier à tort la lidocaïne comme étant de la cocaïne dans un produit saisi.

Q14. En s'appuyant sur la structure de la cocaïne et de la benzoylecgonine, déduire laquelle des deux molécules est la plus polaire.

2.2. Validation d'une méthode CLHP

Après l'étude préliminaire, la transposition à la chromatographie sur colonne a été réalisée afin de finaliser l'étude.

Le **document 10** présente le système chromatographique utilisé et les chromatogrammes obtenus à différentes longueurs d'onde.

Q15. Comparer les principes de la chromatographie en couche mince et de la CLHP utilisée ici. Vérifier la cohérence des résultats obtenus pour ces deux méthodes.

Q16. Analyser les chromatogrammes du **document 10** afin de déterminer la longueur d'onde adaptée à la détection de la cocaïne.

Compte-tenu de l'enjeu des résultats rendus par les services scientifiques, une démarche qualité est entreprise afin de valider la méthode de quantification de la cocaïne.

Les critères métrologiques à vérifier sont notamment :

- la fidélité de la méthode en conditions de répétabilité ;
- la justesse.

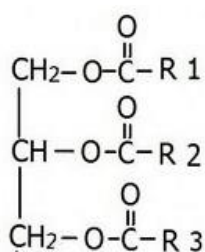
Le **document 11** présente le mode opératoire et les résultats préliminaires de cette étude.

Q17. Établir le tableau de préparation de la gamme d'étalonnage.

Q18. Calculer la concentration en masse en cocaïne exprimée en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ dans chaque essai.

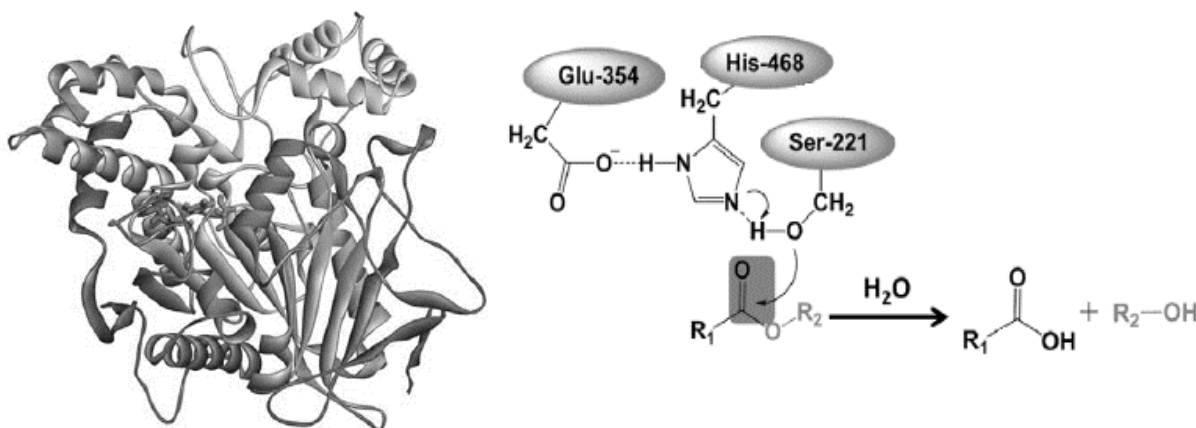
Q19. Après avoir défini la notion de justesse, calculer une grandeur mathématique permettant de l'estimer et discuter la justesse de la méthode de dosage de la cocaïne par CLHP.

Document 1 : structure chimique générale d'un triacylglycérol



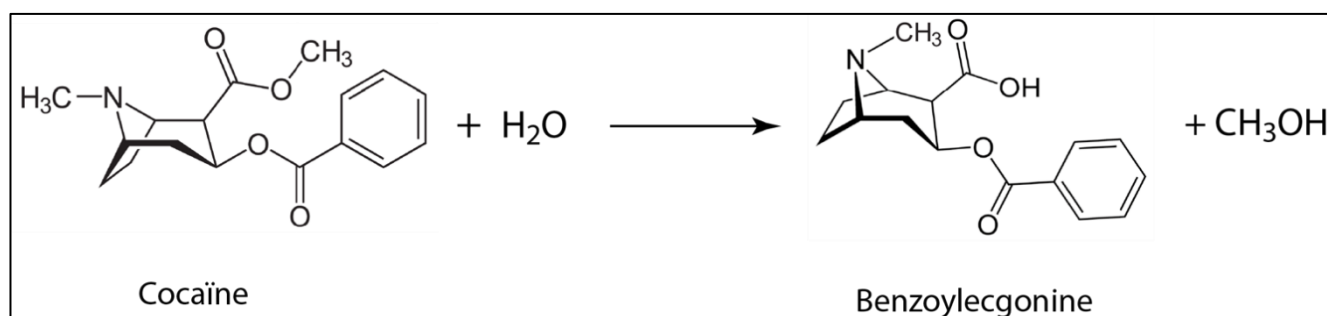
R₁, R₂, R₃ : chaîne aliphatique carbonée saturée ou insaturée

Document 2 : caractéristiques structurales et mode d'action d'une carboxylestérase monomérique

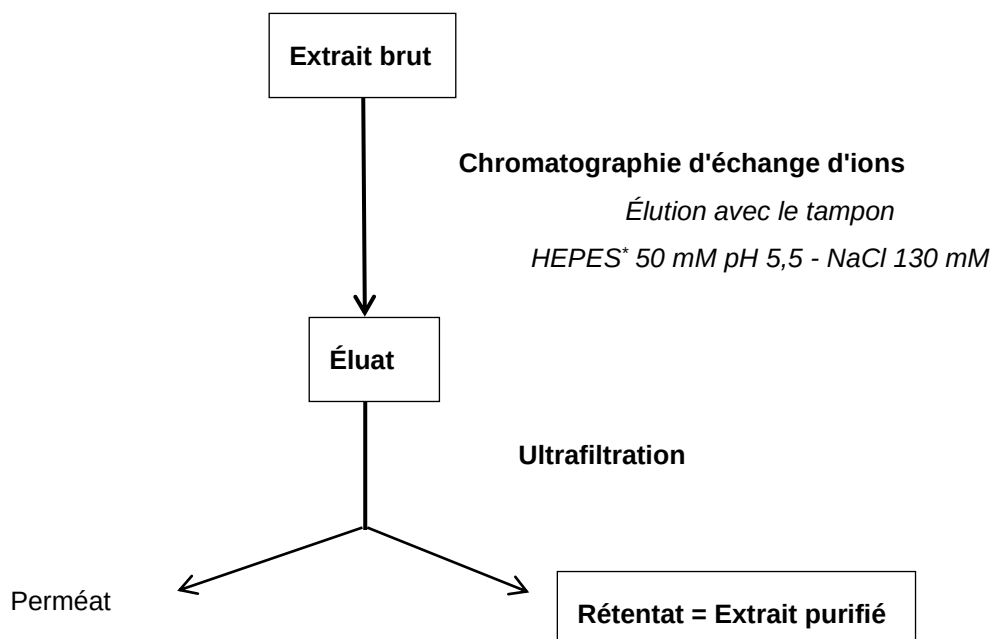


D'après Dandan Wang et coll., *Human carboxylesterases: a comprehensive review, Acta Pharmaceutica Sinica B, Volume 8, Issue 5, 2018, Pages 699-712.*

Document 3 : réaction de la carboxylestérase sur la cocaïne



D'après le manuel « méthodes recommandées pour l'identification et l'analyse de la cocaïne », Organisation des Nations Unies contre la drogue et le crime, 2012.

Document 4 : procédé de purification des carboxylestérases

* HEPES : 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid

D'après : MJ Hatfield et coll., Biochemical and molecular analysis of carboxylesterases-mediated hydrolysis of cocaine and heroin, British Journal of Pharmacology (2010), 160, 1916–1928.

Document 5 : procédure de détermination de l'activité de la carboxylestérase**Principe**

Carboxylesterase activity was measured by following at 420 nm the production of o-nitrophenol from o-nitrophenyl acetate.

Procedure

To 2.7 mL of medium containing 20 mM Kphosphate buffer pH 7.4, 1 mM EDTA, 0.1% Triton X-100, 0.25 mL of fraction was added. After 10 min at 25 °C the reaction was started by addition of 0.05 mL of 0.18 M substrate in ice-cold methanol and followed for 10 minutes.

A blank without enzyme was run simultaneously in order to correct for spontaneous substrate hydrolysis.

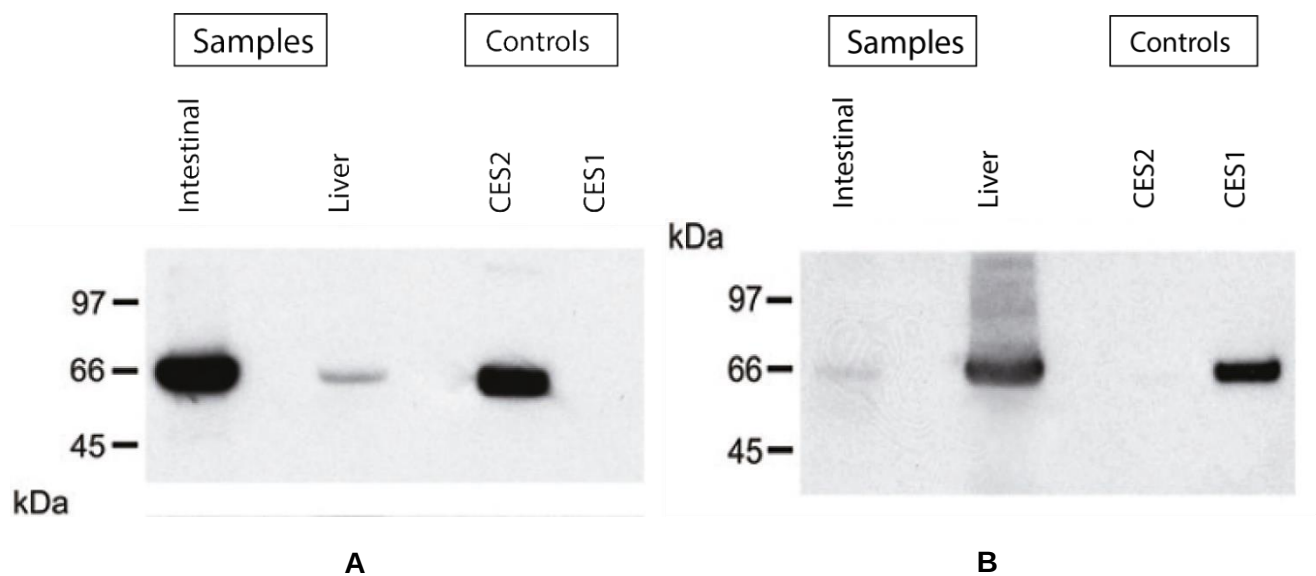
The extinction coefficient for o-nitrophenol is 13 600 L.mol⁻¹.cm⁻¹.

D'après H Beaufay et coll., Analytical studies of microsome and isolated subcellular membranes from rat liver, The journal of cell biology, 1974, vol 61, p188-200.

Document 6 : résultats des étapes de purification des carboxylestérases

Sample	Total activity Z_{total} (U)	Total protein (mg)	Specific activity Z_{sp} (U.mg ⁻¹)
Crude media	472.2	300.00	1.57
After ion exchange chromatography	116.4	4.00	29.1
After ultrafiltration	96.9	3.20	30.3

D'après : MJ Hatfield et coll., Biochemical and molecular analysis of carboxylesterases-mediated hydrolysis of cocaine and heroin, British Journal of Pharmacology (2010), 160, 1916–1928.

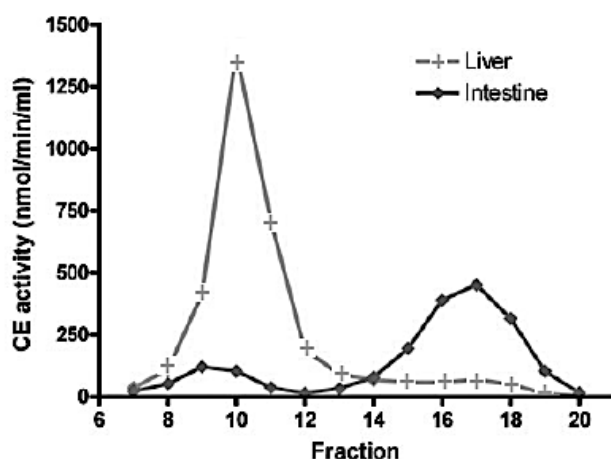
Document 7 : électrophorogrammes révélés par Western blot

The analysis of electrophoregramme is undertaken using specific antibodies for CES2 (A) and CES1 (B) proteins using chemiluminescent detection.

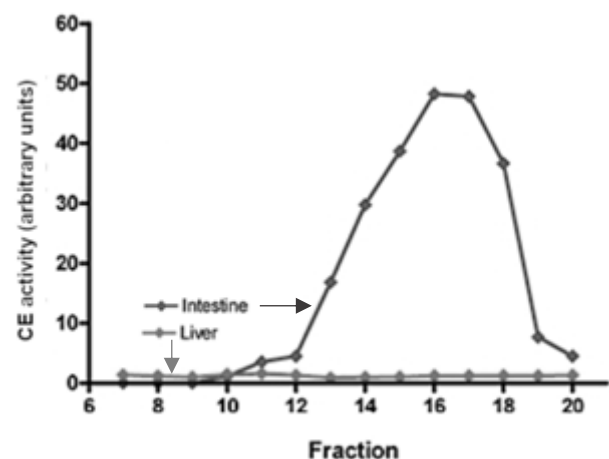
D'après : MJ Hatfield et coll., Biochemical and molecular analysis of carboxylesterases-mediated hydrolysis of cocaine and heroin, British Journal of Pharmacology (2010), 160, 1916–1928.

Document 8 : résultats de la chromatographie d'exclusion moléculaire des extraits de carboxylestérases hépatique et intestinale

8a : en présence l'o-nitrophénylacétate comme substrat



8b : en présence de cocaïne comme substrat



Remarque pour le doc 8b : L'activité de la CES sur la cocaïne est mesurée par dosage UV du produit d'hydrolyse, l'acide benzoïque, et présentée en unités arbitraires.

D'après : MJ Hatfield et coll., Biochemical and molecular analysis of carboxylesterases-mediated hydrolysis of cocaine and heroin, British Journal of Pharmacology (2010), 160, 1916–1928.

Document 9 : étude préliminaire par CCM**Système chromatographique employé :**

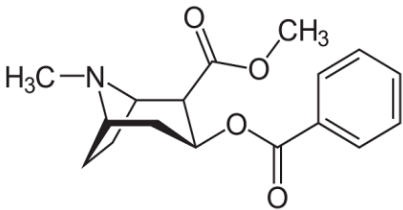
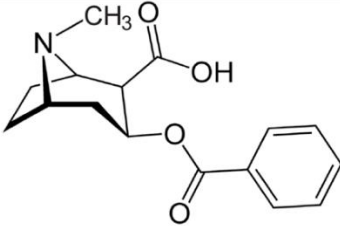
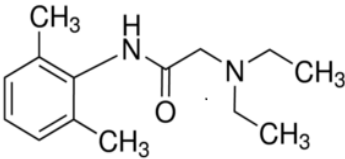
- Gel de silice sur plaque, contenant un indicateur fluorescent (GF254)
- Solvant de migration : chloroforme (25 %), dioxanne (60 %), acétate d'éthyle (10 %), ammoniacque (5 %)

Mode de révélation : la plaque est soumise à un rayonnement UV à 254 nm.

Exploitation des résultats de la CCM

Molécule	R _f
Cocaïne	0,81 ± 0,02
Benzoylecgonine	0
Lidocaïne	0,77 ± 0,02

Structure des molécules étudiées :

		
Cocaïne	Benzoylecgonine	Lidocaïne

Méthodes recommandées pour l'identification et l'analyse de la cocaïne, ONUDC 2012.

Document 10 : méthode CLHPSystème chromatographique

- Chaîne analytique Hewlett-Packard série 1050
- Colonne : colonne Hypersil BDS-C18 (3 µm x 3 mm x 125 mm) thermostatée à 30 °C
- Détecteur : UV-visible à barrette de diodes
- Phase mobile : mélange tampon phosphate (0,02 M, pH 3,2) / acétonitrile

Le gradient appliqué : - *C_i* (acétonitrile) = 10 %

- *C_f* (acétonitrile) = 55 %

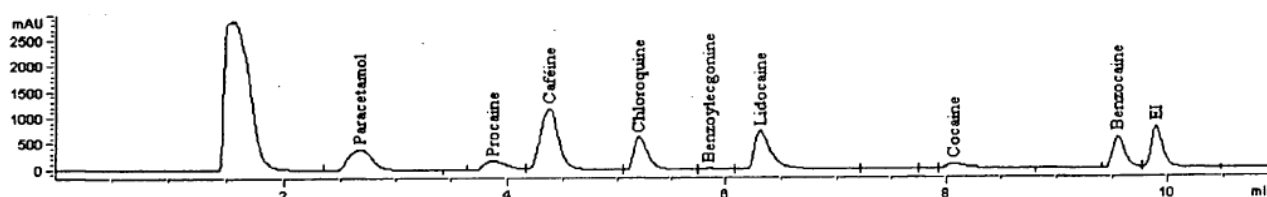
- Temps (gradient) = 11 min (soit 4,5 % / min)

Débit : 0,5 mL·min⁻¹

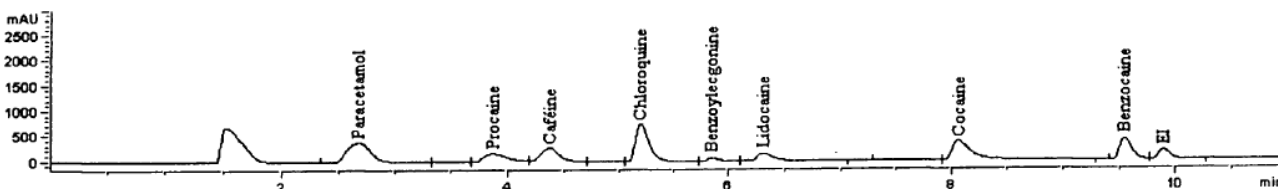
Suite du document 10 : méthode CLHP

Chromatogrammes de la CLHP

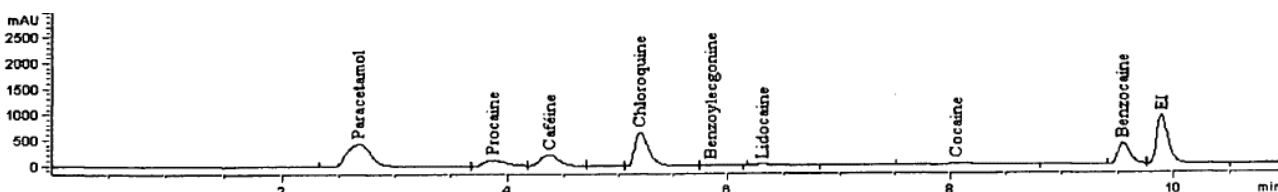
Longueur d'onde : 210 nm



Longueur d'onde : 230 nm



Longueur d'onde : 254 nm



D'après Gisèle Ferrari et coll, Validation d'une méthode de dosage de la cocaïne dans les produits de saisies par CLHP/UV BD, Annales de toxicologie analytique, volume 15 n°3, 2003

Document 11 : validation de la méthode CLHP

1. Étalonnage de la CLHP

Mode opératoire

Une série de 5 solutions (Q1 à Q5) de concentration comprise entre 10 mg·L⁻¹ et 50 mg·L⁻¹ de cocaïne est préparée en fiole jaugée de 10 mL à partir d'une solution mère de cocaïne à 100 mg·L⁻¹.

Le diluant utilisé est un mélange ternaire eau / acétonitrile / acide acétique (70/26/4).

Les solutions sont injectées selon les conditions du système chromatographique retenues.

Résultats de l'étalonnage de la CLHP

La droite d'étalonnage du signal en fonction de la concentration en masse de cocaïne obtenue présente l'équation suivante :

$$y = 0,01476 x - 0,00252$$

2. Étude de la fidélité et de la justesse de la méthode

Mode opératoire

La solution de cocaïne Q3 de concentration de 30,0 mg·L⁻¹ est dosée 6 fois dans les mêmes conditions que l'étalonnage de la CLHP.

Résultats

Essai	1	2	3	4	5	6
Signal	0,452	0,454	0,453	0,453	0,450	0,453

Données

Écart relatif admis entre la valeur vraie du matériau et la valeur expérimentale = 10 %

D'après Gisèle Ferrari et coll, Validation d'une méthode de dosage de la cocaïne dans les produits de saisies par HPLC/UV BD, Annales de toxicologie analytique, volume 15 n°3, 2003

Sujet de microbiologie et technologies d'analyse 2022

Bioproduction d'acide hyaluronique pour formes injectables en industrie pharmaceutique

L'acide hyaluronique est un biopolymère naturel appartenant à la famille des glycosaminoglycanes. Son pouvoir hygroscopique et sa nature viscoélastique rendent son utilisation très intéressante dans de nombreuses applications pharmaceutiques et biomédicales.

Depuis une vingtaine d'années la synthèse microbienne d'acide hyaluronique a remplacé son extraction de sources animales. Des entreprises pharmaceutiques produisent cette molécule en utilisant les biotechnologies à l'échelle industrielle. L'acide hyaluronique est ainsi un composant majeur d'hydrogels utilisés sous forme de système injectable pour l'ingénierie tissulaire, par exemple en médecine esthétique, ainsi que pour la délivrance de principes actifs de médicaments.

1. Origine microbienne de l'acide hyaluronique

Les souches de *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* sont connues pour produire et sécréter de l'acide hyaluronique.

1.1. Caractéristiques d'une souche productrice d'acide hyaluronique

Le **document 1** présente l'aspect et les principales caractéristiques de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*.

Q1. Indiquer la localisation des biopolymères d'acide hyaluronique. En déduire les différentes propriétés pouvant être conférées à la bactérie.

Q2. Caractériser cette espèce bactérienne en fonction de ses conditions de culture.

1.2. Taxonomie de l'espèce *Streptococcus equi*

Dans la dernière édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les espèces anciennement appelées *Streptococcus equi* et *Streptococcus zooepidemicus* ont été reclassées comme deux sous-espèces d'une même espèce *Streptococcus equi* :

- *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*
- *Streptococcus equi* subsp. *equi*

Ce changement est lié aux travaux effectués sur le séquençage du gène de l'ARNr 16S de ces deux espèces. Ils ont montré, après comparaison des séquences, un pourcentage d'homologie supérieur à 99 %.

Le **document 2** montre l'organisation du gène de l'ARNr 16S, les différentes amorces utilisables pour le séquençage ainsi que les fragments séquencés correspondant.

Q3. Argumenter l'utilisation du gène de l'ARNr 16S pour la classification phylogénétique des bactéries.

Q4. Sélectionner, en argumentant, le couple d'amorces à utiliser pour optimiser le séquençage du gène de l'ARNr 16S des deux souches à comparer.

Les caractéristiques phénotypiques des deux sous-espèces de *S. equi* sont exposées dans le **document 3**.

Q5. Argumenter le reclassement de ces deux souches au sein d'une même espèce, et la création de deux sous-espèces.

2. Optimisation de la production d'acide hyaluronique au laboratoire R&D

Différentes études ont été menées afin d'optimiser la production d'acide hyaluronique chez *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* ATCC® 6580 :

- Obtention et sélection de mutants surproducteurs
- Optimisation des conditions de culture

2.1. Obtention et sélection de mutants surproducteurs

Une stratégie d'amélioration, par mutagenèse aléatoire, de la souche sauvage productrice d'acide hyaluronique a été mise en œuvre à l'aide d'un agent alkylant de l'ADN : la nitrosoguanidine. Le **document 4** indique les différentes étapes de sélection ayant permis d'obtenir des souches mutantes stables et surproductrices d'acide hyaluronique.

L'étape de première sélection permet d'obtenir des souches non hémolytiques dont le pouvoir pathogène est donc diminué.

Q6. Concevoir un protocole opératoire permettant la sélection des mutants non hémolytiques. Préciser les témoins mis en jeu et les résultats attendus.

Q7. Expliquer l'intérêt des étapes de chaque étape de sélection ultérieure.

2.2. Optimisation des conditions de culture

L'optimisation des conditions de culture pour la production d'acide hyaluronique a été menée à l'échelle du laboratoire puis à l'échelle pilote dans un bioréacteur de 10 L présenté dans le **document 5**.

Q8. Identifier les éléments 1 à 10 représentés et reporter leurs noms sur la copie. Proposer un schéma fonctionnel de la boucle de régulation mise en jeu pour la stabilisation du pH dans un bioréacteur.

Lors de l'étude, les 3 souches mutantes MSE 1, MSE 2 et MSE 3 ont été cultivées dans deux milieux de culture de référence : PKB et LAI. La composition des milieux et les résultats des cinétiques de culture apparaissent dans le **document 6**.

Q9. Indiquer le rôle des composants notés en gras puis qualifier les deux milieux de culture.

Q10. Déterminer à quelle catégorie de métabolite correspond l'acide hyaluronique.

Q11. Sélectionner, en argumentant, la souche mutante et le milieu de culture les plus adaptés pour la production optimale d'acide hyaluronique. Argumenter sur l'importance de certains composants du milieu.

La production d'acide hyaluronique est vite contrée par l'augmentation importante de la viscosité dans le milieu, notamment lorsque la concentration atteint 4 à 5 g·L⁻¹ en procédé discontinu, mode de production le plus répandu.

Afin de limiter cet effet, trois modes d'agitation ont été étudiés sur une culture de la souche mutante précédemment sélectionnée. Les résultats sont présentés dans le **document 7**.

Q12. Calculer, pour les trois expériences réalisées, la productivité volumique horaire maximale puis en déduire le type d'agitateur le plus performant.

3. Contrôles qualité de solutions injectables à base d'acide hyaluronique dédiées à la médecine esthétique

Une fois extrait et purifié, l'acide hyaluronique peut être utilisé dans différentes préparations pharmaceutiques. La pharmacopée européenne impose une complète stérilité des solutions injectables administrées par voie sous-cutanée et un taux d'endotoxine bactérienne inférieur à 0,5 UI·mL⁻¹. Ainsi, la libération d'un lot de production ne peut se faire que si ces deux conditions sont réunies pour un échantillon représentatif du lot.

3.1. Contrôle de stérilité

Dans le secteur pharmaceutique, le contrôle de la stérilité des solutions injectables peut se faire selon une méthode de référence détaillée dans le **document 8A**.

Q13. Expliquer le contrôle associé à chaque témoin réalisé puis présenter les résultats attendus à J14.

Le **document 8B** présente le principe d'une technique alternative très employée dans le secteur pharmaceutique depuis une dizaine d'années.

Q14. Lister les avantages de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence.

3.2. Quantification des endotoxines bactériennes

Le dosage des endotoxines peut être effectué par diverses méthodes utilisant le lysat d'améboocytes de limule. Une méthode de quantification est décrite dans le **document 9**.

Q15. Indiquer la nature biochimique des endotoxines et leur localisation cellulaire. Citer leurs effets chez un patient si elles sont présentes à forte dose.

Q16. Expliquer le rôle du temps d'incubation de 10 minutes lors du dosage puis justifier l'importance d'une température et d'un pH définis.

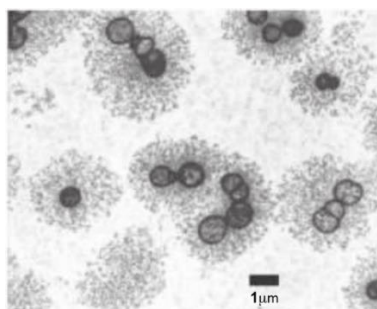
Le **document 10** expose les résultats obtenus pour le dosage de cinq unités d'échantillon d'une solution injectable à base d'acide hyaluronique issues d'un même lot. Le contrôle de stérilité réalisé en parallèle pour ce lot est conforme.

Q17. Analyser les résultats et conclure sur le devenir du lot.

Document 1 : caractéristiques générales de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*

Streptococcus equi subspecies *zooepidemicus* is a Gram-positive and catalase negative bacteria producing a dense external layer of hyaluronic acid. This β -hemolytic coccus, belonging to Lancefield group C, is considered as a commensal and an opportunistic pathogen in the upper airways of horses.

These bacteria are adapted to moderate temperatures (between 20°C et 45°C) and the optimal growth is obtained at 37°C. They are sensitive to pH different from 7.

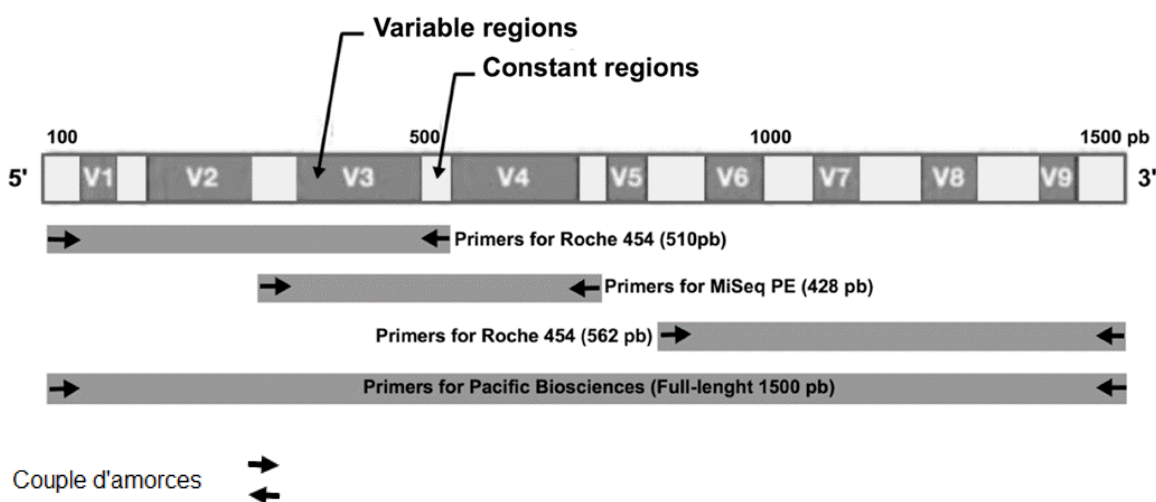


Electron micrograph of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* cells obtained from the late exponential phase

Source : Lars M. Blank, *Microbial hyaluronic acid production*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005.

Document 2 : organisation du gène de l'ARNr 16S

La taille des portions de gène séquençables apparaît entre parenthèses.

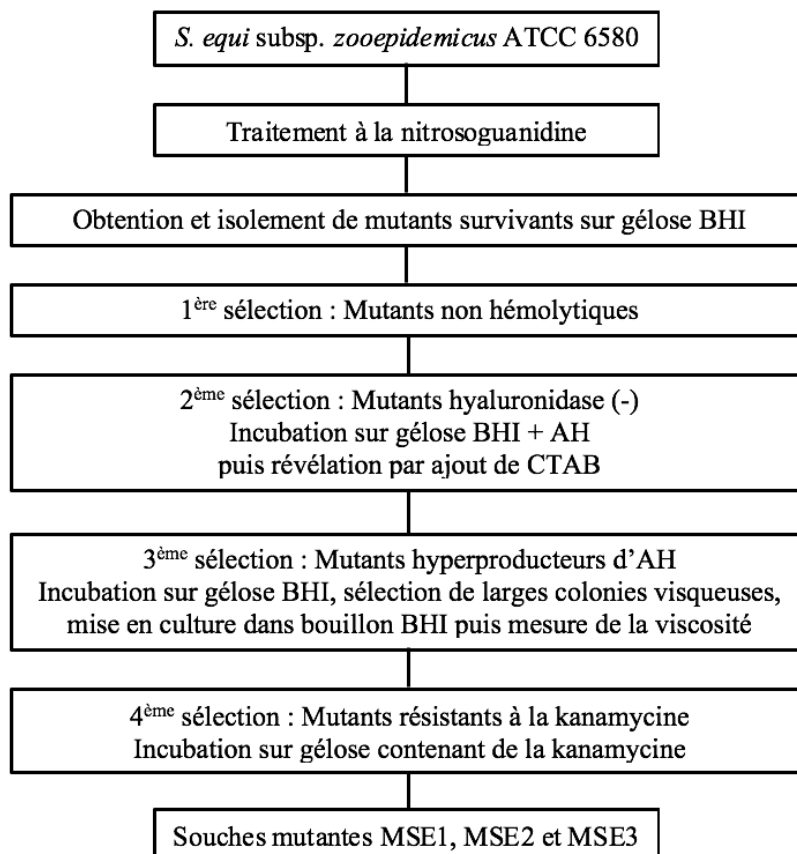


L'unité opérationnelle de taxonomie (*operational taxonomy unit*, *OTU*) permettant de définir le niveau taxonomique « espèce » correspond au résultat d'homologie supérieur à 97 % sur l'ensemble des régions variables de l'ARN 16S (Stackebrandt et Goebel, 1994).

Document 3 : caractéristiques phénotypiques de *S. equi* subsp. *equi* et *S. equi* subsp. *zooepidemicus*

	<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i>	<i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>
Hôtes possibles	Équidés	Équidés, bovins, caprins, gallinacés, rares cas chez l'homme
Pathogénicité chez le cheval	Stricte	Opportuniste
Hémolyse	α	β
Fermentation du :		
- Lactose	—	+
- Mannitol	—	—
- Sorbitol	—	+
- Tréhalose	—	—
- Ribose	—	+ / —

Document 4 : protocole de sélection de souches mutantes performantes

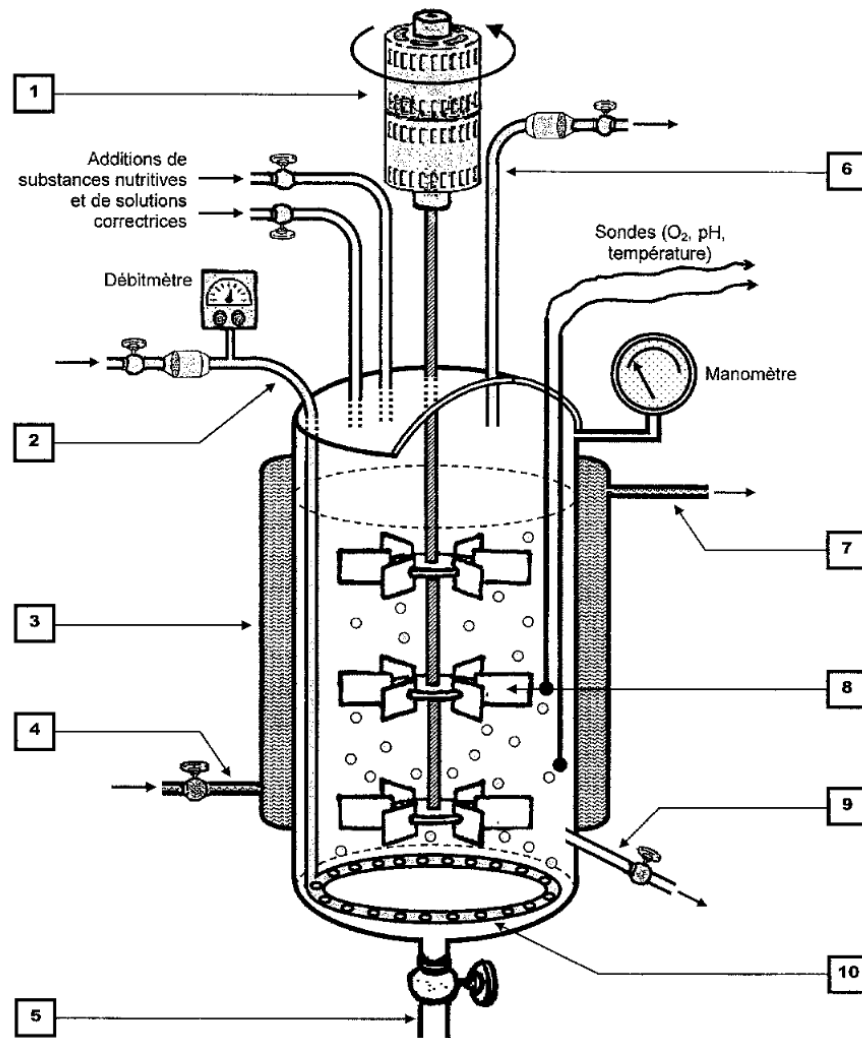


AH = Acide hyaluronique

BHI = Brain Heart Infusion

CTAB = Cetyltrimethylammonium bromide

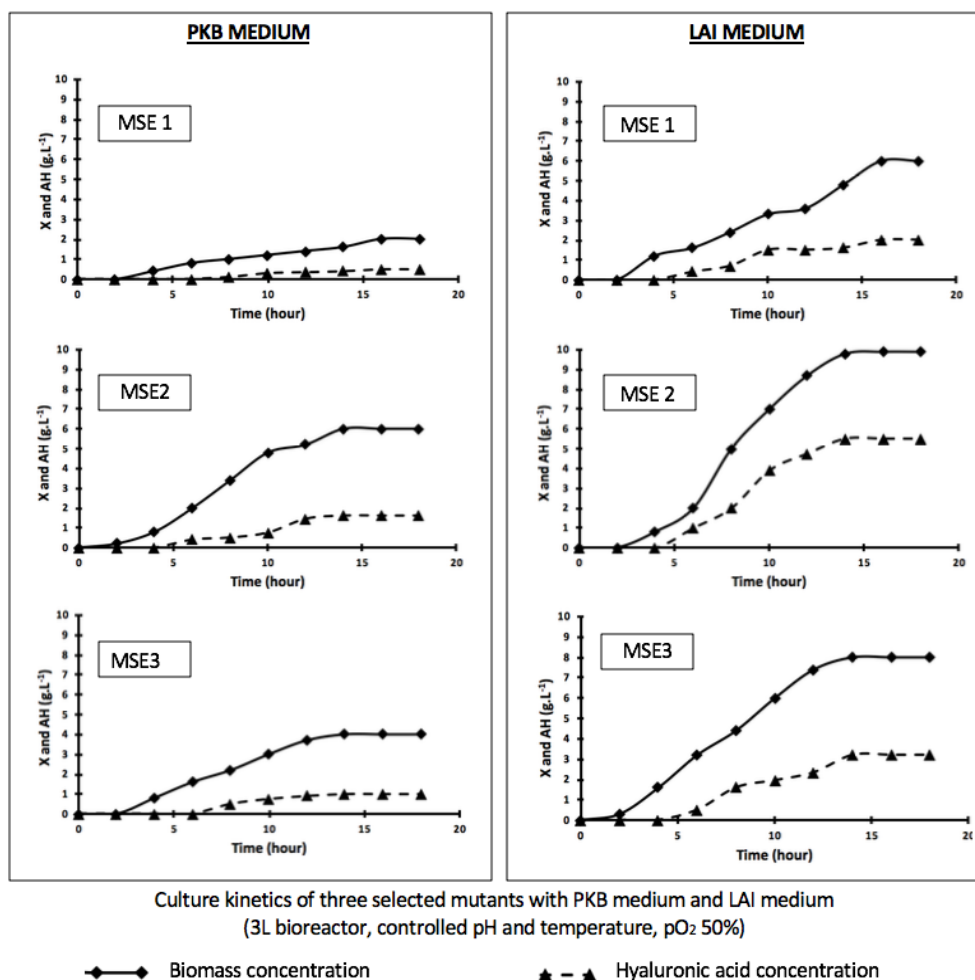
Résistance à la kanamycine obtenue après mutation

Document 5 : schéma d'un bioréacteur de 10 L**Document 6 : composition des milieux PKB / LAI et résultats des cinétiques de culture**

Composition des milieux PKB et LAI :

Milieu PKB	
Constituant	Concentration ($g \cdot L^{-1}$)
D-glucose	50
Caséine	20
NaCl	5
KH_2PO_4	2
K_2HPO_4	2
$MgSO_4$	0,5
$(NH_4)_2PO_4$	0,5
Kanamycine	0,5

Milieu LAI	
Constituant	Concentration ($g \cdot L^{-1}$)
D-glucose	50
Peptone de soja	10
Extrait de levure	10
NaCl	5
KH_2PO_4	2
K_2HPO_4	2
$MgSO_4$	0,5
$(NH_4)_2PO_4$	0,5
Kanamycine	0,5

SUITE DU DOCUMENT 6**Cinétiques de culture :**Biomasse concentration (x en g·L⁻¹)Hyaluronic acid concentration (AH en g·L⁻¹)**Document 7 : effet du type d'agitateur sur la production d'acide hyaluronique**

Type d'agitateur	Biomasse (g·L ⁻¹)	AH _{max} (g·L ⁻¹)	Durée de la culture jusqu'à AH _{max} (h)
Rushton	9,4	5,2	16
Paravisc	9,9	5,5	12
Intermig	10,2	5,6	14

(Bioréacteur 10 L, pH et température régulés, pO₂ 50 %)AH_{max} : concentration en acide hyaluronique maximale**Document 8 : méthodes pour le contrôle de stérilité de solutions injectables**Document 8A : extrait de la méthode de référence

La solution à contrôler est filtrée sur une membrane de 0,45 µm.

La membrane est ensuite récupérée stérilement puis introduite dans un flacon de 100 mL de bouillon au thioglycolate (FT100) pour la mise en évidence des bactéries anaérobies strictes et facultatives.

Le flacon FT100 est placé à 30-35 °C.

Une lecture visuelle doit être faite à J3, J5 et J14.

Les témoins suivants sont réalisés :

- ensemencement de deux flacons FT100 avec respectivement 1 mL de suspension calibrée de *Clostridium sporogenes* (anaérobie stricte) et *Staphylococcus aureus* (aéro-anaérobie facultative) ;
- ensemencement d'un flacon FT100 avec 1 mL de suspension calibrée de *Pseudomonas aeruginosa* (aérobie stricte) ;
- ensemencement d'un flacon FT100 avec 1 mL d'eau physiologique stérile.

Les suspensions de souches calibrées utilisées correspondent aux normes Pharmacopée européenne (Ph. Eur.). L'ensemble des manipulations est réalisé dans un isolateur (PSM de type III).

Document 8B : principe d'une méthode alternative

Solid-phase laser scanning cytometry is used in the pharmaceutical industry to test medical products that must be sterile (e.g. injectables).

This technology is based on a viability marker, which makes living cells fluorescent following stimulation by a laser beam.

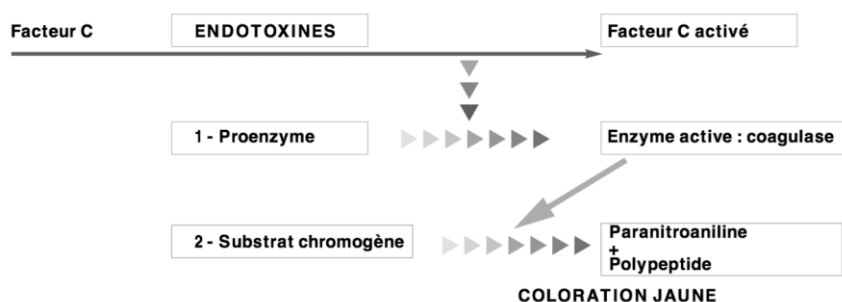
This unique technology delivers actionable sterility results in 3 hours and is sensitive enough to detect a single bacterium, yeast or mold. Even spores, stressed and fastidious organisms (which may take some time to grow in FT100 Broth) are detected.

Document 9 : méthode de quantification des endotoxines

(Kit Pierce LAL Chromogenic Endotoxin, Thermo Scientific)

Principe :

Le dosage des endotoxines bactériennes est réalisé à l'aide d'un réactif, le Lysat d'Améboocytes de Limule (LAL), obtenu à partir des cellules sanguines (améboocytes) de cet animal : la limule. Le LAL réagit avec les endotoxines par l'activation d'une coagulase présente sous forme de proenzyme dans le réactif. Dans la méthode chromogénique, le substrat naturel de la coagulase, la coaguline (présente également dans le LAL), peut être éliminée et remplacée par un substrat chromogène spécifique.



Étapes de la méthode :

Le LAL et la solution (étalon ou essai) sont incubés en même temps pendant 10 minutes à 37 °C et pH 7, puis on ajoute le substrat chromogène. Après 6 minutes d'incubation, la réaction est stoppée en ajoutant de l'acide acétique. L'absorbance est mesurée à 405 nm.

Données : limite inférieure de quantification de la méthode : 0,01 UI·mL⁻¹ ;
limite de toxicité selon la pharmacopée européenne : 0,5 UI·mL⁻¹.

Document 10 : quantification des endotoxines pour un échantillon d'une solution injectable avec le kit Pierce LAL Chromogenic Endotoxin (Thermo Scientific)

Échantillonnage pour validation du lot : n = 5, c = 0

Dosage :

Unités d'échantillon	Concentration en endotoxines (UI·mL ⁻¹)
1	0,11
2	0,08
3	0,12
4	0,01
5	0,02

Sujet de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse 2022

Peste porcine africaine : comment faire face à la menace mondiale ?

Le virus de la peste porcine africaine (ASFV, *African Swine Fever virus*) est responsable d'une maladie hémorragique qui touche les porcs domestiques et les sangliers.

Présente aujourd'hui dans certains pays d'Europe et d'Asie, la peste porcine représente une menace mondiale pour la filière porcine. Elle entraîne des pertes économiques majeures, en raison de son taux de mortalité élevé (avoisinant les 90 à 100 %) et des restrictions commerciales imposées aux pays touchés. À titre d'exemple, la Chine, premier producteur mondial de porcs, a perdu plus de 6,7 millions de porcs depuis le début de l'épizootie (épidémie animale) sur son territoire en août 2018.

À ce jour, il n'existe ni traitement ni vaccin permettant de lutter contre cette maladie.

Une initiative mondiale a été lancée en coordination avec l'organisation mondiale de la santé animale (OIE : Office International des Épizooties) et l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO : *Food and Agriculture Organisation*) dans le but d'établir un cadre stratégique mondial afin de contrôler la peste porcine africaine.

Dans cette perspective, les laboratoires de recherche tentent de développer des techniques novatrices de détection et de mettre au point un vaccin efficace. Pour cela, l'étude des caractéristiques du virus ASFV est mise en œuvre.

1. Le virus de la peste porcine ASFV

La peste porcine africaine est due à un virus dont la structure est présentée dans le **document 1a**.

Q1. Décrire les principales caractéristiques structurales du virus de la peste porcine africaine permettant son positionnement taxonomique.

Le **document 1b** présente les conditions de résistance du virus ASFV dans l'environnement.

Q2. Proposer les modes de propagation possibles du virus. Argumenter votre réponse.

2. Développement d'une nouvelle technique de détection moléculaire de ASFV : la méthode RPA

L'objectif est de développer une méthode de détection innovante permettant un diagnostic rapide afin de contrôler la propagation de la peste porcine.

Actuellement, les échantillons prélevés sur les cas suspects sont analysés par PCR en temps réel dite PCR quantitative : qPCR.

Le **document 2** regroupe les informations relatives à la méthode qPCR.

Q3. Calculer les volumes V_1 , V_2 , V_3 et V_4 pour préparer 25 μL du mélange réactionnel pour la qPCR.

Q4. Indiquer le rôle de chacun des 5 réactifs, soulignés en gras dans le **document 2**, dans le mélange réactionnel de la qPCR.

L'utilisation de cette méthode se fait aussi bien pour des analyses qualitatives que quantitatives.

Un test est dit qualitatif lorsqu'il permet de mettre en évidence la présence (résultat positif) et l'absence (résultat négatif) de l'ADN cible dans l'échantillon.

Un test est dit quantitatif lorsqu'il permet de déterminer une valeur représentative de la quantité d'ADN cible présent dans l'échantillon. Dans le cas de la qPCR, cette valeur est représentée par le *Cycle Threshold* : cycle seuil (Ct).

Q5. Définir le Ct. Déterminer à partir des tracés les Ct correspondant aux étalons à 10^5 et à 10^1 molécules d'ADN.

Q6. Montrer à l'aide des tracés de la qPCR que cette méthode est à la fois qualitative et quantitative.

La méthode qPCR n'est pas utilisable pour les laboratoires qui ne disposent pas de l'équipement spécifique. Inapplicable sur le terrain, cette méthode possède également d'autres inconvénients que sont le coût et la durée des analyses s'étendant sur plusieurs heures, voire un à deux jours en comptant les étapes pré-analytique et post-analytique.

Pour pallier ces inconvénients, une nouvelle méthode est envisagée : la méthode d'amplification isotherme de type RPA (*Recombinase Polymerase Amplification*), présentée dans le **document 3**.

Les résultats obtenus par la méthode RPA sont présentés dans le **document 4**.

L'objectif de cette méthode est uniquement de mettre en évidence la présence du virus dans les échantillons.

Q7. Comparer les méthodes d'amplification RPA et qPCR, sous forme de tableau.

Q8. Justifier le fait que dans le contexte étudié, la RPA soit préférée à la qPCR comme méthode de détection.

3. Évaluation d'une nouvelle voie d'administration d'un vaccin contre l'ASFV

La dissémination et le maintien du virus chez les sangliers rend la gestion de l'épidémie difficile. Sans vaccin disponible sur le marché, cette gestion se limite aux restrictions des mouvements animaux et à l'abattage des troupeaux infectés.

Un vaccin à virus vivants atténués, administré par voie intramusculaire, a été mis au point. Des études expérimentales ont révélé son efficacité. Néanmoins, le développement d'un vaccin administrable par voie orale permettrait son utilisation chez les animaux sauvages et faciliterait ainsi le contrôle de la dissémination de la maladie, voire son éradication.

Le développement de ce nouveau type de vaccin nécessite la multiplication *in vitro* du virus vivant atténué en culture cellulaire de macrophages porcins. Le protocole de culture primaire est présenté dans le **document 5**.

Q9. Expliquer les rôles du SVF, des antibiotiques et de l'EDTA dans ce protocole de culture cellulaire.

Dans un premier temps, on compare les titres d'anticorps anti-ASFV (IgM et IgG) produits pour chaque mode d'administration afin de vérifier l'efficacité de la réponse immunitaire.

La détection des anticorps anti-ASFV a été réalisée à l'aide d'une technique ELISA dont le protocole est présenté dans le **document 6**.

Q10. Construire un schéma légendé de l'édifice moléculaire obtenu pour un puits donnant un résultat positif.

Un témoin d'efficacité et plusieurs témoins de spécificité sont nécessaires à la validation de la technique ELISA.

Q11. Présenter la composition qualitative du témoin d'efficacité et d'un des témoins de spécificité. Indiquer leur rôle et préciser le résultat attendu pour chaque témoin.

Q12. Expliquer le rôle de l'étape 3.

Les résultats obtenus suite à la première immunisation sont rassemblés dans le **document 7**.

Q13. Comparer les titres d'anticorps anti-ASFV (IgM et IgG) produits pour chaque mode d'administration et conclure sur l'efficacité de la réponse immunitaire pour l'administration par voie orale.

Dans un deuxième temps, afin de valider l'efficacité protectrice des anticorps produits par l'immunisation par voie orale, 3 groupes de porcs (effectif de 5 porcs) sont constitués :

- groupe 1 : pas d'administration ;
- groupe 2 : administration du virus vivant atténué par voie intramusculaire ;
- groupe 3 : administration du virus vivant atténué par voie orale.

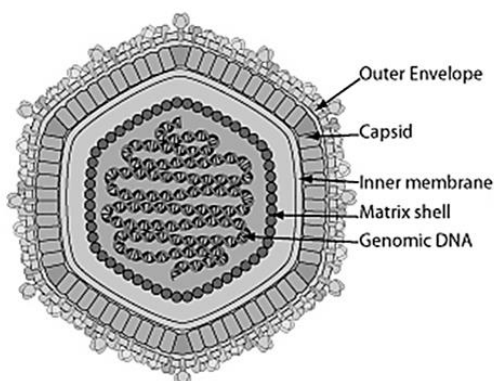
28 jours après, chaque groupe reçoit une injection de la souche virulente de l'ASFV.

Q14. Analyser l'ensemble des résultats obtenus pour ces groupes.

Q15. Conclure sur l'efficacité protectrice des anticorps et sur l'utilisation possible de ce vaccin contre l'ASFV par voie orale.

Document 1 : caractéristiques du virus de la peste porcine africaine

(a) Structure of the ASFV



Viral particle is composed of several concentric domains: A viral core consisting of a central DNA containing nucleoid and a surrounding thick protein coat referred to as matrix shell, an inner lipid envelope derived from the endoplasmic reticulum, an icosahedral protein capsid, and an additional envelope taken from the plasma membrane.

Disponible sur *viralzone*, Swiss institute of bioinformatics.

(b) Conditions de résistance du virus ASFV dans l'environnement

« Il a été prouvé que l'ASFV présente une résistance élevée aux conditions environnementales (...). L'ASFV peut survivre à une température de 56 °C pendant plus d'une heure et également à de nombreux cycles de gel-dégel. Il est stable à des niveaux de pH compris entre 4 et 13 pendant 7 jours. Cette résistance facilite grandement sa propagation »

Source : Mazur-Panasiuk, Natalia et al. "African Swine Fever Virus - Persistence in Different Environmental Conditions and the Possibility of its Indirect Transmission." *Journal of veterinary research* vol. 63,3 303-310. 13 Sep. 2019.

Document 2 : méthode qPCR

Tableau de préparation du mélange réactionnel de la qPCR

Réactifs		Concentration des réactifs	Quantité ou concentration finale dans le tube	Volume (µL)
QuantiNova™ Probe PCR Mix (Taq DNA polymérase, tampon, dNTP)		2X	1X	V1
Amorces	1	10 µM	0,4 µM	V2
	2	10 µM	0,4 µM	V3
Sonde		10 µM	0,2 µM	V4
Matrice ADN				5
Eau				5

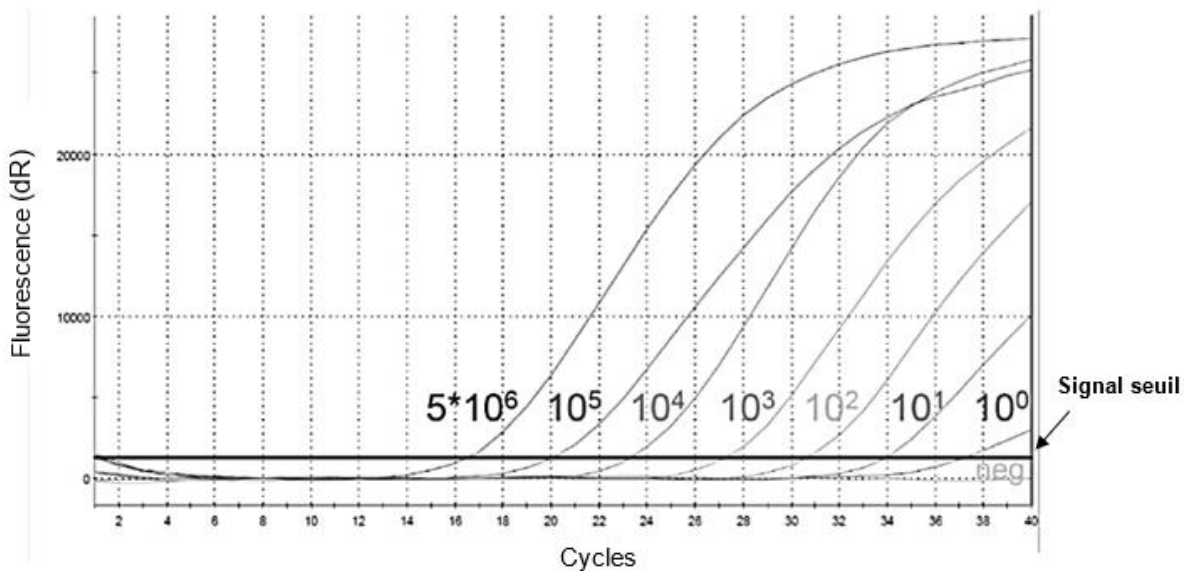
Programme pour la qPCR :

L'amplification suit le programme suivant : 2 min à 95 °C pour la dénaturation initiale suivie de 40 cycles d'amplification comprenant 10 s à 94 °C pour la dénaturation, 30 s à 60 °C pour l'hybridation, 30 s à 72 °C pour l'élongation et pour finir, une élongation finale de 10 min à 72 °C. La fluorescence est mesurée à chaque cycle.

Tracés des résultats :

Une gamme étalon de 10^6 à 10^0 molécules d'ADN a été préparée et testée, parallèlement à un échantillon sans ADN (neg).

Suite du document 2



D'après Ceruti, A et al., *Rapid Extraction and Detection of African Swine Fever Virus DNA Based on Isothermal Recombinase Polymerase Amplification Assay*. *Viruses* 2021.

Document 3 : principe de la méthode RPA

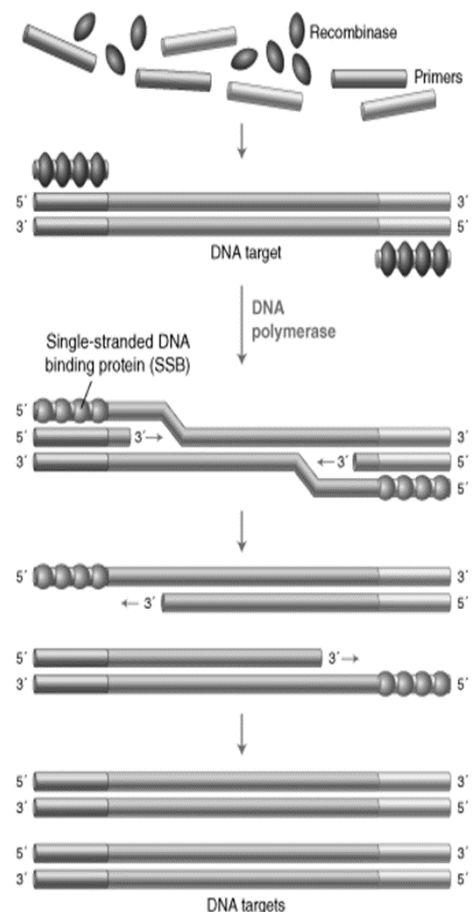
La méthode RPA (*Recombinase Polymerase Amplification*) est une méthode d'amplification spécifique d'acide nucléique comme la PCR. Elle est qualifiée d'isotherme puisqu'elle se fait à une température constante et basse (37 à 42 °C). À la différence de la PCR, il n'y a pas d'étape de dénaturation de la séquence cible. Cette méthode s'appuie sur l'utilisation de complexes formés par des amorces et une recombinaise permettant de faciliter l'hybridation des amorces.

Les étapes sont :

- Les recombinaises forment un complexe avec chaque amorce et recherchent les séquences complémentaires des amorces sur l'ADN cible.
- Les recombinaises du complexe ouvrent l'ADN double brin et permettent l'hybridation des amorces.
- Des protéines de liaison avec l'ADN simple brin (SSB proteins) stabilise le brin d'ADN déplacé (*Brin de la séquence cible qui n'est pas hybridé au complexe recombinaise/amorce*).
- Fixation de l'ADN polymérase au niveau des amorces
- Élongations des amorces par complémentarité grâce à l'ADN polymérase

L'amplification exponentielle est obtenue par répétition de ce cycle. L'amplification selon la méthode RPA dure entre 20 et 40 minutes avec une température entre 37 et 42 °C.

Comme pour la PCR, l'ajout de sondes fluorescentes permet de mesurer la fluorescence émise pour la détection de l'ADN cible.

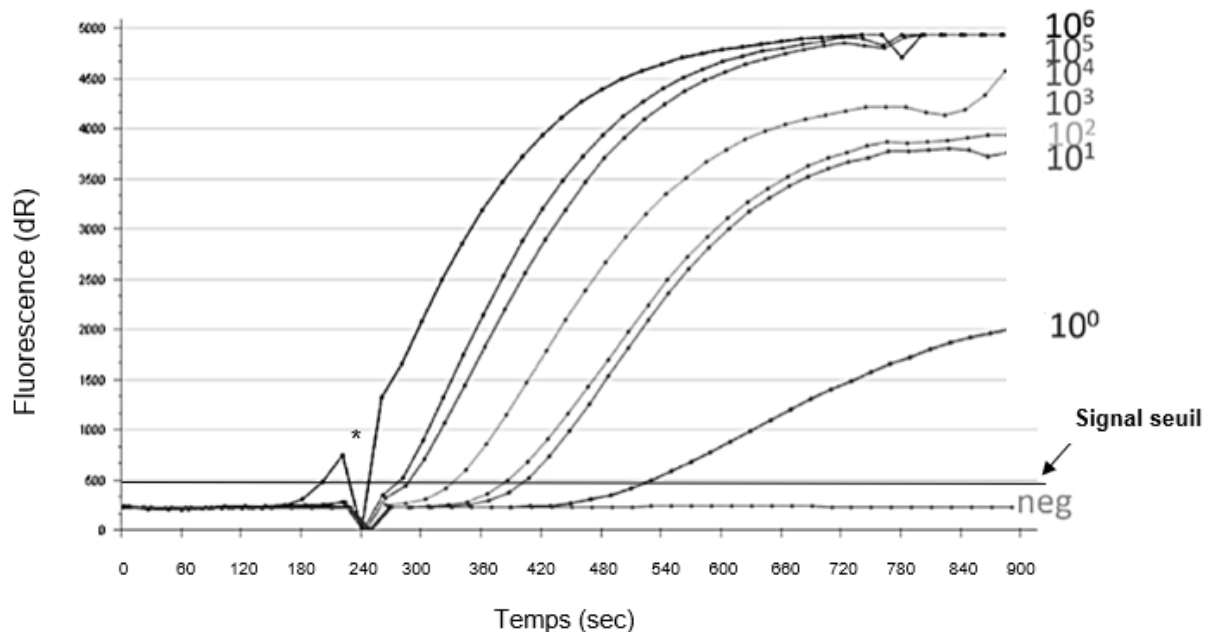


D'après New England Biolabs [site internet], disponible sur

<https://international.neb.com> (consulté le 01/10/2021).

Document 4 : résultats obtenus par la méthode RPA

Une gamme étalon de 10^6 à 10^0 molécules d'ADN a été préparée et testée, parallèlement à un échantillon sans ADN (neg).



* Artefact expérimental lié à la mesure de fluorescence

D'après Ceruti, A et al., *Rapid Extraction and Detection of African Swine Fever Virus DNA Based on Isothermal Recombinase Polymerase Amplification Assay*, *Viruses*, 2021.

Document 5 : extrait adapté du protocole de culture primaire de macrophages porcins

Procédure

- Extraire et purifier des leucocytes à partir de sang de porc.
- Remettre les leucocytes en suspension dans 10 mL de milieu complet macrophage.
- Déposer les cellules dans des flacons et incuber pendant la nuit : les cellules adhérentes sont désormais considérées comme des macrophages.
- Détacher les cellules à l'aide de PBS EDTA, laver avec 10 mL et incuber avec 10 mL de trypsine à 37 °C jusqu'à ce que les cellules se détachent (généralement 15-20 min).
- Compter les macrophages en utilisant 10 μ L de suspension cellulaire dans un hématimètre.
- Déposer dans une microplaque à 6 puits, les macrophages à une densité idéale de $5 \cdot 10^6$ cellules par puits et incuber pendant la nuit.

Composition du milieu complet macrophage

- 250 mL RPMI
- 150 mL de milieu L929 conditionné
- 100 mL de SVF (sérum de veau fœtal)
- 5 mL d'antibiotiques et d'antifongiques
- 150 mL de plasma porcin

D'après Borca, Manuel V et coll. "CRISPR/Cas Gene Editing of a Large DNA Virus: African Swine Fever Virus." *Bio-protocol* vol. 8,16 e2978. 20 Aug. 2018.

Document 6 : extrait du protocole ELISA pour la détection d'anticorps anti-ASFV

The virus antigen was produced from Vero cells infected with a Vero-adapted ASFV strain.

- 1- Add infected or uninfected cell extract (coating).
- 2- Wash with phosphate-buffered saline (PBS) tween.
- 3- Add 10% skim milk in PBS.
- 4- Wash with PBS tween.
- 5- Add swine serum (multiple dilutions).
- 6- Wash with PBS tween.
- 7- Add anti-swine IgM antibodies or anti-swine IgG antibodies - peroxidase conjugate to detected ASFV-specific antibodies in the swine serum.
- 8- Wash with PBS tween.
- 9- Add SureBlue Reserve peroxidase substrate.
- 10- Add Stop solution after 5 minutes.
- 11- Read at molecular absorption of 630 nm wavelength.

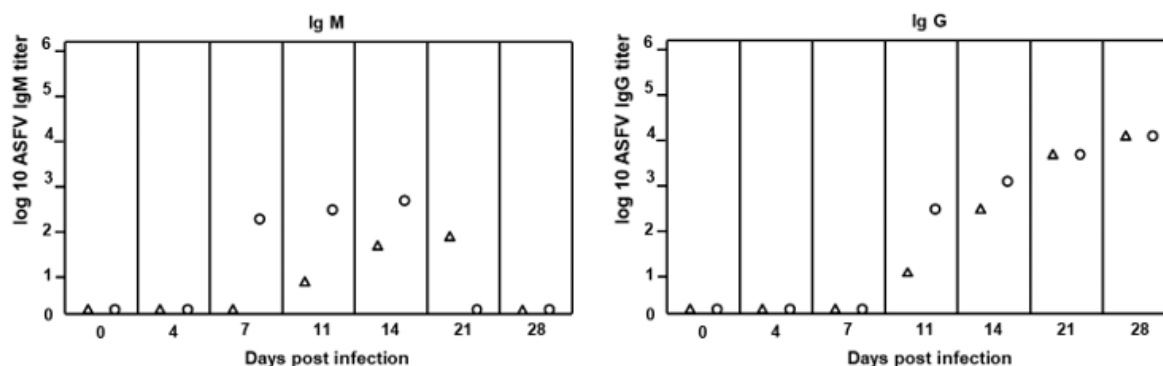
Serum titers were expressed as the log₁₀ of the highest dilution.

D'après Borca, Manuel V et al. "ASFV-G-ΔI177L as an Effective Oral Nasal Vaccine against the Eurasia Strain of African Swine Fever." Viruses vol. 13, n°5, p765, 27 avril 2021.

Document 7 : titres d'anticorps anti-ASFV détectés par méthode ELISA

Légende :

- porcs immunisés par voie orale : symbole o
- porcs immunisés par voie intramusculaire : symbole Δ



D'après Borca, Manuel V et al. "ASFV-G-ΔI177L as an Effective Oral Nasal Vaccine against the Eurasia Strain of African Swine Fever." Viruses vol. 13, n°5, p765, 27 avril 2021.

Document 8 : évolution de la survie chez les trois groupes de porcs

Swine survival and fever response in animals inoculated either intramuscularly or oronasally with ASFV attenuated strain and challenged at 28 days post-inoculation with virulent ASFV. Times are measured post-infection with virulent ASFV.

Fever					
Group	ASFV-attenuated strain	No. of Survivors/Total	Mean Time to Death (Days ± SD)	No. of Days to onset ⁽²⁾ (Days ± SD)	Maximum Daily Temp °C (± SD)
1	Control	0/5	6 (0) ⁽¹⁾	5.8 (0.45)	40.67 (0.81)
2	oronasal	5/5	—	—	37.78 (0.40)
3	Intramuscular	5/5	—	—	39.43 (0.26)

⁽¹⁾ Les animaux ont été euthanasiés dès qu'ils ont atteint le point critique d'état clinique, selon la procédure de l'institutional animal care and use committee, organisation chargée de l'application des lois sur l'utilisation et le traitement des animaux de laboratoire aux Etats-Unis.

⁽²⁾ Days to onset : jours avant apparition (des symptômes)

D'après Borca, Manuel V et al. "ASFV-G-ΔI177L as an Effective Oral Nasal Vaccine against the Eurasia Strain of African Swine Fever." Viruses vol. 13, n°5, p765, 27 avril 2021.

Sujet de sciences et technologies bioindustrielles 2022

Voie de valorisation des algues brunes

Les algues brunes sont une source d'alginate, qui présentent, grâce à leurs propriétés texturante et gélifiante, un grand intérêt pour l'industrie cosmétique.

L'alginate, ou acide alginique est un polymère glucidique extrait à partir des algues brunes de type *Laminaria*. L'entreprise de fabrication de crèmes cosmétiques ALGI-France se fournit en alginate auprès d'une entreprise bretonne. L'algue *Laminaria digitata* est traitée suivant une méthode directe qui permet d'obtenir une poudre d'acide alginique de bonne qualité et de couleur blanche sans avoir recours à un agent chimique.

Dans le cadre de la mise en place d'un audit interne, une analyse des procédés d'extraction par le fournisseur d'une part et de formulation par l'entreprise de cosmétique d'autre part est réalisée.

1. Étude du procédé d'extraction des alginate

Le procédé d'extraction des alginate des algues brunes *Laminaria digitata* par méthode directe est présenté dans le **document 1**.

1.1. Opération unitaire : la carbonatation

La carbonatation permet d'extraire l'alginate des algues. Avant cette étape, il est nécessaire de quantifier la matière sèche

Q1. Expliquer l'intérêt de cette mesure.

Après extraction, plusieurs procédés successifs conduisent à la récupération de poudre d'acide alginique.

1.2. Opération unitaire : la centrifugation

Q2. Identifier l'alimentation, l'évacuation des boues, la récupération du produit clarifié et les assiettes à partir du **document 2** en reportant sur la copie les numéros 1 à 4.

Q3. Après avoir rappelé le principe de la centrifugation, argumenter le comportement de la solution d'alginate de sodium et des résidus d'algues dans cette centrifugeuse, en appui sur la loi de Stokes :

$$V = \frac{D^2}{18 \cdot \eta} (\rho_{particule} - \rho_{phase liquide}) \omega^2 R$$

V : Vitesse de séparation centrifuge ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)

D : Diamètre de la particule (m)

η : Viscosité de la phase liquide à la température de centrifugation ($\text{Pa} \cdot \text{s}$)

$\rho_{particule}$: masse volumique de la particule ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

$\rho_{phase liquide}$: masse volumique de la phase liquide contenant l'alginate ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

avec $\rho_{particule} > \rho_{phase liquide}$

R : Rayon de centrifugation (m)

ω : Vitesse angulaire ($\text{rad} \cdot \text{s}^{-1}$)

Q4. Argumenter en utilisant la loi de Stokes les deux programmations possibles de la centrifugeuse précisées dans le **document 1**.

1.3. Opération unitaire : le séchage

Le séchage s'effectue à une température toujours inférieure à 40 °C. Afin d'optimiser le séchage, la température de l'étuve est fixée à 39 °C ± 0,5 °C. La carte de contrôle de suivi de température de l'étuve est donnée dans le **document 3**.

Q5. Expliquer la construction de la carte de contrôle de l'étuve de séchage et son intérêt.

Q6. À l'aide des règles de décision figurant dans le **document 3**, analyser les résultats obtenus. Proposer une action corrective si nécessaire.

2. Les crèmes cosmétiques

La poudre d'acide alginique est incorporée par l'entreprise ALGI-France dans la formulation d'une crème cosmétique pour le visage. La crème est conditionnée en pots de 50 mL ce qui correspond à une masse totale de 147,5 g.

La masse des pots est contrôlée avant libération de chaque lot.

2.1. Contrôle qualité d'un lot de crème cosmétique

Q7. Indiquer l'intérêt pour l'entreprise de hausser son niveau d'exigence en termes d'homogénéité de masse des pots de crème cosmétique.

En bout de chaîne de production chaque pot est pesé pour vérifier sa conformité avant d'être étiqueté. La masse d'un pot correctement rempli doit être de $147,50 \pm 0,10$ g. Ce contrôle qualité est réalisé sur des lots de 1 000 pots. Les résultats sont présentés dans le **document 4** pour le lot 123.45.

Q8. Conclure sur l'acceptabilité du lot 123.45 par rapport aux spécifications données.

Devant le succès des crèmes cosmétiques, l'entreprise ALGI-France souhaite augmenter la taille des lots produits à 5 000 pots. Le contrôle de l'homogénéité ne pourra plus se faire sur le lot entier mais sur un échantillon. La valeur du NQA est fixée à 0,25 %.

Q9. Indiquer la signification des lettres « NQA ». Préciser à quoi correspond la valeur du NQA choisie.

Les tables relatives au contrôle par échantillonnage sont mentionnées dans le **document 5**.

Q10. À l'aide des tableaux fournis, trouver les paramètres n , A et R du nouveau contrôle envisagé en expliquant chaque valeur donnée.

Q11. Expliquer dans quel sens évoluerait la valeur du NQA si l'entreprise souhaitait augmenter encore l'exigence qualité.

2.2. Étiquetage des pots de crème cosmétique

L'étiquette apposée sur les pots de crème cosmétique est présentée dans le **document 6**.

Q12. Nommer les éléments de l'étiquetage qui permettent la traçabilité du produit.

Q13. À l'aide d'un exemple concret, montrer comment ces éléments sont utilisés pour la gestion globale d'une alerte sanitaire. Nommer l'organisme officiel chargé de la cosmétovigilance.

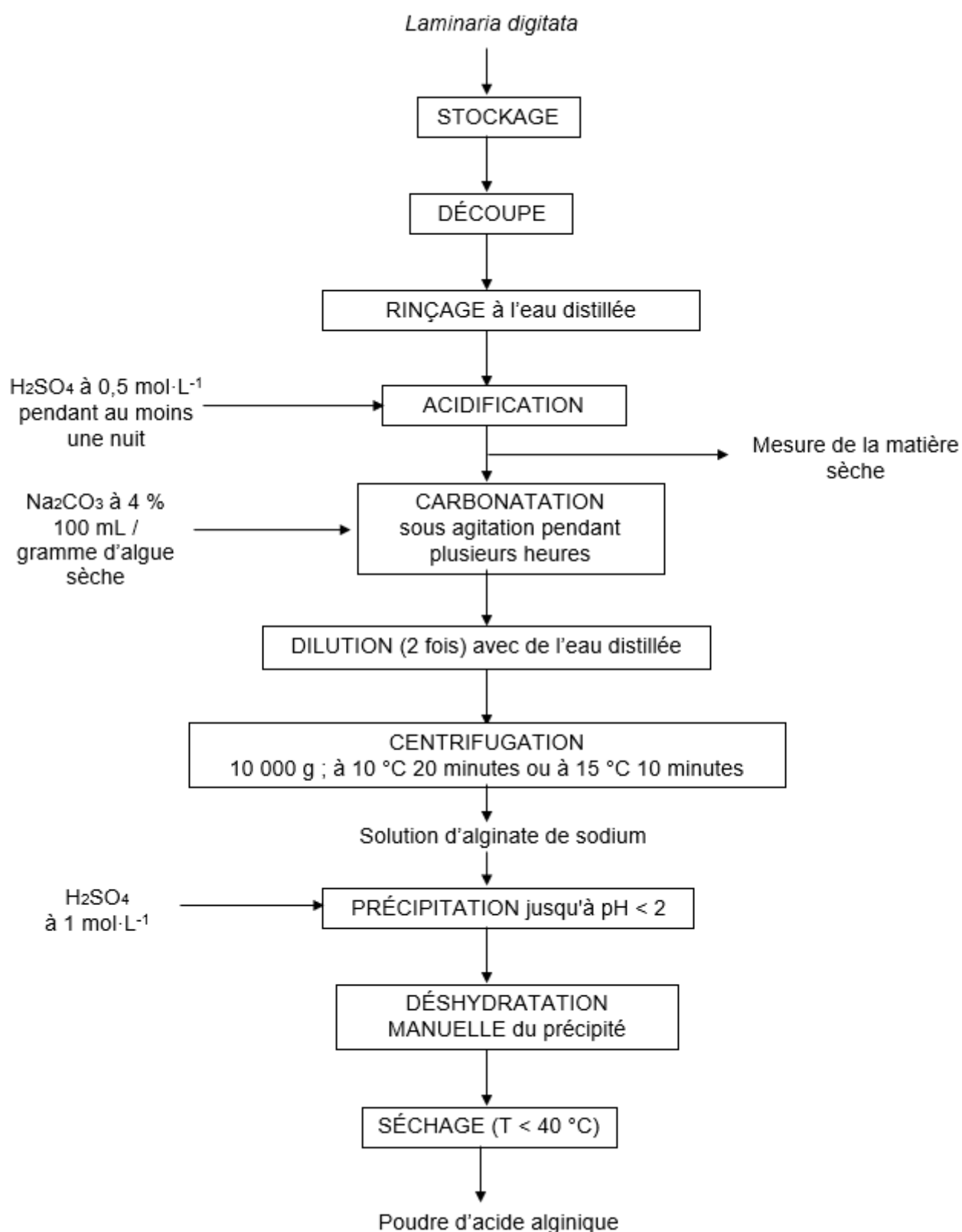
Dans la liste des ingrédients figure l'alginate. Les interactions biochimiques entre cette molécule et les molécules d'eau sont schématisées dans le **document 7**.

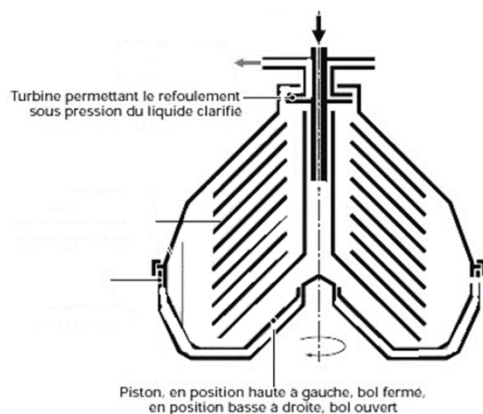
Q14. Donner un rôle possible de l'alginate dans la formulation de cette crème cosmétique.

3. La démarche qualité de l'entreprise ALGI-France

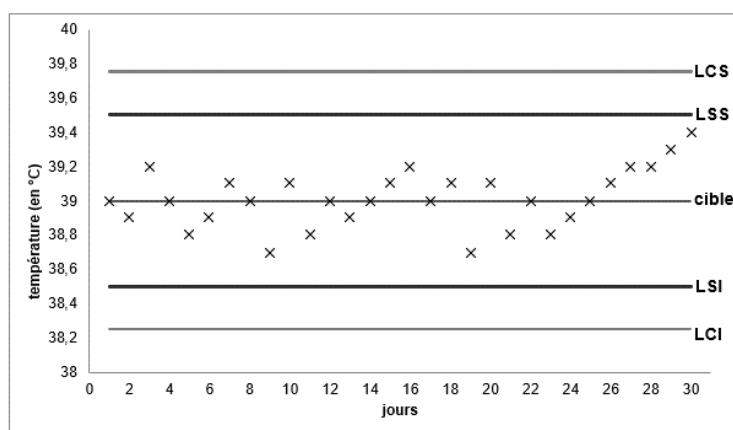
Afin de s'assurer de la conformité de ses produits, l'entreprise ALGI-France est certifiée ISO 22716. La norme ISO 22716 définit les règles des Bonnes Pratiques de Fabrication des produits cosmétiques. En vue de l'audit de renouvellement de sa certification, elle organise un audit interne.

Q15. Expliquer le principe et les objectifs d'un audit interne.

DOCUMENT 1 : procédé industriel d'extraction de l'acide alginique par méthode directe

Document 2 : centrifugeuse à assiettes utilisée pour une séparation liquide-solide

D'après un schéma fournisseur, www.centrimax.fr.

Document 3 : carte de contrôle de suivi de température de l'étuve de séchage

LCS : limite de contrôle (ou d'action) supérieure
LSS : limite de surveillance supérieure
LSI : limite de surveillance inférieure
LCI : limite de contrôle (ou d'action) inférieure

Règles d'identification d'un dérèglement :

Si l'une des règles suivantes s'applique aux points de la carte de contrôle alors le procédé a subi un dérèglement.

- Règle 1 : un point est à l'extérieur des limites de contrôle.
- Règle 2 : au moins deux points sur trois consécutifs se trouvent dans la zone comprise entre 2s et 3s ou au-delà et du même côté de la ligne centrale.
- Règle 3 : quatre points sont dans la zone comprise entre 1s et 2s ou au-delà et du même côté de la ligne centrale parmi cinq points consécutifs.
- Règle 4 : huit points consécutifs sont d'un côté de la ligne centrale.
- Règle 5 : huit points consécutifs sont en ordre croissant ou décroissant.

Document 4 : tableau de répartition de fréquence des masses du lot 123.45 de pot de crème

Le tableau comporte 7 classes notées de C1 à C7. Une classe regroupe tous les pots dont la masse unitaire m est comprise dans l'intervalle de pesée défini dans le tableau ci-dessous.

Classe	Intervalle de pesée (g)	Nombre de pots de crème
Classe 1	$m < 147,40$	2
Classe 2	$147,40 \leq m < 147,44$	48
Classe 3	$147,44 \leq m < 147,48$	182
Classe 4	$147,48 \leq m < 147,52$	462
Classe 5	$147,52 \leq m < 147,56$	250
Classe 6	$147,56 \leq m < 147,60$	56
Classe 7	$m \geq 147,60$	0

Données : spécifications

- Si moins de 0,3 % des pots de crème du lot ont une masse hors limites de la masse attendue $\Rightarrow$ **CONFORME**

- Si 0,3 % ou plus des pots de crème du lot ont une masse hors limites de la masse attendue $\Rightarrow$ **NON CONFORME**

Document 5 : tables standard**Table 1 de la norme NF ISO 2859-1 : effectif d'échantillonnage pour le niveau de contrôle II**

Effectif des lots	Lettre code	Effectif des échantillonnages
2 à 8	A	2
9 à 15	B	3
16 à 25	C	5
26 à 50	D	8
51 à 90	E	13
91 à 150	F	20
151 à 280	G	32
281 à 500	H	50
501 à 1 200	J	80
1 201 à 3 200	K	125
3 201 à 10 000	L	200
10 001 à 35 000	M	315
35 001 à 150 000	N	500
150 001 à 500 000	P	800
> à 500 000	Q	1 250

Extrait de la table 2 de la norme NFX 06-022 : A et R en fonction de NQA et n

Lettre code	n	A=0 R=1	A=1 R=2	A=2 R=3	A=3 R=4	A=5 R=6	A=7 R=8	A=10 R=11	A=14 R=15	A=21 R=22
A	2	6,5	/	/	/	/	/	/	/	/
B	3	4	/	/	/	/	/	/	/	/
C	5	2,5	10	/	/	/	/	/	/	/
D	8	1,5	6,5	10	/	/	/	/	/	/
E	13	1	4	6,5	10	/	/	/	/	/
F	20	0,65	2,5	4	6,5	10	/	/	/	/
G	32	0,4	1,5	2,5	4	6,5	10	/	/	/
H	50	0,25	1	1,5	2,5	4	6,5	10	/	/
J	80	0,15	0,65	1	1,5	2,5	4	6,5	10	/
K	125	0,1	0,4	0,65	1	1,5	2,5	4	6,5	10
L	200	0,065	0,25	0,4	0,65	1	1,5	2,5	4	6,5
M	315	0,04	0,15	0,25	0,4	0,65	1	1,5	2,5	4
N	500	0,025	0,1	0,15	0,25	0,4	0,65	1	1,5	2,5
P	800	0,015	0,065	0,1	0,15	0,25	0,4	0,65	1	1,5
Q	1250	/	0,025	0,04	0,065	0,1	0,15	0,25	0,4	0,65

D'après NF ISO 2859-1 Avril 2000.

Document 6 : étiquette apposée sur les pots de crème cosmétique

ALGO

**CRÈME DE JOUR
PURIFIANTE**
Pour le visage

50 mL

Ingredients :
Water (Aqua), Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Seed Meal, Calendula Officinalis Flower Extract, Anthyllus Vulneraria Extract, Alcohol, Arachis Hypogaea (Peanut) Oil, Chamomilla Recutita (Matricaria) Flower Extract, Hypericum Perforatum Flower/Leaf/Stem Extract, Helianthus Annuus (Sunflower) Seed Oil, Xanthan Gum, Lecithin, Algin, Hamamelis Virginiana (Witch Hazel) Bark/Leaf Extract, Triticum Vulgare (Wheat) Germ Oil, Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Oil, Fragrance (Parfum), Citronellol*, Geraniol*, Malpighia Punicifolia (Acerola) Fruit Extract.

Eau - poudre d'amande douce - extraits de calendula et d'anthyllide - alcool - huile d'arachide - extraits de camomille et de millepertuis - huile de tournesol - extrait d'hamamélis - huile de germe de blé - huile d'amande douce d'acérola - gomme xanthane (substance mucilagineuse naturelle) - lécithine (végétale) - alginate - huiles essentielles - extrait.

**à base d'huiles essentielles naturelles*

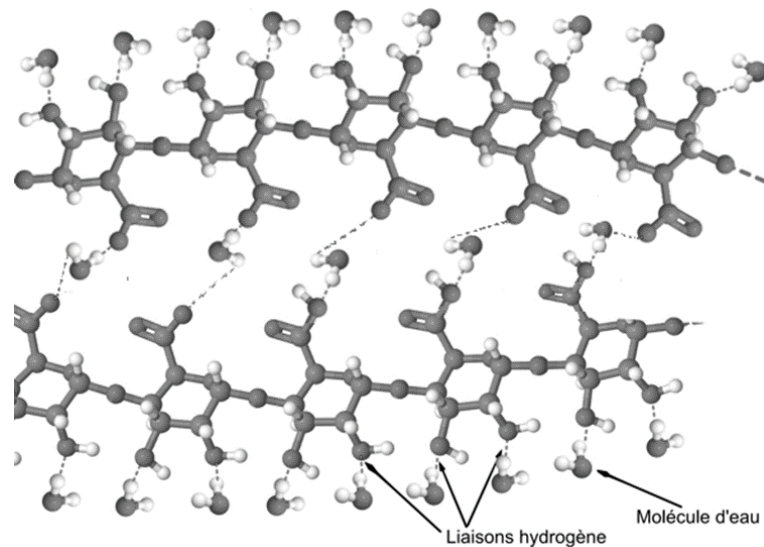
 


5 012345 678900

MADE IN FRANCE FABRIQUE EN FRANCE
Service consommateur
ALGI France
ZI d'Ouessant
29200 BREST

Lot.123.45

Document 7 : schéma des interactions biochimiques entre l'alginate et l'eau



SESSION 2023 - Sujets

Sujet de mathématiques 2023

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

EXERCICE 1 (10 points)

Les deux parties de l'exercice peuvent être traitées indépendamment.

Afin de vérifier la bonne isolation thermique d'un spa, on porte la température de l'eau du spa à 38 °C puis on coupe l'alimentation électrique du spa qui sert à chauffer l'eau. On s'intéresse à l'évolution de cette température en fonction du temps écoulé à partir de cette coupure.

La température de l'eau du spa est modélisée par une fonction f qui, à tout temps t (en heures) écoulé depuis la coupure de l'alimentation électrique, associe la température $f(t)$, en degré Celsius (°C), de l'eau du spa au temps t . On admet que $f(0) = 38$.

Lors de cette vérification, la température ambiante extérieure au spa reste constante et égale 25 °C. On remarque que la température de l'eau du spa est de 37 °C au bout de 1,5 h.

Partie A

On admet que la fonction f est la solution sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$ de l'équation différentielle (E) d'inconnue y de la variable réelle $t : y' + 0,05y = 1,25$ et qui vérifie la condition $f(0) = 38$.

- Déterminer les solutions de l'équation différentielle $y' + 0,05y = 0$ sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$.
- Déterminer sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$ une fonction constante solution particulière de l'équation différentielle (E).
- En déduire les solutions de l'équation différentielle (E) : $y' + 0,05y = 1,25$.
- Montrer que, pour tout réel t de l'intervalle $[0 ; +\infty[$, $f(t) = 13e^{-0,05t} + 25$.

Partie B

On admet que, pour tout réel t de l'intervalle $[0 ; +\infty[$, $f(t) = 13e^{-0,05t} + 25$.

- Calculer la valeur arrondie à 10^{-1} de $f(24)$. Interpréter cette valeur dans le contexte de l'exercice.
- Pour tout réel t de l'intervalle $[0 ; +\infty[$, déterminer une expression de $f'(t)$.
 - En déduire le sens de variation de la fonction f sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$. Ce sens de variation paraît-il cohérent avec le contexte de l'exercice ? Argumenter.
- Déterminer la limite de la fonction f en $+\infty$.
 - Interpréter la valeur de cette limite dans le contexte de l'exercice.
- Une alarme sonore est émise quand la température de l'eau du spa devient strictement inférieure à une température programmée par l'utilisateur.
 - L'utilisateur programme la température de l'eau du spa à 36 °C. Déterminer, par le calcul, combien de temps après coupure de l'alimentation électrique cette alarme sonore retentira. On donnera la valeur exacte de cette durée puis la valeur arrondie à la minute.
 - Quelle est la valeur numérique affichée par l'algorithme ci-dessous ?

```

H ← 0
T ← 38
Tant que T ≥ 34
    H ← H + 1
    T ← 13e-0,05H + 25
Fin du tant que
Afficher H

```

- c) Expliquer ce que cet algorithme permet de déterminer dans le contexte de l'exercice.

EXERCICE 2 (10 points)

Les trois parties de cet exercice sont indépendantes.

Une minoterie (établissement qui fabrique des farines de céréales) reçoit chaque jour des camions de blé. Ce blé est destiné à être transformé en farine. La farine fabriquée est ensuite vendue à des boulangers industriels ou à des artisans boulangers.

Partie A

Dans la minoterie, on procède à deux contrôles qualité à l'arrivée d'une livraison de blé : l'un sur l'extensibilité d'une pâte obtenue à partir de la farine fabriquée avec un échantillon du blé livré, l'autre sur le taux d'humidité du blé livré.

- Un technicien broie une quantité de blé représentatif d'une livraison. Il obtient une farine, avec laquelle il fabrique cinq échantillons de qualité identique de pâte. Il mesure l'indice d'extensibilité, en mm, de chacun de ces échantillons. Voici les résultats obtenus :

	Indice d'extensibilité en mm
Échantillon n°1	104
Échantillon n°2	81
Échantillon n°3	83
Échantillon n°4	57
Échantillon n°5	55

- Donner la moyenne $\bar{x}$ de cette série et son écart-type arrondi au centième.
 - Dans cette question, on considère que l'écart-type de la série est $\sigma = 18 \text{ mm}$.
Le processus qualité impose de procéder à un test sur cinq nouveaux échantillons de pâte si l'une des cinq valeurs de la série précédente est en dehors de l'intervalle $[\bar{x} - 2\sigma, \bar{x} + 2\sigma]$.
Vérifier que le technicien n'a pas besoin de procéder à un test sur cinq nouveaux échantillons de pâte.
- Deux camions, en provenance d'une même exploitation agricole, sont arrivés. Le technicien utilise un humidimètre qui indique le taux d'humidité, mesuré en pourcentage, du blé livré dans chaque camion :
 - le premier contient 29 540 kg de blé présentant un taux d'humidité global de 12,4 % ;
 - le second contient 14 540 kg de blé présentant un taux d'humidité global de 14,1 %.

Le cahier des charges exige un taux d'humidité inférieur à 13 % dans un même silo. Lors du déchargement des deux camions dans un même silo, les blés seront mélangés.

Montrer que le technicien peut autoriser le déchargement des deux camions dans un même silo vide.

Partie B

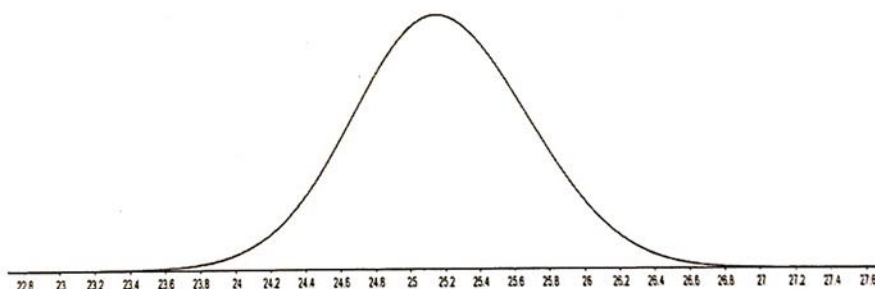
La farine fabriquée par la minoterie est conditionnée dans des sacs destinés à être vendues aux boulangers. On note X la variable aléatoire qui, à chaque sac de farine, associe son poids en kg. On admet que la variable aléatoire X suit la loi normale de moyenne 25,2 kg et d'écart-type 0,1.

On prélève un sac au hasard dans la production.

- Un sac ne peut pas être vendu s'il a une masse inférieure à 25 kg. Quelle est la probabilité, à 10^{-3} près, pour que ce sac ait une masse inférieure à 25 kg ?

2.

- a) Donner un réel h tel que : $P(25,2 - h \leq X \leq 25,2 + h) \approx 0,95$ à 10^{-2} près.
 b) On a tracé ci-dessous la représentation graphique d'une fonction de densité. Expliquer pourquoi cette représentation ne peut pas être celle de la fonction de densité de la variable aléatoire X .



Partie C

Un commercial de la minoterie présente à ses clients une nouvelle farine appelée *La Romaine*. On dispose des données suivantes :

- 70 % des clients de la minoterie sont des artisans boulangers, les autres sont des boulangers industriels,
- parmi les artisans boulangers, 38 % acceptent de tester la farine *La Romaine* ;
- parmi les boulangers industriels, 25 % acceptent de tester la farine *La Romaine*.

On choisit un client de la minoterie au hasard.

On note A l'évènement « le client est un artisan boulanger » et T l'évènement « le client accepte de tester la farine *La Romaine* ».

1. Représenter la situation décrite par un arbre pondéré.
2.
 - a) Calculer la probabilité de l'évènement « le client est un artisan boulanger et il accepte de tester la farine *La Romaine* ».
 - b) Montrer que la probabilité de l'évènement « le client accepte de tester la farine *La Romaine* » est égale à 0,341.
3. Un client ayant testé la farine *La Romaine* reprend contact avec le commercial de la minoterie. Quelle est la probabilité, arrondie à 10^{-3} , que ce soit un artisan boulanger ?
4. On choisit au hasard 200 clients de la minoterie. Les clients de la minoterie sont suffisamment nombreux pour assimiler ce choix à un tirage avec remise. On note Y la variable aléatoire qui, à un échantillon de 200 clients, associe le nombre de clients qui ont testé la farine *La Romaine*.

On admet que la variable aléatoire Y suit la loi binomiale de paramètres n et p , avec $n = 200$ et $p = 0,341$.

- a) Quelle est la probabilité, arrondie à 10^{-3} , qu'au plus 60 des 200 clients choisis aient testé la farine *La Romaine* ?
- b) Calculer l'espérance de la variable aléatoire Y et interpréter dans le contexte de l'exercice.

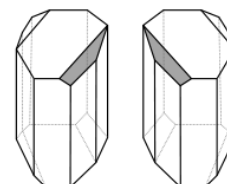
Sujet de sciences physiques et chimiques 2023

Calculatrice avec mode examen autorisée

L'acide tartrique est issu des déchets de l'industrie vinicole : c'est l'effet principal acide contenu dans le raisin. C'est un additif alimentaire désigné par le code E334, autorisé dans la plupart des produits alimentaires. Il peut jouer le rôle d'antioxydants, de régulateur de pH ou de séquestrant (ligand formant des complexes chimiques avec des ions métalliques).

Partie A – La découverte de la chiralité (8,5 points)

En 1848, Pasteur étudie la ressemblance entre le tartrate et paratartrate d'ammoniac et de soude. Il constate au microscope l'existence de formes géométriques spécifiques. La cristallisation de l'acide paratartrique (ou acide racémique, du latin *racemus* : la grappe de raisins) fournit deux sortes de cristaux, semblables mais d'une symétrie parfaite.



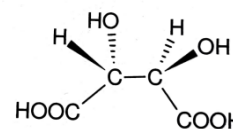
Pasteur sépara sous le microscope et à la pince les deux sortes de cristaux, puis les mit à dissoudre séparément dans l'eau.

Cristaux symétriques d'acide paratartrique

Il constata qu'un type de cristaux donnait des solutions dextrogyres, les autres donnant des solutions lévogyres. Pasteur conclut que l'acide tartrique existait sous deux formes physiques symétriques, appelées aujourd'hui énantiomères.

Q1. Définir les termes « dextrogyres » et « énantiomères ».

La forme L-(+) de l'acide tartrique est la principale origine de l'acidité d'un vin, ci-contre, sa représentation en perspective :



Q2. Dessiner en représentation de Fisher la forme L-(+) de l'acide tartrique.

Q3. Recopier la représentation en perspective de la forme L-(+) de l'acide tartrique. Entourer et nommer les groupements fonctionnels de cette molécule.

Q4. Indiquer sur la représentation précédente, par un astérisque le(s) atome(s) de carbone(s) asymétrique(s) de cette molécule.

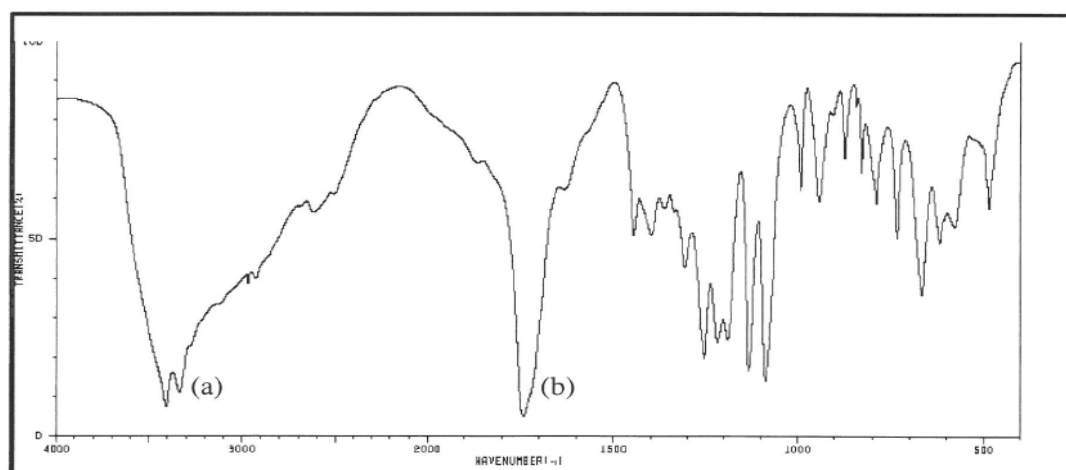
Q5. Déterminer la configuration absolue des atomes de carbones asymétriques, en précisant les règles utilisées.

Données :

Élément	H	C	O
Z	1	6	8

La forme D-(-) de l'acide tartrique, en moindre quantité dans le vin, présente le spectre IR ci-dessous.

Spectre IR du D-(-)-acide tartrique



Liaison	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Intensité
O-H alcool libre	3 500 – 3 700	Forte, fine
O-H alcool lié	3 200 – 3 400	Forte, large
O-H acide carboxylique	2 500 – 3 200	Forte à moyenne, large
N-H amine	3 100 – 3 500	Moyenne
N-H amide	3 100 – 3 500	Forte
N-H amine ou amide	1 560 – 1 640	Forte ou moyenne
C _{tri} - H	3 000 – 3 100	Moyenne
C _{tét} - H	2 800 – 3 000	Forte
C = O ester	1 700 – 1 740	Forte
C = O amide	1 650 – 1 740	Forte
C = O aldéhyde et cétone	1 650 – 1 730	Forte
C = O acide	1 680 – 1 710	Forte

Q6. En utilisant l'extrait de tables IR fourni, ci-dessus, identifier en justifiant les deux bandes de vibration (a) et (b) les caractéristiques de cette molécule.

Partie B – Quelques réactions autour de l'acide tartrique (7 points)

L'acide tartrique de formule $C_4H_6O_6$ peut être obtenu lors de l'oxydation de l'acide maléique de formule $C_4H_4O_4$ par du permanganate de potassium en milieu basique.

CHAMPETIER, Chim. Macro moléculaire, 1957, p.71.

Les couples oxydant/réducteur sont : $C_4H_6O_6 / C_4H_4O_4$ et MnO_4^- / MnO_2 .

Q7. Écrire les deux demi-équations d'oxydoréduction et en déduire l'équation de la réaction. Pour simplifier, ces équations seront écrites en milieu acide.

L'acide maléique et l'acide fumarique sont deux diacides diastéréoisomères, correspondants en nomenclature systématique à l'acide but-2-ène-1,4-dioïque. L'acide maléique est de configuration Z alors que l'acide fumarique est de configuration E.

Q8. Représenter ces deux isomères en précisant leur nom.

En présence d'un excès d'éthanol et en milieu acide, l'acide tartrique subit une double estérification. Le produit obtenu a pour formule brute $C_8H_{14}O_6$.

Q9. Écrire l'équation de cette estérification avec des formules semi-développées.

On donne dans le **document en annexe 1**, le mécanisme réactionnel de l'estérification.

Q10. Identifier l'espèce A et écrire la formule semi-développée de E.

Q11. Préciser le rôle des ions H^+ dans ce mécanisme.

Partie C – Détermination de la concentration d'une solution d'acide tartrique par polarimétrie (7 points)

Un technicien prépare une solution aqueuse S_1 d'acide L-(+)-tartrique de concentration massique $c_1 = (150 \pm 3) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, soit $(1,00 \pm 0,02) \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Il souhaite contrôler par polarimétrie la concentration de la solution préparée.

Il prépare alors une gamme de solutions étalons d'acide L-(+)-tartrique à partir d'une solution mère commerciale de concentration $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (soit $200 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$).

En utilisant un tube de longueur $\ell = 30,0 \text{ cm}$, il mesure le pouvoir rotatoire α de chacune des solutions préparées, ainsi que celui de la solution à analyser. L'incertitude-type de la mesure du pouvoir rotatoire vaut $0,06^\circ$.

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Concentration c (g·L ⁻¹)	0	40	80	120	160	200
α (°)	0	1,5	3,1	4,4	6,1	7,3

Q12. Le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]$ de l'acide L-(+)-tartrique vaut + 0,125 °·m²·kg⁻¹. Donner la signification du signe +.

Q13. Vérifier, par la méthode de votre choix, qui vous semble la plus précise, que les mesures de pouvoir rotatoire de la gamme ci-dessus suivent la loi de Biot et sont concordantes avec la valeur du pouvoir rotatoire spécifique de l'acide L-(+)-tartrique.

Pour la solution S₁, l'analyseur du polarimètre doit être tourné d'un angle $\alpha = 5,6^\circ$ pour établir l'équipénombre.

Q14. Déterminer la concentration massique en acide L-(+)-tartrique de la solution S₁ en appliquant la loi de Biot et en précisant son incertitude-type.

Q15. Valider le contrôle de la concentration de la solution préparée par le technicien en justifiant la réponse à partir des données introductives de la partie C.

Partie D – Détermination de la concentration d'une solution d'acide tartrique par titrage pHmétrique (6,5 points)

Données :

- L'acide tartrique est un diacide dont les pK_a sont :
 - pK_{A1} (C₄H₆O₆/C₄H₅O₆⁻) = 3,04 à 25 °C pour le couple acide tartrique / ion hydrogénotartrate
 - pK_{A2} (C₄H₅O₆⁻/C₄H₄O₆²⁻) = 4,37 à 25 °C pour le couple ion hydrogénotartrate / ion tartrate
- Le produit ionique de l'eau à 25 °C vaut K_e = 10⁻¹⁴.

On désire maintenant vérifier que la concentration c_1 de la solution S₁ est de 1,00 mol·L⁻¹ en procédant cette fois-ci à un dosage pH-métrique.

On dilue pour cela 10 fois la solution S₁. On note la solution obtenue S_{1 diluée}.

On dose un volume $V_1 = 5,0$ mL de la solution S_{1 diluée} par une solution d'hydroxyde de sodium de concentration c_B égale à 1,0·10⁻¹ mol·L⁻¹.

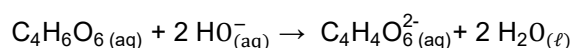
On trace la courbe donnant le pH en fonction du volume de solution d'hydroxyde de sodium versé. Le graphe obtenu est en **annexe 2** à rendre avec la copie.

Q16. Indiquer le volume de solution S₁ à prélever, ainsi que la verrerie utilisée pour préparer 50,0 mL de S_{1 diluée}.

Q17. En vous appuyant sur les valeurs des pK_a, expliquer pourquoi la courbe pH-métrique ne présente qu'un saut de pH.

Q18. Déterminer, en utilisant la méthode des tangentes, le volume de solution d'hydroxyde de sodium versé à l'équivalence. Faire apparaître les tracés nécessaires sur le document réponse situé en annexe 2 à rendre avec la copie.

On donne l'équation de la réaction du titrage :



Q19. Déterminer, en détaillant le calcul, la concentration c_1 de la solution S₁ et conclure.

Partie E - Étude de la solubilité de l'hydrogénotartrate de potassium (4,5 points)

Données concernant l'hydrogénotartrate de potassium :

- Masse molaire $M = 188,2$ g·mol⁻¹
- Produit de solubilité à 20 °C $K_s = 9,2 \times 10^{-4}$.

L'hydrogénotartrate de potassium est un composé organique, sous-produit de la vinification, de formule KC₄H₅O₆. Il est utilisé en France comme additif (E336) en tant que stabilisant et régulateur de pH.

Q20. Écrire l'équation de dissolution de l'hydrogénotartrate de potassium dans l'eau, en précisant les états physiques des réactifs et des produits.

Q21. Exprimer la solubilité s de l'hydrogénotartrate de potassium en fonction de son produit de solubilité K_s , en négligeant les propriétés acido-basiques de l'ion hydrogénotartrate.

Q22. Calculer, en $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ puis en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, la solubilité de l'hydrogénotartrate de potassium.

Partie F – Étude des cristaux d'acide tartrique au microscope (6,5 points)

Afin de mettre en évidence la chiralité, Pasteur a étudié des cristaux d'acide tartrique au microscope.

On se propose dans cette partie d'étudier quelques propriétés d'un microscope optique.

On considère pour cela un cristal d'acide tartrique, de taille $AB = 100\ \mu\text{m}$.

Le microscope optique étudié possède les caractéristiques suivantes :

- Objectif : lentille L_1 de centre optique O_1 et de distance focale $f'_1 = 4,0\ \text{mm}$;
- Oculaire : lentille L_2 de centre optique O_2 et de distance focale $f'_2 = 2,0\ \text{mm}$;
- Intervalle optique $\Delta = \overline{F'_1 F_2} = 16,0\ \text{cm}$;
- Distance minimale de vision distincte pour un œil emmétrope $d_m = 25\ \text{cm}$;
- Grossissement commercial $G_C = \frac{\theta'}{\theta} = \frac{\Delta \times d_m}{f'_1 \times f'_2}$;
- Approximations des petits angles : $\sin \theta = \theta$ et $\tan \theta = \theta$ avec θ en rad.

Q23. Indiquer la position de l'image intermédiaire A_1B_1 de l'objet AB , afin d'avoir une image définitive $A'B'$ rejetée à l'infini.

Q24. Calculer le grossissement G_C du microscope.

Q25. En s'appuyant sur un schéma simple, montrer que l'angle θ sous lequel on voit le cristal d'acide tartrique à l'œil nu à une distance $d_m = 25\ \text{cm}$ a pour valeur $\theta = 4 \times 10^{-4}\ \text{rad}$.

Q26. Calculer l'angle θ' sous lequel le cristal d'acide tartrique est vu à travers le microscope.

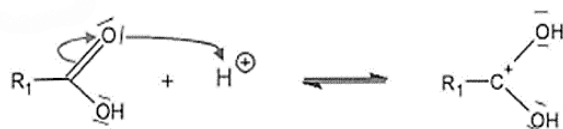
Le pouvoir de résolution de l'œil a pour valeur $\theta_E = 3 \times 10^{-4}\ \text{rad}$.

Q27. Indiquer, en justifiant la réponse, si le cristal d'acide tartrique est visible à l'œil nu.

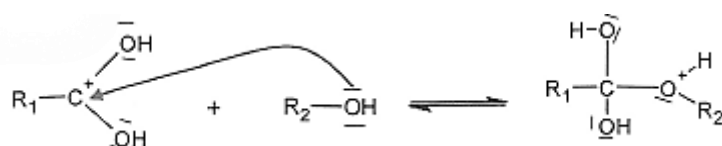
Q28. Préciser alors l'intérêt du microscope.

ANNEXE 1 : mécanisme réactionnel de l'estérification

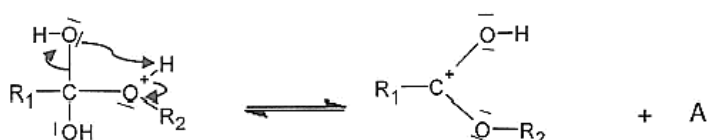
Étape 1



Étape 2



Étape 3

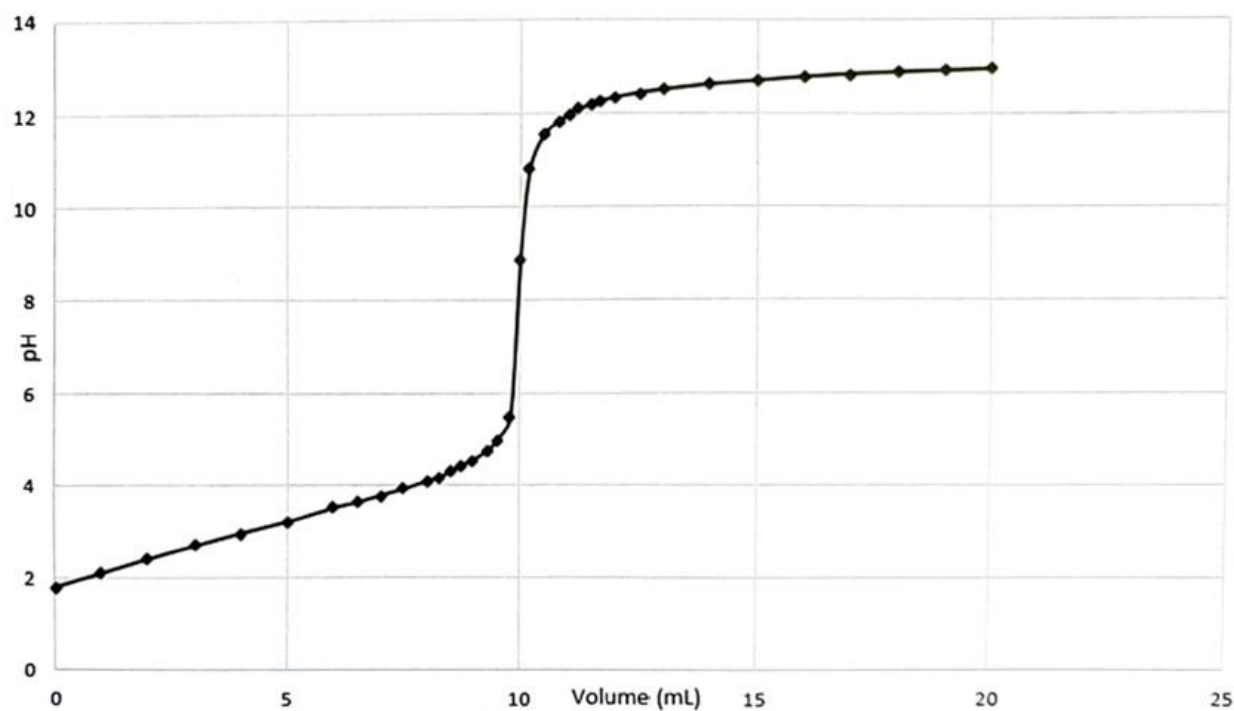


Étape 4



ANNEXE 2 : à rendre avec la copie

Titration pH-métrique d'une solution d'acide tartrique par une solution d'hydroxyde de sodium décimolaire.



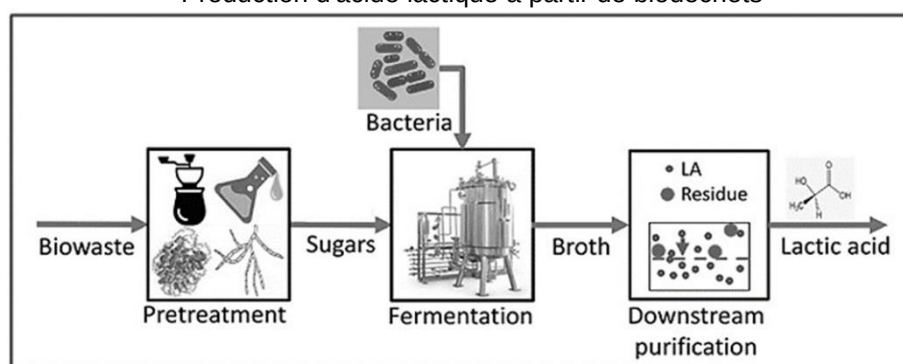
Sujet de biochimie et technologies d'analyse 2023

Production et purification de l'acide lactique dans le cadre de la valorisation des biodéchets par production de bioplastique

Chaque année, l'industrie agroalimentaire produit plusieurs millions de tonnes de déchets organiques dits biodéchets. La mise en décharge ou l'incinération de ces déchets est à l'origine d'émissions de gaz à effet de serre. À l'inverse, leur valorisation permet le recyclage des matières organiques par le sol (compostage, épandage...) ou la transformation de ces matières organiques en produits à haute valeur ajoutée (synthèse de pigments, de substances bioactives, fabrication de bioplastiques...). La loi du 10 février 2020 dite loi anti-gaspillage, prévoit l'obligation de trier tous les biodéchets dans le but de les valoriser, à la date du 1^{er} janvier 2024. La valorisation des déchets est donc devenue aujourd'hui un défi majeur pour toutes les entreprises du secteur de l'alimentation.

Dans ce contexte, le PLA (PolyLacticAcid) est un plastique biosourcé et biodégradable produit à partir d'acide lactique, qui peut lui-même être fabriqué à partir de biodéchets. Il sert à fabriquer de nombreux objets allant des emballages jusqu'aux filaments pour impression 3D.

Production d'acide lactique à partir de biodéchets



LA= Lactic Acid

Thygesen A, Tsapekos P, Alvarado-Morales M, Angelidaki I. Valorization of municipal organic waste into purified lactic acid. *Bioresour Technol.* 2021 Dec;342:125933. doi: 10.1016/j.biortech.2021.125933. Epub 2021 Sep 15. PMID: 34852434.

La production industrielle de PLA à partir de biodéchets nécessite :

- une transformation des déchets organiques en acide lactique ;
- une optimisation de la production d'acide D-lactique ;
- une purification de l'acide D ou L lactique pour permettre la synthèse chimique de PLA.

1. Transformation des déchets organiques en acide lactique

1.1. Choix et utilisation d'une cellulase fongique

Les biodéchets contiennent souvent des végétaux riches en cellulose. Le rendement de production d'acide lactique dépend à la fois de la vitesse d'hydrolyse du substrat cellulosique et de la fermentation du glucose en acide lactique par les microorganismes. Des cellulases sont ajoutées pour faciliter le travail des microorganismes. Le choix de ces enzymes représente un challenge important pour la viabilité du process.

Le laboratoire a acheté un échantillon de cellulase chez son fournisseur dont l'étiquette est reproduite dans le document 1.

Q1. Préciser la nature du danger que représente ce produit sous cette forme et choisir les moyens de prévention à mettre en place au cours de la préparation de la solution de cellulase.

La cellulose est un polymère difficilement biodégradable de β -D-glucopyranose relié par des liaisons β osidique 1-4.

Q2. Écrire la formule développée de la cellulose (3 résidus) et identifier les liaisons qui seront clivées par la cellulase.

On souhaite réaliser un essai avec un milieu de culture contenant $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cellulose. La fermentation est suivie pendant 100 heures. On ajoute 0,10 g de cellulase pour 500 mL de milieu.

Q3. Calculer le nombre de moles de résidus glucose contenus dans 500 mL de milieu de culture puis, à l'aide du **document 1**, vérifier que la masse de cellulase introduite est suffisante pour hydrolyser la totalité de la cellulose au cours des 100 heures de culture.

Donnée : la masse molaire d'un résidu glucose constitutif d'un polymère glucidique est de $162 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

1.2. Production d'acide lactique par fermentation

Le **document 2A** présente les réactions métaboliques à l'origine de la formation de l'acide lactique.

Q4. Écrire en formules semi-développées du pyruvate et du lactate dans la réaction catalysée par l'enzyme notée « 11 », et préciser le nom de cette enzyme.

Q5. Établir le bilan moléculaire et énergétique de la production d'acide lactique à partir de glucose puis expliquer quel est l'intérêt métabolique de la formation de lactate à partir de pyruvate.

Les enzymes clés de cette voie métabolique sont celles qui catalysent des réactions considérées comme irréversibles. Le **document 2B** présente les enthalpies libres des différentes réactions impliquées.

Q6. Identifier les enzymes clés de la régulation de cette voie en argumentant la réponse.

2. Quantification et optimisation de la production d'acide D-lactique

Une solution optiquement pure soit d'acide D-lactique, soit d'acide L-lactique est nécessaire pour produire le PLA. Les bactéries lactiques utilisées sont capables, selon les souches, de produire l'un ou l'autre de ces isomères par fermentation lactique. Afin d'optimiser les techniques de production, une équipe de recherche souhaite créer une souche mutante de *Bacillus coagulans* capable de produire très majoritairement l'isomère D de l'acide lactique, dans des conditions de pH et de température permettant l'utilisation simultanée de cellulases.

L'équipe scientifique de recherche et développement a obtenu différents mutants de *Bacillus coagulans*. Son but est maintenant de sélectionner les mutants correspondants aux objectifs fixés c'est-à-dire produisant de grandes quantités d'acide D-lactique suffisamment pur. Pour cela, le laboratoire dispose de méthodes de dosage enzymatique et chromatographique.

2.1. Séparation et dosage des acides organiques par HPLC

La première étape est de sélectionner un mutant n'ayant pas perdu de capacité de production totale d'acide lactique. Cette vérification est effectuée par HPLC.

Les différents mutants sont cultivés en milieu liquide. Les cultures sont centrifugées, puis les surnageants sont filtrés et analysés par HPLC. Pour cela, une colonne Aminex® combinant une séparation par exclusion diffusion et échange d'ions est utilisée. Elle permet de séparer des mélanges complexes de glucides et d'acides organiques dans les milieux de cultures, et de les quantifier. Un détecteur réfractométrique est utilisé.

Q7. Préciser en fonction de quels paramètres les molécules seront séparées dans la colonne utilisée.

Les résultats obtenus sont présentés dans le **document 3**.

Q8. Analyser ces résultats et identifier le mutant qui semble le plus adapté pour une production maximale d'acide lactique.

2.2. Dosage de l'acide lactique par méthode enzymatique

La deuxième étape est de quantifier les isomères D et L pour vérifier que le mutant produit bien très majoritairement l'acide-D-lactique.

Le dosage des isomères de l'acide lactique dans les surnageants dilués au $1/1000^{\text{ème}}$ est effectué à l'aide d'un kit enzymatique permettant le dosage successif des isomères D puis L de l'acide lactique de manière spécifique. La fiche du kit est présentée dans le **document 4**.

Q9. Présenter un argument montrant qu'il s'agit d'un dosage enzymatique en point final et expliquer l'intérêt de la glutamate-pyruvate transaminase (D-GPT) dans ce dosage.

Les concentrations en masse en acide D et L-lactique dans les surnageants non dilués sont déterminées par les relations suivantes :

$$\rho_{(D-lactate ; surnageant)} = 320 \times \Delta A_{(D-AL)} \text{ en g} \cdot \text{L}^{-1} \quad (1)$$

$$\rho_{(L-lactate ; surnageant)} = 323 \times \Delta A_{(L-AL)} \text{ en g} \cdot \text{L}^{-1} \quad (2)$$

Avec $\Delta A_{(D-AL)} = (A_2 - A_1)_{\text{essai}} - (A_2 - A_1)_{\text{blanc}}$

$\Delta A_{(L-AL)} = (A_3 - A_2)_{\text{essai}} - (A_3 - A_2)_{\text{blanc}}$

Q10. Expliquer comment sont obtenus les deux termes de l'équation (1) ci-dessus : retrouver le facteur 320 et expliquer l'établissement de l'équation aux grandeurs permettant de calculer $\Delta A_{(D-AL)}$.

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

Coefficient d'extinction molaire du NADH à 340 nm : $\varepsilon_{\text{NADH}}^{340} = 6\,300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Les résultats obtenus pour l'un des surnageants sont les suivants :

	Blanc	Échantillon : surnageant du milieu de culture dilué au 1/1000 ^{ème}
A_1	0,437	0,532
A_2	0,438	0,802
A_3	0,460	0,824

Q11. Pour le surnageant testé, déterminer les variations d'absorbances ΔA puis déterminer les concentrations en masse des différents isomères de l'acide lactique. Conclure sur la nature de l'isomère produit par cette souche.

2.3. Dosage des isomères D et L de l'acide lactique par HPLC

Afin de confirmer les résultats précédents, les isomères optiques D et L de l'acide lactique sont dosés par HPLC avec une colonne Chirex 3126D-penicillamine de Phenomenex avec une phase mobile contenant $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ de CuSO_4 . Un étalon interne de D-alanine est utilisé selon le protocole donné dans le **document 5**.

Q12. Préciser quel est le rôle d'un étalon interne et quelles doivent être ses caractéristiques.

Q13. Montrer que l'isomère du lactate présent dans l'échantillon de milieu de culture testé est bien le D-lactate.

Q14. Calculer sa concentration en quantité de matière.

3. Purification de l'acide lactique

Une fois la souche sélectionnée, la purification de l'acide lactique produit à partir du milieu de fermentation reste un problème compte tenu de sa pureté initiale, de la pureté finale souhaitée et du coût de purification. Pour réaliser cette purification, les techniques de filtration et de chromatographies ioniques représentent une solution intéressante.

On se propose de comparer deux process de purification afin de choisir le plus efficace.

3.1. Première méthode : combinaison de microfiltration et nanofiltration

Après culture de la souche en fermenteur, le milieu est inactivé par injection directe de vapeur qui conduit à un ajout d'eau et porte le volume total à 349 L. La concentration en masse d'acide lactique dans ce milieu de culture inactivé est de $\rho_{(\text{acide lactique} ; \text{milieu inactivé})} = 90,4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Le protocole utilisé ensuite pour la filtration est représenté dans le **document 6**. Deux étapes de filtration successives sont appliquées : une première microfiltration suivie d'une nanofiltration. En fin de process, trois fractions sont récupérées : le rétentat de microfiltration, le rétentat de nanofiltration et le perméat de nanofiltration. Le volume total de perméat de nanofiltration obtenu est de 293,5 L.

Q15. Indiquer dans laquelle de ces fractions se trouvent les bactéries ayant assuré la fermentation et expliquer l'intérêt de chacune des deux filtrations.

Après nanofiltration, la composition du perméat obtenu est la suivante :

Solutés	Glucose	Acide lactique	Ions
Concentration en $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	1,0	76,6	0,54

Q16. Calculer le rendement de récupération de l'acide lactique ainsi que le pourcentage de pureté « P » de l'acide lactique dans le perméat de nanofiltration.

$$\text{Donnée : } P = \frac{\text{masse acide lactique}}{\text{masse totale solutés}} \times 100$$

3.2. Deuxième méthode : ultrafiltration suivie de chromatographies d'échange d'ions

Au cours de cette méthode de purification, le moût de fermentation subit tout d'abord une opération de centrifugation puis d'ultrafiltration servant à éliminer les cellules et les plus grosses particules, au cours de laquelle la perte d'acide lactique est négligeable. Le filtrat passe ensuite successivement dans deux colonnes échangeuses d'ions.

Avec cette méthode, le rendement de récupération de l'acide lactique est de 99 % et le pourcentage de pureté de l'éluat final est de 99.

Q17. Sachant que le pH du milieu en fin de fermentation est ajusté à 5,0 préciser sous quelle forme ionique se trouve l'acide lactique au début du process de purification. Préciser sur quel type de colonne échangeuse d'ions il pourra se fixer.

$$\text{Donnée : } pK_{a(-COOH/-COO^-)} \text{ de l'acide lactique} = 3,86 \text{ à } 20^\circ\text{C}$$

Q18. Comparer les rendements de récupération et les pourcentages de pureté des deux méthodes de purification présentées. En déduire la méthode à privilégier.

Document 1 : caractéristiques techniques de la cellulase utilisée pour l'essai

U-1500 25,000 units		Lot 77H7006	
SIGMA			
Cellulase (EC 3.2.1.4) Type I : From <i>Aspergillus niger</i> [9002-13-5]		EEC No232-656	 H334 P261,P284, P304+P340
One unit will liberate 1.0 μmole of glucose from cellulose in one hour at pH 5.0 at 37 °C Dessicate Store at 2 to 8 °C		1.14 g solid Activity = 22 000 units /g solid For laboratory use only. Not for drug or other uses.	

Source : Sigma.

H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.

P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillard/vapeurs.

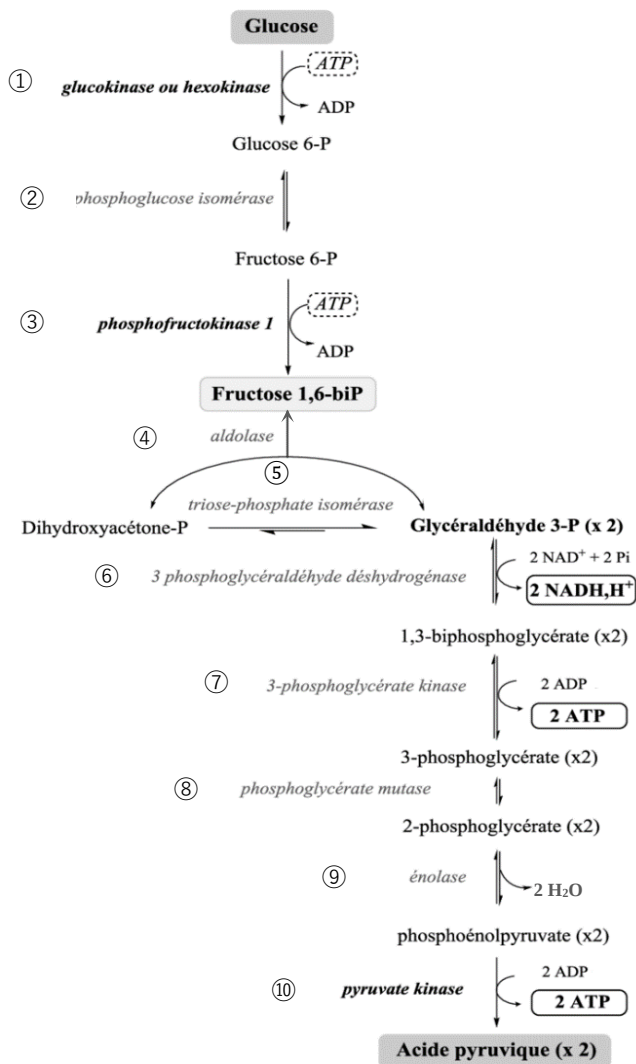
P284 : [Lorsque la ventilation du local est insuffisante] porter un équipement de protection respiratoire.

P304 : En cas d'inhalation :

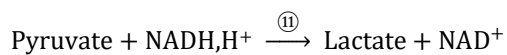
P340 : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.

Document 2 : réactions métaboliques assurant la transformation du glucose en acide lactique

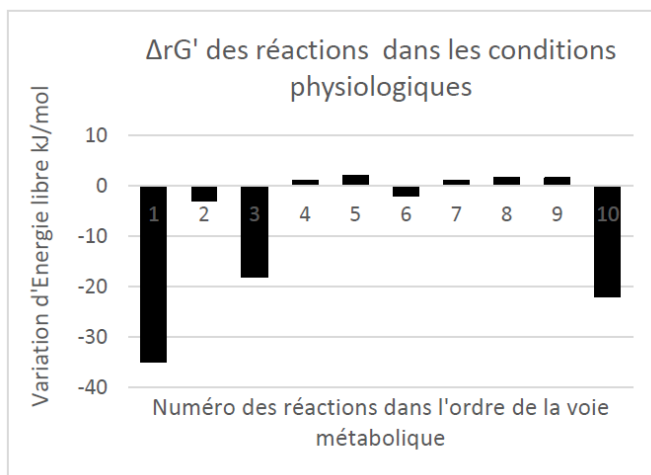
2A : ordre d'enchaînements des réactions



Fermentation



2B : variations d'enthalpie libre des réactions



Document 3 : résultats de l'analyse des milieux de culture par HPLC

Conditions Instrument: GlycoChrom analyzer

Column: Aminex HPX-87H column, 300 x 7.8 mm

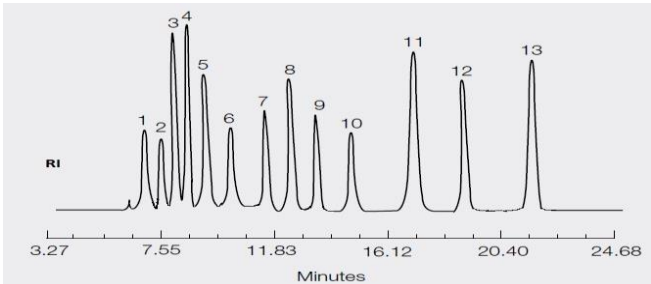
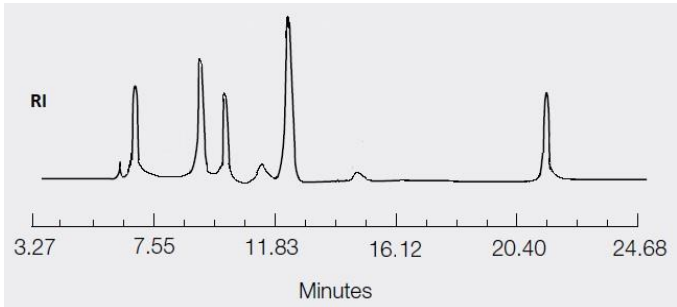
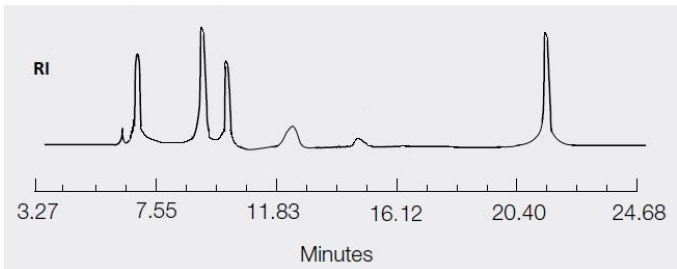
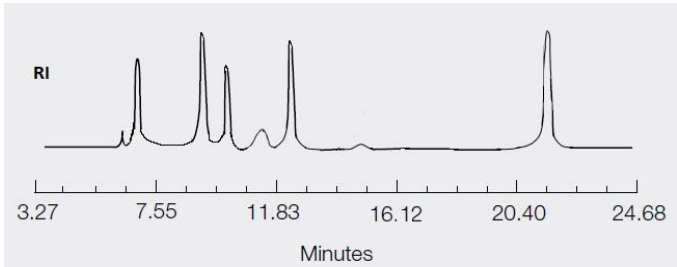
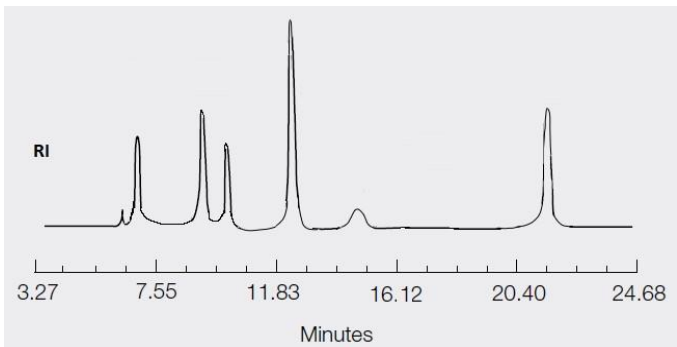
Sample: Fermentation broth

Eluant: 5 mM sulfuric acid

Flow Rate: 0.60 mL/min

Temperature: 50 °C

Detection: UV 210 nm - RI

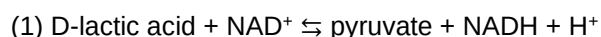
Étalons	 <table><tr><td>1- maltotriose</td><td>6- fructose</td><td>11- acide pyroglutamique</td></tr><tr><td>2- maltose</td><td>7- acide succinique</td><td>12- méthanol</td></tr><tr><td>3- acide citrique</td><td>8- acide lactique</td><td>13- éthanol</td></tr><tr><td>4- acide tartrique</td><td>9- glycérol</td><td></td></tr><tr><td>5- glucose</td><td>10- acide acétique</td><td></td></tr></table>	1- maltotriose	6- fructose	11- acide pyroglutamique	2- maltose	7- acide succinique	12- méthanol	3- acide citrique	8- acide lactique	13- éthanol	4- acide tartrique	9- glycérol		5- glucose	10- acide acétique	
1- maltotriose	6- fructose	11- acide pyroglutamique														
2- maltose	7- acide succinique	12- méthanol														
3- acide citrique	8- acide lactique	13- éthanol														
4- acide tartrique	9- glycérol															
5- glucose	10- acide acétique															
Souche sauvage WT																
Mutant QZ4																
Mutant QZ13																
Mutant QZ19																

*D'après la
documentation
technique de Bio-Rad.*

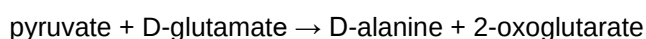
Document 4 : extrait de la notice du kit LIBIOS pour le dosage de l'acide L-lactique par une méthode enzymatique

PRINCIPLE:

The detection of D-lactic acid requires two enzyme reactions. In the first reaction catalysed by D-lactic dehydrogenase (D-MDH), D-lactic acid is oxidised to pyruvate by nicotinamide-adenine dinucleotide (NAD⁺):

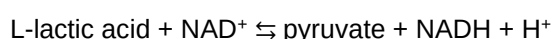


However, since the equilibrium of reaction (1) lies firmly in the favour of D-lactic acid and NAD⁺, a further reaction is required to “trap” the NADH product, and this is achieved by the conversion of pyruvate to D-alanine and 2-oxoglutarate, in the presence of a large excess of D-glutamate, by glutamate-pyruvate transaminase (D-GPT):



The amount of NADH formed in the above coupled reaction is stoichiometric with the amount of D-lactic acid. It is the NADH which is measured by the increase in absorbance at 340 nm.

In a similar set of reactions, L-lactic acid (L-lactate) is oxidised to pyruvate by L-lactate dehydrogenase (L-LDH) in the presence of nicotinamide-adenine dinucleotide (NAD⁺):



Pyruvate is again “trapped” using D-GPT in the presence of a large excess of D-glutamate. The assays for D-lactic acid and L-lactic acid are performed sequentially.

PROCEDURE:

Wavelength: 340 nm Cuvette: 1 cm light path (glass or plastic) Temperature: ~ 25 °C Final volume: 1.12 -1.13 mL	Sample solution: 0.5 - 30 µg of lactic acid per cuvette (in 0.05 mL sample volume) Read against air (without a cuvette in the light path) or against water
--	---

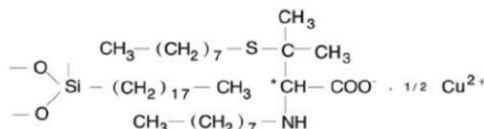
Pipette into cuvettes	Blank	Sample	Control
Distilled water (at ~ 25 °C)	800 µL	750 µL	750 µL
Sample	—	50 µL	—
Standard solution (D-lactate and L-lactate 0.15 g·L ⁻¹)	—	—	50 µL
Solution 1 (buffer)	250 µL	250 µL	250 µL
Solution 2 (NAD ⁺)	50 µL	50 µL	50 µL
Suspension 3 (D-GPT)	10 µL	10 µL	10 µL
Mix*, read the absorbances of the solutions (A ₁) after approx. 3 min. Start the reactions by addition of:			
Suspension 5 (D-LDH)	10 µL	10 µL	10 µL
Mix*, read the absorbances of the solutions (A ₂) at the end of the reaction (approx. 5 min). If the reaction has not stopped after 5 min, continue to read the absorbances at 2 min intervals until the absorbances remain the same over 2 min.			
Suspension 4 (L-LDH)	10 µL	10 µL	10 µL
Mix*, read the absorbances of the solutions (A ₃) at the end of the reaction (approx. 5 min). If the reaction has not stopped after 5 min, continue to read the absorbances at 2 min intervals until the absorbances remain the same over 2 min.			

* for example with a plastic spatula or by gentle inversion after sealing the cuvette with a cuvette cap or Parafilm®.

Document 5 : principe et résultats de la chromatographie d'analyse des isomères D et L d'acide lactique

5A : extrait du principe de fonctionnement de la colonne Chirex pour la séparation et le dosage des isomères de l'acide lactique

Ci-dessous, une phase stationnaire 3 126 Chirex contenant un ligand D-pénicillamine capable de sélectionner les formes chirales. Ce ligand est adsorbé sur une phase reverse et associé à un ion cuivre. Il fait partie intégrante de la phase stationnaire.



Le mécanisme de séparation est basé sur la formation d'un complexe métallique diastéréoisomérique réversible entre le ligand et le soluté chiral en solution, par l'intermédiaire de l'ion cuivre. L'énantiomère formant le complexe le plus stable sera retenu plus longtemps.

5B : Protocole de préparation des injections

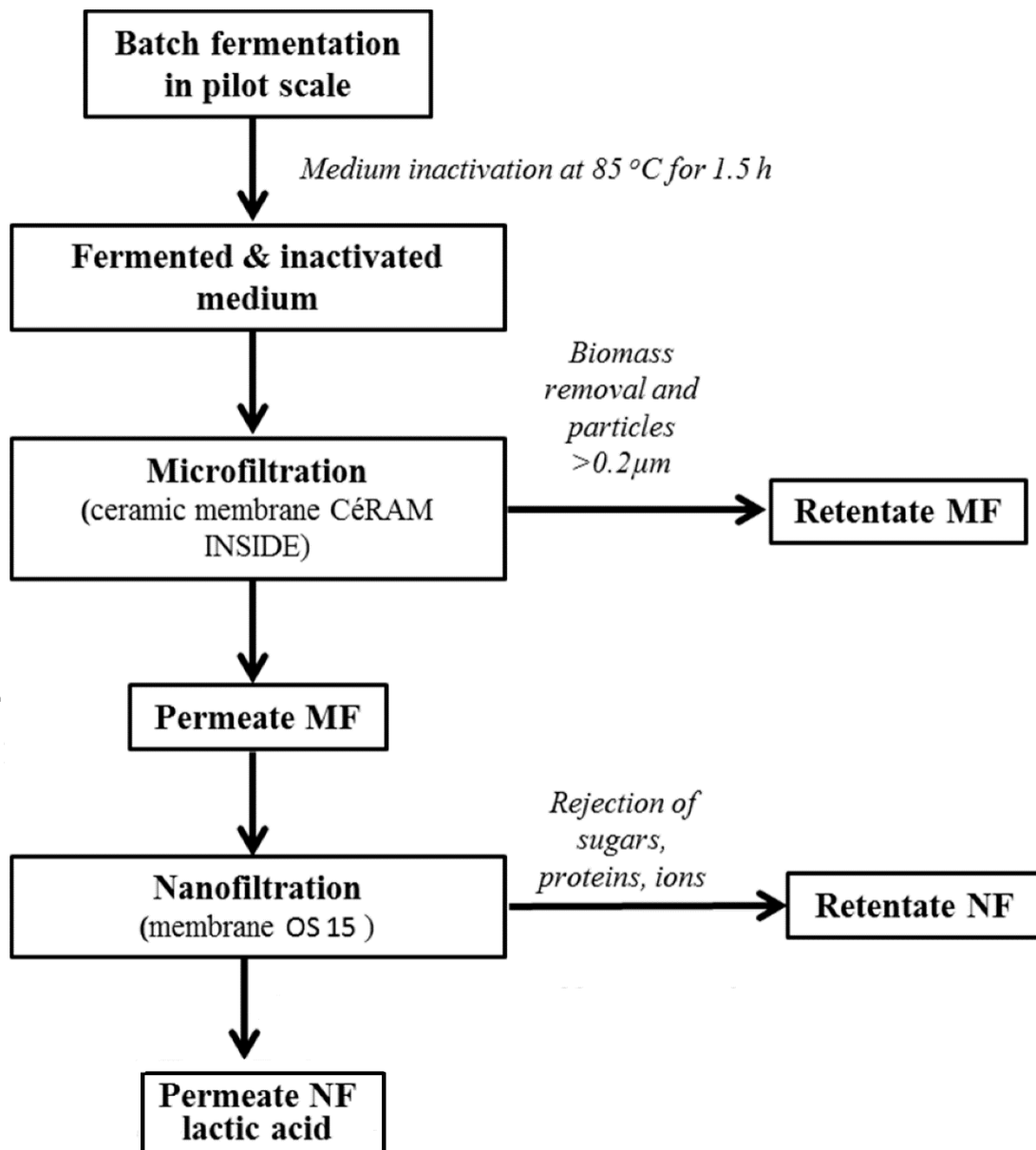
Étalon	Essai
Dans un <i>vial</i>, introduire : - 250 μL d'un mélange de D-lactate et L-lactate à 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ chacun. - 250 μL de solution étalon interne de D-alanine à 200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Boucher et homogénéiser.	Dans un <i>vial</i>, introduire : - 250 μL de milieu de culture à étudier dilué au 1/10^{ème}. - 250 μL de solution étalon interne de D-alanine à 200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Boucher et homogénéiser.

5C : résultats et calculs

	Étalon		Essai	
Chromatogramme obtenu				
Résultats	Temps de rétention	Aire en $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$	Temps de rétention	Aire en $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$
	9,12 min	1450877	9,09 min	1548707
	21,87 min	1330323	11,16 min	872642
	28,82 min	1292160	18,74 min	11486
			28,85 min	1814791
			36,34 min	2350128

Calcul de la concentration en quantité de matière en D-lactate :

$$c_{(\text{D-lactate}; \text{sol})} = \frac{c_{(\text{D-lactate}; \text{étalon})} \times R_{\text{essai}}}{R_{\text{étalon}}} \times FD \quad \text{avec} \quad R = \frac{\text{Aire}_{\text{D-lactate}}}{\text{Aire}_{\text{étalon interne}}}$$

Document 6 : méthode de purification de l'acide lactique par microfiltration et nanofiltration

Alexandri M, Schneider R, Venus J. Membrane Technologies for Lactic Acid Separation from Fermentation Broths Derived from Renewable Resources. *Membranes (Basel)*. 2018 Oct 12;8(4):94. doi: 10.3390/membranes8040094. PMID: 30322044; PMCID: PMC6315696.

Sujet de microbiologie et technologies d'analyse 2023

Recherche de *Listeria monocytogenes* en industrie alimentaire et essais de bioprotection

Le site gouvernemental des alertes des produits dangereux « Rappel conso » a publié le vendredi 25 juin 2021 un rappel concernant un beurre cru fermier de la marque « F » pour « présence de *Listeria monocytogenes* » (Source : <https://rappel.conso.gouv.fr/>).

L'entreprise a alors mis en place une série d'autocontrôles au niveau des points critiques du procédé de fabrication du beurre afin de retrouver l'origine potentielle de la contamination.

L'entreprise envisage également de modifier son protocole de décontamination des surfaces et d'évaluer la capacité de multiplication de *Listeria monocytogenes* dans le beurre, dans les conditions de conservation préconisées.

1. Contrôles microbiologiques dans l'entreprise

Le règlement 2073/2005 de la commission européenne du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires définit différents types de critères, et détaille en annexe ces critères pour les différents aliments et les différents microorganismes. Deux extraits de ce règlement sont présentés dans le **document 1**.

Q1. Expliquer le fait que *Listeria monocytogenes* soit classée dans les critères de sécurité plutôt que dans les critères d'hygiène du procédé.

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour rechercher *Listeria monocytogenes* dans un produit agroalimentaire : la méthode de référence et les méthodes alternatives.

Q2. Expliquer l'intérêt de l'utilisation de méthodes alternatives.

Le **document 2** présente le protocole de recherche de *Listeria monocytogenes* dans les aliments selon la méthode de référence.

Q3. Expliquer l'intérêt de la première étape de la méthode de référence.

Le **document 3** présente la composition de la gélose ALOA (O&A) utilisée dans la méthode de référence.

Q4. Dédire de sa composition les caractéristiques de la gélose ALOA en argumentant la réponse.

Q5. Expliquer l'intérêt de la présence d'extrait de levure en complément des digestats dans ce milieu.

Le **document 4** présente le test LUMIPROBE 24, méthode alternative de détection de *Listeria monocytogenes* dans différentes matrices alimentaires.

Q6. Schématiser l'édifice obtenu à l'échelle moléculaire dans le cas d'un résultat positif avec la méthode alternative LUMIPROBE 24.

Q7. Montrer les avantages de la méthode alternative LUMIPROBE 24 par rapport à la méthode de référence.

2. Mise en place d'un nouveau protocole de décontamination des surfaces

L'entreprise souhaite remplacer le produit désinfectant à base d'ammoniums quaternaires (QUATAL®) par des bactériophages. L'utilisation de phages spécifiques de *Listeria monocytogenes* est expérimentée pour réduire les populations de *Listeria monocytogenes* présentes sous forme de biofilm sur les surfaces de polypropylène (PP) et d'acier inoxydable (SS) utilisées dans les étapes de préparation du beurre.

Les suspensions de phages utilisées doivent être ajustées à $3,5 \cdot 10^8$ UFP·mL⁻¹.

Le **document 5** présente un protocole de détermination du titre de deux suspensions de phages H387 et les résultats obtenus.

Q8. Calculer le titre des deux suspensions de phages H387 et choisir celle utilisée pour réaliser les tests de décontamination des surfaces.

Le **document 6** présente le protocole et les résultats des tests de décontamination des surfaces contaminées par une souche de *Listeria monocytogenes* en présence ou en absence de phages.

Q9. Analyser les résultats obtenus pour évaluer l'efficacité de la décontamination dans les différents cas étudiés.

Le **document 7** présente le protocole et les résultats des tests de décontamination des surfaces contaminées par *Listeria monocytogenes* en absence et en présence de QUATAL® (ppm) à la concentration utilisée par l'entreprise.

Q10. Analyser les résultats obtenus.

Q11. Argumenter le choix fait par l'entreprise d'utiliser les phages pour décontaminer les surfaces utilisées lors de la fabrication du beurre.

Malgré ces résultats, les entreprises de production alimentaire n'utilisent pas massivement cette méthode de décontamination de surface.

Q12. Proposer des éléments d'explication limitant l'usage des bactériophages.

3. Réalisation de test de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre cru fermier

Des tests de croissance selon la norme NF EN ISO 20976-1:2019 sont réalisés par l'entreprise de fabrication de beurre afin d'évaluer la capacité de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre.

Le **document 8** présente les tests de croissance réalisés.

Q13. Calculer le potentiel de croissance (Δ) pour les trois lots étudiés et conclure.

Le **document 9** décrit les caractéristiques morphologiques et culturelles de *Listeria monocytogenes*.

Q14. Dédire, à partir de ses caractéristiques culturelles, les termes adaptés pour qualifier *Listeria monocytogenes*.

Q15. Expliquer le développement de *Listeria monocytogenes* dans le beurre cru fermier de l'entreprise sachant qu'il présente les caractéristiques physicochimiques suivantes : $A_w = 0,91$ et un $pH = 6,5$.

4. Réalisation d'un test de croissance de *Listeria monocytogenes* pour optimiser les conditions de conservation du beurre cru fermier

Les critères microbiologiques imposent au fabricant l'absence de *Listeria monocytogenes* dans 25 g de beurre en fin de production, et une limite microbiologique de 100 UFC par gramme de beurre pendant la durée de conservation. Un test est réalisé pour suivre l'évolution dans le beurre de *Listeria monocytogenes* inoculée de manière volontaire et contrôlée afin de vérifier les conditions de conservation du beurre (durée de 50 jours et une température de 4 °C). Le **document 10** présente le protocole et les résultats de ce test.

Q16. Identifier les différentes phases de la croissance et déterminer la durée de chacune.

Q17. Sachant que $\log_{10} 2 = 0,3$, estimer graphiquement le temps de génération et en déduire la vitesse spécifique de croissance pendant la phase exponentielle. Présenter la méthode et le calcul utilisés.

Q18. Analyser les résultats obtenus pour proposer une adaptation éventuelle des conditions de conservation du beurre cru fermier produit par l'entreprise.

Document 1 : extraits du règlement 2073/2005 de la commission européenne concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

Extrait 1 : article 2

Article 2

Définitions

- a) «micro-organismes» les bactéries, les virus, les levures, les moisissures, les algues, les protozoaires parasites, les helminthes parasites microscopiques, ainsi que leurs toxines et métabolites ;
- b) «critère microbiologique» un critère définissant l'acceptabilité d'un produit, d'un lot de denrées alimentaires ou d'un procédé, sur la base de l'absence, de la présence ou du nombre de micro-organismes, et/ou de la quantité de leurs toxines/métabolites, par unité(s) de masse, volume, surface ou lot ;
- c) «critère de sécurité des denrées alimentaires» un critère définissant l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot de denrées alimentaires, applicable aux produits mis sur le marché ;
- d) «critère d'hygiène du procédé» un critère indiquant l'acceptabilité du fonctionnement du procédé de production. Un tel critère n'est pas applicable aux produits mis sur le marché. Il fixe une valeur indicative de contamination dont le dépassement exige des mesures correctives destinées à maintenir l'hygiène du procédé conformément à la législation sur les denrées alimentaires ;

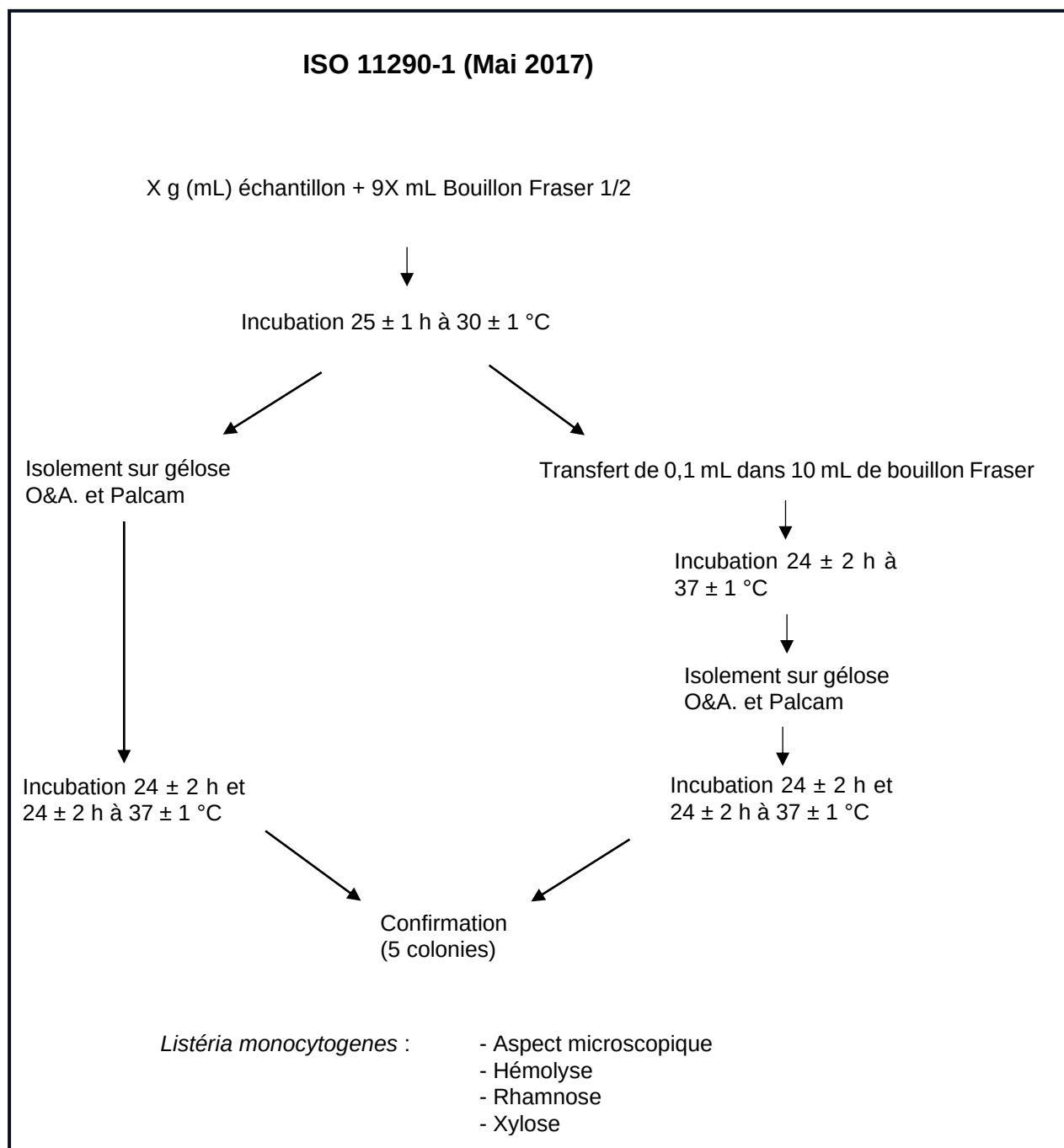
Extrait 2 : début de l'annexe 2

Chapitre 1 Critères de sécurité des denrées alimentaires

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes / toxines, métabolites	Plan d'échantillonnage ⁽¹⁾		Limites ⁽²⁾		Méthode d'analyse de référence ⁽³⁾
				m	M	
Denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées aux nourrissons et denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées à des fins médicales spéciales ⁽⁴⁾	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 11290-1
► C4 Denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales ◀	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g ⁽⁵⁾		EN/ISO 11290-2 ⁽⁶⁾
		5	0	Absence dans 25 g ⁽⁷⁾		EN/ISO 11290-1
► C4 Denrées alimentaires prêtes à être consommées ne permettant pas le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales ◀ ⁽⁴⁾ ⁽⁸⁾	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g ⁽⁵⁾		EN/ISO 11290-2 ⁽⁶⁾

Source : RÈGLEMENT (CE) N o 2073/2005 DE LA COMMISSION du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE) ; JO L 338 du 22.12.2005, p. 1.

Document 2 : protocole général de la méthode de référence de recherche de *Listeria monocytogenes*



Source : Source : extrait de la norme EN ISO 11290-1 : 2017 – Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 1 : Méthode de recherche.

Document 3 : composition de la gélose ALOA (O&A)

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales. Pour 1 litre de milieu :

CONSTITUANTS	QUANTITÉS
Digestat enzymatique de tissu animal	18 g
Digestat enzymatique de caséine	6 g
Extrait de levure	10 g
Glucose	2 g
Pyruvate de sodium	2 g
Glycérophosphate de magnésium	1 g
Sulfate de magnésium	0,5 g
Chlorure de lithium	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Hydrogénophosphate disodique anhydre	2,5 g
X-glucoside (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl α -D-glucopyranoside)	0,05 g
Acide nalidixique	0,02 g
Ceftazidime	0,02 g
Polymixine B	76700 U
Amphotéricine B	0,01 g
Phosphatidylinositol	2 g
Agar agar bactériologique	13,5 g
Eau	qsp 1 L
pH du milieu $7,2 \pm 0,2$	

Les colonies caractéristiques de *Listeria monocytogenes* sont de couleur bleu vert entourées d'un halo opaque.

Source : fiche technique Biomérieux.

Document 4 : présentation générale de la méthode alternative LUMIPROBE 24 de recherche de *Listeria monocytogenes* en microplaque

Le test LUMIPROBE 24 *Listeria monocytogenes* est basé sur une réaction d'hybridation de sondes nucléiques en phase solide. L'ARN ribosomal de la bactérie cible est libéré par lyse cellulaire et capturé par un oligonucléotide spécifique fixé sur un support inerte (tube ou puits de microplaque). L'ARN ribosomal ainsi capturé est hybridé avec un deuxième oligonucléotide marqué qui permettra la révélation par une réaction de chimiluminescence.

ÉTAPE 1 : ENRICHISSEMENT

25 g (mL) d'échantillon + 225 mL de bouillon RM préchauffé.

Incubation (37 ± 1) °C de (26 ± 4) heures.

ÉTAPE 2 : LYSE CELLULAIRE

Transfert de 40 μ L du bouillon RM incubé dans 40 μ L de tampon de lyse.

Incubation (37 ± 1) °C de 15 minutes sous agitation (500 tr/min).

ÉTAPE 3 : HYBRIDATION

Ajouter 90 μ L de tampon d'hybridation et incubé 45 minutes à (50 ± 1) °C.

Rincer 2 fois puis laver 2 fois avec le tampon de lavage.

ÉTAPE 4 : RÉACTION AVEC LE CONJUGUÉ

Ajouter 100 μ L de solution de conjugué et incubé 15 minutes à (37 ± 1) °C sous agitation (500 tr/min).

Laver 4 fois avec le tampon de lavage.

ÉTAPE 5 : AJOUT DU SUBSTRAT

Ajouter 100 μ L de substrat et incubé 15 minutes à température ambiante à l'obscurité.

Lire les résultats au moyen d'un luminomètre.

Source : étude de validation Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* pour la détection de *Listeria monocytogenes*, <https://nf-validation.afnor.org/> (en ligne) consulté le 12 10 2022.

Suite du document 4 : présentation générale de la méthode alternative LUMIPROBE 24 de recherche de *Listeria monocytogenes* en microplaque

Extrait de la documentation commerciale

Using rRNA provides a specific and sensitive molecular biology method for the detection of pathogenic bacteria in food and environmental samples.

After only 22 hours enrichment of the sample in RM medium, *LUMIPROBE 24* is an easy to run method, suitable for food industry laboratories as the microplate version requires only 4 pipetting steps. Additionally, automation frees 2 hours of technician time and brings reliability to all the steps.

LUMIPROBE 24 method, with the luminometer, is a fast and easy in-house method for food industry laboratories to confirm the absence of pathogenic bacteria in their products, with a working time reduced to 20 minutes for 96 samples.

Source : Europrobe : 24 h *Listeria* and *Salmonella* Detection in food matrices using rRNA based *LUMIPROBE 24*.

Document 5 : dénombrement des phages H387 dans deux suspensions par la méthode des plages de lyse

1- Préparation des dilutions des suspensions de phages

Préparer une série de dilutions décimales des suspensions phagiques jusqu'à 10^{-11} sous un volume final de 1 mL. Le diluant utilisé est l'eau physiologique.

2- Dénombrement des plages de lyse par la technique des spots ou microgouttes

- Couler 60 mL de gélose Mueller Hinton dans deux boîtes de Petri. Laisser solidifier.
- Mélanger 0,4 mL de *Listeria monocytogenes* à 12 mL de Top Agar (milieu Mueller Hinton semi-gélosé en surfusion à 50 °C).
- Couler le mélange sur les géloses. Laisser solidifier.
- Dans chaque boîte, déposer 10 µL de chaque dilution de phages (de 10^{-5} à 10^{-11}) à la surface du milieu, en réalisant des spots bien séparés. Doubler chaque essai.
- Incuber 18 à 24 heures à 37 °C.
- Dénombrer les plages de lyse.

3- Résultats obtenus dans les suspensions 1 et 2 de phages H387 après incubation

	Suspension 1		Suspension 2	
Dilution de la suspension de phage H387	10^{-5}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-7}
Plages de lyse (Résultats des 2 essais)	36 34	4 3	33 37	3 4

4- Exploitation des résultats expérimentaux

Retenir les valeurs de 2 dilutions successives présentant :

- au moins 1 boîte ayant au minimum 1 plage de lyse ;
- et un nombre de plages de lyse inférieur à 100 par boîte.

Calculer le titre de la suspension phagique en utilisant la formule suivante :

$$N = \frac{\sum PL}{V \cdot (n1 + 0,1 \cdot n2) \cdot d}$$

N : Titre de la suspension phagique en UFP par millilitre.

$\sum PL$: Somme des plages de lyse (PL) dénombrées sur toutes les boîtes retenues des 2 dilutions successives.

V : Volume de l'inoculum déposé sur chaque boîte en mL.

$n1$: Nombre de boîtes retenues à la dilution la plus faible.

$n2$: Nombre de boîtes retenues à la dilution suivante.

d : Dilution correspondant à la dilution la plus faible retenue.

DOCUMENT 6 : protocole et résultats de tests réalisés sur des surfaces contaminées par *Listeria monocytogenes* en présence ou absence de phages

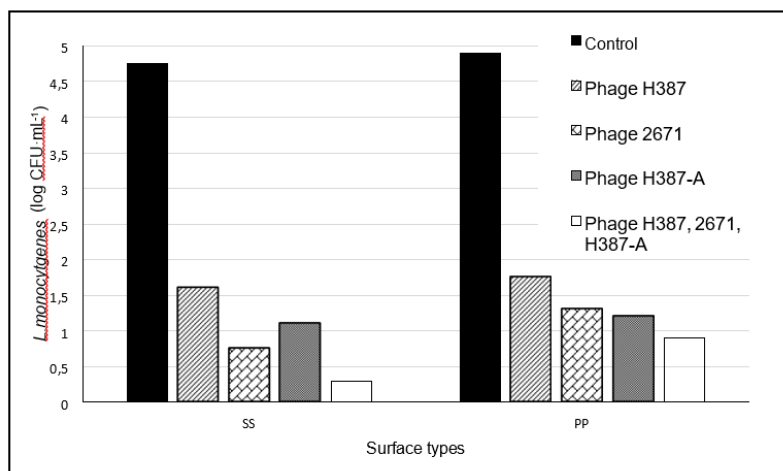
Protocole

The cylinders were contaminated by immersion for 60 min at 26 °C into fresh cultures of *L. monocytogenes* ($3 \cdot 10^8$ CFU·mL⁻¹). The cylinders were transferred into 5 mL each of the following decontaminating solutions:

(i) pure suspensions of each phage, (ii) a mixture of equal quantities of the three phages. After a decontamination period of 1 h, recovered cells were enumerated by plating on TSY agar.

Résultats

Recovery of adhering *L. monocytogenes* cells from contaminated SS and PP surfaces after exposure for 1h to listeriophages ($3,5 \cdot 10^8$ PFU·mL⁻¹).



Légendes :

SS = surfaces en acier inoxydable

PP = surfaces en polypropylène

Source : ROY Brigitte, *Bactériophages de Listeria : formulation d'un bio-assainisseur et production par immobilisation cellulaire*, Thèse, université de Laval, 2018 (en ligne) <https://corpus.ulaval.ca/> consulté le 12 10 2022.

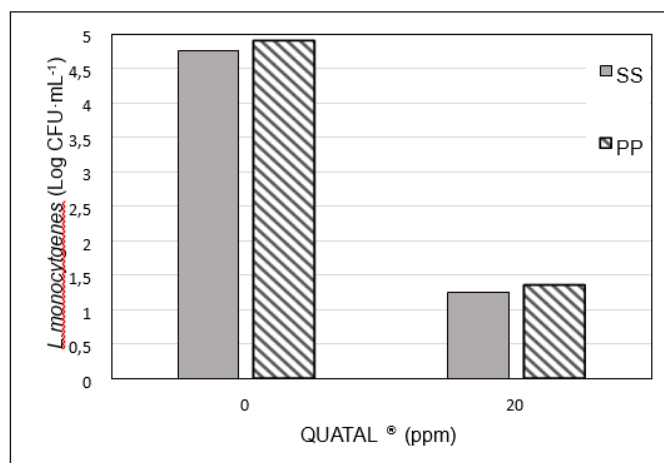
Document 7 : tests de décontamination de surface par le QUATAL®

Protocole

The cylinders were contaminated by immersion for 60 min at 26 °C into fresh cultures of *L. monocytogenes* ($3 \cdot 10^8$ CFU·mL⁻¹). The cylinders were transferred into 5 mL of 20 ppm solution of QUATAL®. After a decontamination period of 1 h, recovered cells were enumerated by plating on TSY agar.

Résultats

Recovery of *L. monocytogenes* from contaminated SS and PP surfaces after exposure for 1 h to 20 ppm of QUATAL®.



Légendes :

SS = surfaces en acier inoxydable

PP = surfaces en polypropylène

ppm = partie par million

Source : ROY Brigitte, *Bactériophages de Listeria : formulation d'un bio-assainisseur et production par immobilisation cellulaire*, Thèse, université de Laval, 2018 (en ligne) <https://corpus.ulaval.ca/> consulté le 12 10 2022.

Document 8 : tests de croissance pour étudier le potentiel de croissance (d'après la norme NF EN ISO 20976-1 - Avril 2019 Microbiologie de la chaîne alimentaire)

Objectif du test : évaluer la capacité de l'aliment à permettre la croissance de la population microbienne cible.

Critère décisionnel : l'aliment permet la croissance si un potentiel de croissance supérieur à $0,5 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ est observé.

Protocole

Trois lots ont été inoculés simultanément avec une souche de *Listeria monocytogenes*. Cinq points d'échantillonnage ont été réalisés (incluant t_0 et t_{final}) dans les conditions de conservation (association du temps et de la température) reproduisant les conditions de distribution, d'entreposage et d'utilisation raisonnablement prévisibles (incluant des conditions de temps et de température abusives) auxquelles l'aliment pourrait être soumis entre sa fabrication et sa consommation finale.

Résultats du test de quantification du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre

Niveau d'inoculation ciblé : $2 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$

	$\log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$				
	Temps 0	T 5 jours	T 10 jours	T 15 jours	T 20 jours
Lot 1	2,00	3,98	4,28	4,23	4,18
Lot 2	1,70	3,90	4,28	4,71	4,60
Lot 3	2,18	4,00	4,36	4,51	5,00
Écart-type	0,20				

Validation

Le test de croissance est rejeté si au temps 0 (t_0) l'écart-type (dû à l'incertitude de mesure et à l'hétérogénéité du taux de contamination) est supérieur à la limite de $0,3 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$.

Exploitation

Le potentiel de croissance Δ doit être calculé pour chaque lot, c'est la différence entre le logarithme décimal de la concentration la plus élevée de la population microbienne cible ($\log_{\text{max}}$) et le logarithme décimal de la concentration initiale de cette population microbienne ($\log_i$).

$$\Delta = \log_{\text{max}} - \log_i$$

DOCUMENT 9 : caractéristiques de *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes est un bacille à Gram positif, non sporulé. La croissance de *L. monocytogenes* est possible entre $-1,5$ et 45°C , avec une plage optimale de $30-37^\circ\text{C}$.

Du fait de sa croissance possible aux environs de 0°C , *L. monocytogenes* peut se développer lentement dans des aliments réfrigérés. *L. monocytogenes* se développe dans une large amplitude de pH, de $4,0$ à $9,6$ avec un optimal à pH 7 .

Comme la plupart des espèces bactériennes, *L. monocytogenes* se développe de façon optimale à une activité de l'eau (A_w) de $0,97$. Cependant, *L. monocytogenes* peut également se multiplier à une A_w de $0,90$ et survivre de façon prolongée à une A_w de $0,81$.

L. monocytogenes est modérément tolérante au sel et se développe à une concentration maximale de $13-14\%$ en chlorure de sodium.

Document 10 : tests de croissance pour estimation des paramètres cinétiques de la croissance

Objectif du test : évaluer, déterminer et optimiser les conditions de conservation microbiologique (qualité et sécurité) de l'aliment.

Protocole

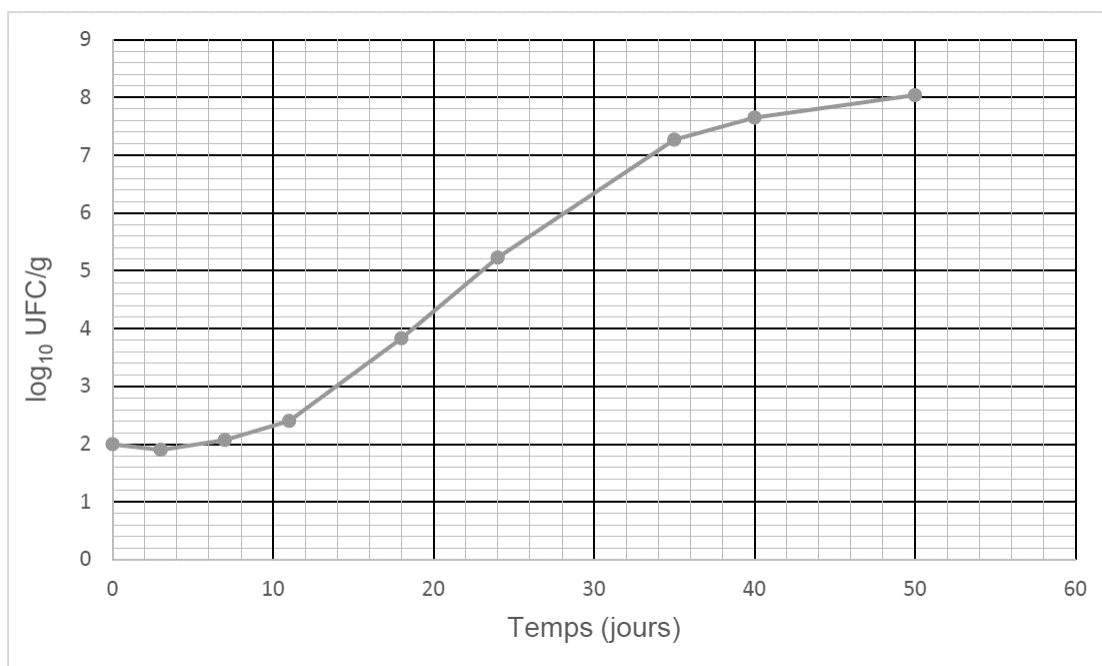
Le test de croissance est réalisé sur du beurre inoculé avec une souche de *Listeria monocytogenes*. Les dénombrements sont réalisés à 0, 3, 7, 11, 18, 24, 35, 40 et 50 jours après inoculation de la population microbienne pour une température à 4 °C.

Résultats du test de croissance

Les points expérimentaux sont fournis dans le tableau ci-dessous. La cinétique de croissance microbienne obtenue est présentée dans la figure 1.

Temps (jours)	$\log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$
0	2
3	1,9
7	2,07
11	2,4
18	3,83
24	5,23
35	7,27
40	7,65
50	8,04

Figure 1 : cinétique de croissance microbienne de *Listeria monocytogenes*



Source : norme NF EN ISO 20976-1 - Avril 2019 Microbiologie de la chaîne alimentaire.

Sujet de biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse 2023

Intérêt de la production bio-industrielle de β -carotène

Le β -carotène, pigment de couleur rouge-orangé, se trouve naturellement dans de nombreux fruits et légumes. Il est utilisé par les bio-industries comme colorant pour la fabrication de divers produits alimentaires, de médicaments et de produits cosmétiques. Par ailleurs, le β -carotène présente de nombreux avantages pour la santé grâce à ses activités anti-inflammatoire et anticancéreuse.

Afin de répondre aux besoins croissants des bio-industries, les entreprises de biotechnologie s'intéressent à une autre ressource naturelle de β -carotène, les microalgues.

1. Amélioration de la production naturelle de β -carotène chez *Dunaliella salina*

Un laboratoire de recherche tente d'améliorer la production de β -carotène par la microalgue *Dunaliella salina* en inactivant le gène de la β -carotène hydroxylase.

Pour cela, il s'appuie sur le système CRISPR-Cas9 parfois appelé « ciseaux moléculaires ».

1.1. Système CRISPR-Cas9

Le **document 1** présente le système CRISPR-Cas9.

Q1. Déterminer le rôle de l'ARN guide (ARNg).

Q2. Après avoir rappelé le mode d'action des enzymes de restriction, expliquer pourquoi le système CRISPR-Cas9 est plus adapté que ces enzymes pour réaliser des coupures d'ADN cible.

1.2. Création de plasmides recombinants

Trois plasmides recombinants ont été créés afin d'importer le système CRISPR-Cas9 dans la microalgue, *Dunaliella salina*.

Le **document 2** présente la composition des plasmides recombinants et de leur cible.

Q3. Repérer dans la carte du plasmide les éléments caractéristiques d'un vecteur d'expression.

Q4. Identifier les séquences exprimées du système CRISPR-Cas9.

Q5. Expliquer pourquoi chaque ARN guide est choisi pour cibler un exon et pas un intron.

1.3. Test *in vitro* du clivage du complexe ARNg-Cas9 sur l'ADN de *Dunaliella salina*

Le **document 3** présente le protocole et les résultats du test de clivage pour chaque complexe ARNg-Cas9.

Q6. Identifier les pistes d'électrophorèse correspondant à des contrôles et valider la manipulation.

Q7. Analyser l'ensemble des résultats obtenus pour chaque ARN guide et conclure sur l'efficacité *in vitro* de chaque ARN guide pour cibler le gène de la β -carotène hydroxylase.

1.4. Analyse de la production de β -carotène des mutants sélectionnés

Trois mutants ont été sélectionnés suite à la transfection de *Dunaliella salina* par les trois plasmides recombinants.

Le **document 4** présente les résultats d'analyse de la production de β -carotène.

Q8. Analyser l'ensemble des résultats obtenus et conclure sur l'efficacité des souches mutées par rapport à la souche sauvage de *D. salina*.

2. Exemple d'utilisation du β -carotène dans l'industrie pharmaceutique

Le cancer du foie est la 3^{ème} cause de mortalité par cancer. Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est le cancer primitif du foie le plus courant. Comme il est difficile à détecter dans ses premiers stades, développer des stratégies de prévention pour en diminuer l'incidence est nécessaire. Pour cela, des substances actives présentant un effet cytotoxique ciblé sur les cellules cancéreuses sont recherchées.

Des essais *in vitro* de mesure de l'effet toxique du β -carotène isolé et purifié à partir de microalgues sont réalisés sur des cellules cancéreuses HepG2.

La lignée cellulaire HepG2 (Human Hepatocellular carcinoma) a été choisie comme modèle cellulaire car elle est issue d'un hépatocarcinome d'origine humaine. Ces cellules sont cultivées selon les conditions présentées dans le **document 5**.

Q9. Présenter les rôles des trois composants en gras dans le document 5.

Le **document 6** présente le protocole et les résultats des analyses de l'effet du β -carotène sur les cellules cancéreuses en culture :

- Les cellules HepG2 sont traitées avec différentes concentrations en β -carotène (0, 1, 5, 10 et 15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) puis :

- A.** la viabilité des cellules est mesurée par le test de coloration au MTT ;

- B.** la morphologie des cellules est observée au microscope optique.

Q10. Déterminer la composition qualitative du puits de contrôle de culture cellulaire.

Q11. Indiquer le rôle de ce contrôle.

Q12. Analyser l'ensemble des résultats obtenus avec le test de coloration au MTT et l'observation de la morphologie cellulaire puis conclure sur l'effet cytotoxique du β -carotène sur les cellules HepG2.

À partir des effets observés précédemment, des expériences sont menées pour tester l'hypothèse que le β -carotène induit l'apoptose des cellules HepG2.

Q13. Décrire deux principales modifications morphologiques d'une cellule en apoptose.

Le niveau d'expression de deux protéines régulatrices de la voie intrinsèque apoptotique est mesuré par western blot. Les protéines Bax et Bcl-2 sont sélectionnées pour l'étude.

Bax est une protéine pro-apoptotique et Bcl-2 est une protéine anti-apoptotique.

Le **document 7** présente les résultats de l'influence du β -carotène sur l'expression de ces deux protéines régulatrices ainsi que sur l'intensité d'apoptose des cellules HepG2.

Q14. Analyser les résultats obtenus pour montrer l'influence du β -carotène et formuler une hypothèse sur le mécanisme mis en jeu.

Q15. Récapituler l'ensemble des résultats de l'étude de la partie 2 pour conclure sur l'efficacité éventuelle du β -carotène sur le cancer du foie (CHC).

Document 1 : présentation du système CRISPR-Cas 9

Le système CRISPR-Cas9 a été découvert par deux chercheuses, Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna, distinguées par un prix Nobel en 2020. Il dérive du système de défense de bactéries qui leur permet de se protéger des bactériophages. Il a été modifié afin d'en faire des « ciseaux moléculaires » : ces ciseaux vont hydrolyser l'ADN à des endroits précis pour inactiver, modifier ou ajouter des gènes afin de concevoir des organismes mutants.

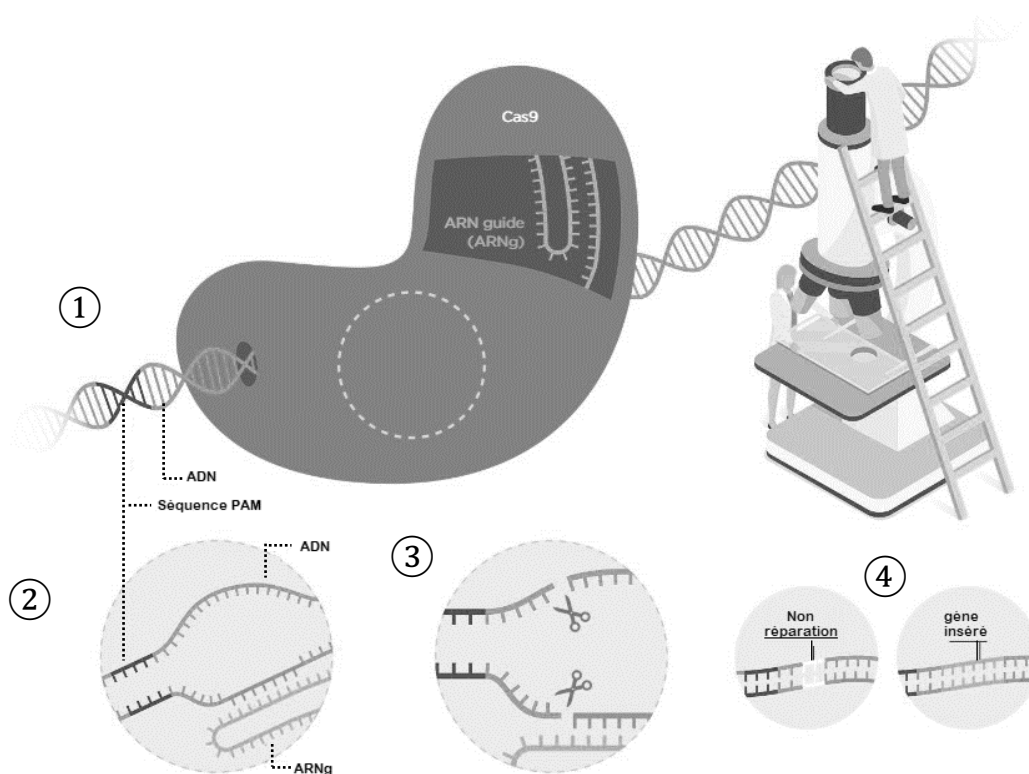
Pour fonctionner, le système CRISPR-Cas9 a besoin de deux molécules clés :

- une endonucléase, appelée Cas9 (*CRISPR associated protein 9*),
- un ARN guide, appelé ARNg (en anglais gRNA ou sgRNA = *single guide RNA*) obtenu par transcription de la séquence CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Regions*). Il comprend une séquence d'une vingtaine de nucléotides complémentaires à une portion d'un gène.

Les gènes permettant d'obtenir ces deux molécules sont insérés dans des vecteurs plasmidiques d'expression qui sont ensuite intégrés dans la cellule à transformer. Le complexe ARNg-Cas9 parcourt l'ADN ①. Il s'arrête au niveau d'une séquence PAM (*Protospacer Adjacent Motif* : 5'-NGG-3'). La protéine Cas9 déroule l'ADN en aval de PAM, puis le système vérifie que l'ADN est bien complémentaire à l'ARN guide ② :

- Si ce n'est pas le cas, le système continue à parcourir l'ADN.
- S'il y a complémentarité, Cas9 hydrolyse simultanément les deux brins d'ADN cible avant PAM ③.

La cassure de l'ADN cible peut être réparée mais avec l'introduction de mutation ce qui provoque l'inactivation du gène ou bien l'ajout d'un gène à l'endroit de la cassure ④.

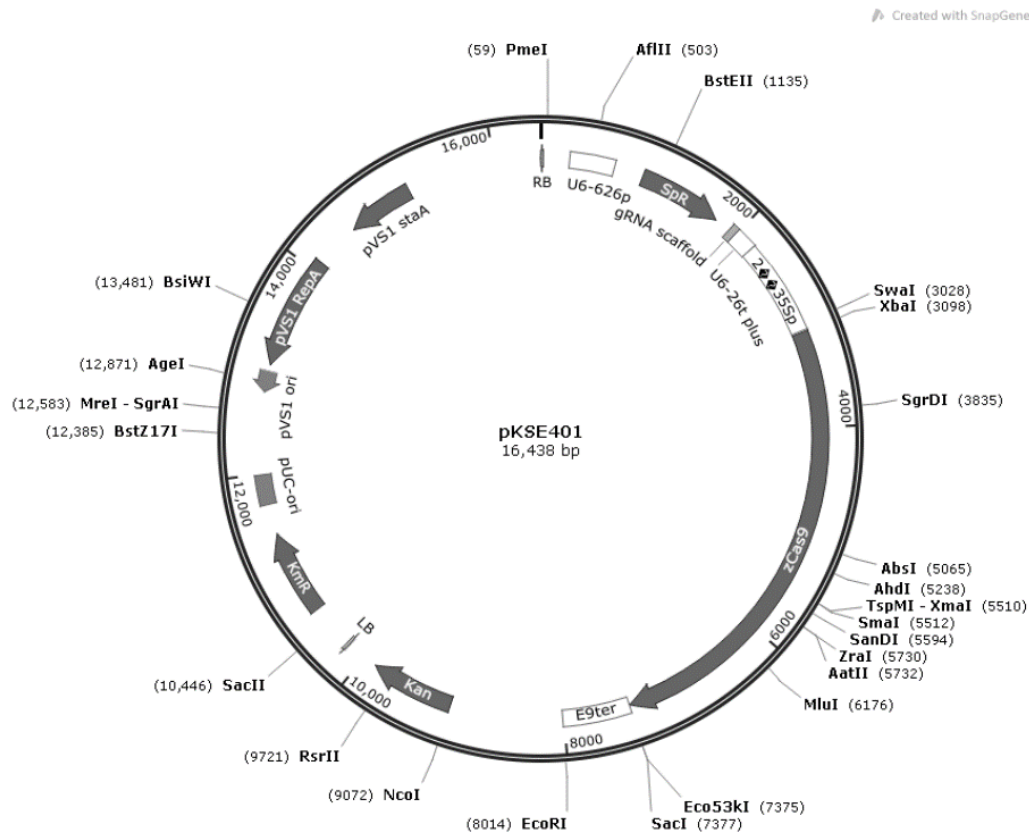


Source : Infographie « santé 2030 » provenant du site www.leem.org (Les entreprises du médicament).

Document 2 : composition des plasmides recombinants et de leur cible

Les plasmides recombinants ont été créés à partir du plasmide pKSE401.

2-A Carte du plasmide pKSE401



pVS1 ori : origine de réplication chez *Pseudomonas*

pUC-ori : origine de réplication chez *E. coli*

Kan : gène de résistance à la kanamycine

KmR : gène de résistance à la kanamycine et à la néomycine

SpR : gène de résistance à la spectinomycine et à la streptomycine

U6-626p, U6-26t : promoteurs eucaryotes

E9ter : séquence de terminaison de transcription

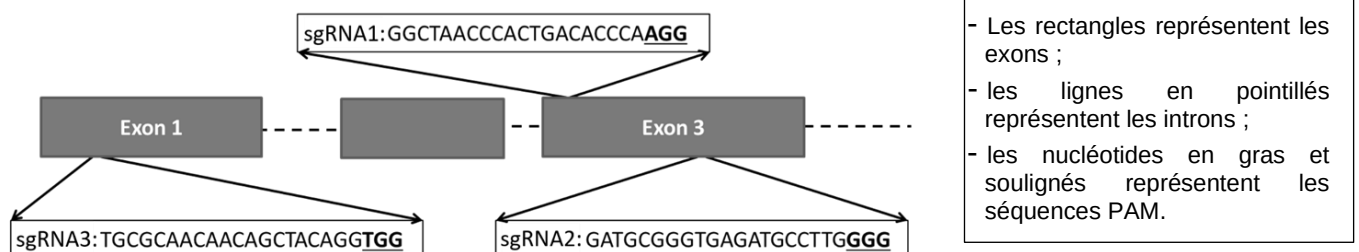
gRNA scaffold : architecture pour l'ARN guide

zCas9 : gène codant l'endonuclease Cas9

Source : Addgene plasmid # 62202 ; <http://n2t.net/addgene:62202>.

Trois plasmides recombinants sont créés afin de produire trois ARNg différents.

2B Schéma représentant la cible des trois ARNg sur le génome de *D. salina*



- pKSE401-sgRNA1 produit un ARNg qui cible l'exon 3 de la β -carotène hydroxylase.
- pKSE401-sgRNA2 produit un ARNg qui cible l'exon 3 de la β -carotène hydroxylase.
- pKSE401-sgRNA3 produit un ARNg qui cible l'exon 1 de la β -carotène hydroxylase.

Adapté de Hu, Lina et al. "CRISPR/Cas9-induced β -carotene hydroxylase mutation in *Dunaliella salina* CCAP19/18." *AMB Express* vol. 11,1 83. 7 Jun. 2021.

Document 3 : test de clivage du système ARNg-Cas9

Protocole simplifié :

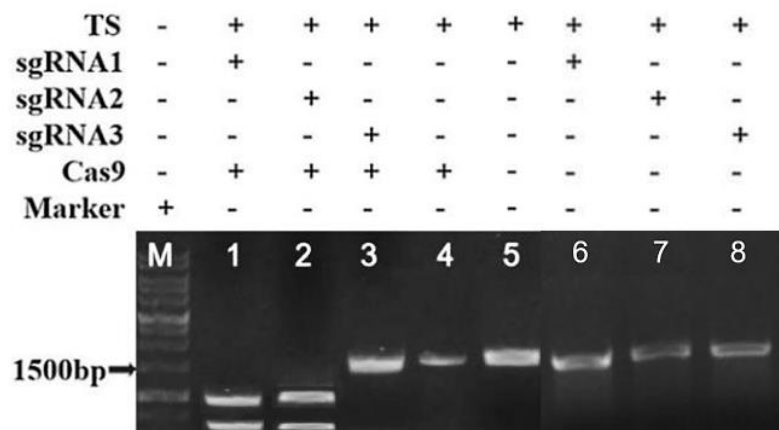
- Chaque ARNg est produit par transcription *in vitro* puis purifié.
- Une séquence de 1643 pb de l'ADN cible est amplifiée par PCR à partir du génome de *Dunaliella salina*.
- Le complexe ARNg-protéine Cas9 est pré-assemblé en tube stérile à 37 °C pendant 15 minutes.
- 400 ng de produit de PCR de l'ADN cible sont ajoutés au mélange ARNg-Cas9 ; l'ensemble est incubé pendant 1 heure à 37 °C.
- La réaction est arrêtée par chauffage à 65 °C pendant 10 minutes.
- Les fragments d'ADN sont analysés par électrophorèse en gel d'agarose à 1 %.

Tests de clivage de l'ADN cible pour chaque ARNg :

Composition des milieux réactionnels et gel d'électrophorèse obtenu.

+ : Présence du composant dans la réaction.

- : Absence du composant dans la réaction.



Légendes :

- TS : Produit PCR de l'ADN cible provenant du génome *D. salina* (Taille 1643 pb).
- sgRNA : ARNg (ARN guide).
- Cas9 : Protéine Cas 9 (endonucléase).

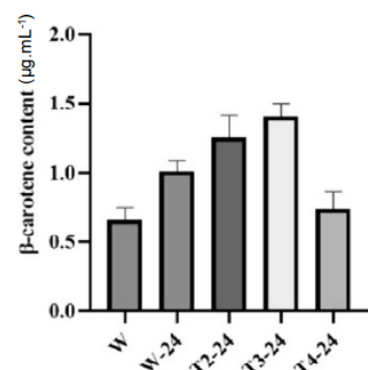
Source : Hu, Lina et al. "CRISPR/Cas9-induced β -carotene hydroxylase mutation in *Dunaliella salina* CCAP19/18." *AMB Express* vol. 11,1 83. 7 Jun. 2021.

Document 4 : résultats d'analyse de la production en β -carotène des mutants sélectionnés

Chaque souche, sauvage et mutée de *D. salina*, a été placée en condition de stress lumineux pendant 24 heures (condition de production optimale) avant de déterminer la teneur en β -carotène.

Légende :

- W = Souche sauvage de *D. salina*
- T2/T3/T4 = Souche mutante de *D. salina*
- 24 = 24 heures de traitement sous haute lumière



Source : Hu, Lina et al. "CRISPR/Cas9-induced β -carotene hydroxylase mutation in *Dunaliella salina* CCAP19/18." *AMB Express* vol. 11,1 83. 7 Jun. 2021.

Document 5 : conditions de culture des cellules HepG2

The cells were cultured in a Dulbecco's Modified Eagle medium (DMEM) supplemented with 10% **heat-inactivated fetal bovine serum** (FBS), **penicillin** (100 U·mL⁻¹) and **streptomycin** (100 µg·mL⁻¹) and non-essential amino acids.

Cells were cultured at 37 °C in a humidified atmosphere with 5 % CO₂.

The HepG2 cells at passages between 35 and 42 were used for the experiment.

Source : Kavalappa, et al. "β-carotene isolated from the marine red alga, *Gracillaria* sp. potently attenuates the growth of human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells" *Journal of Functional Foods*, vol. 52, Elsevier BV, Jan. 2019.

Document 6 : analyse de l'effet du β-carotène sur la viabilité et la morphologie des cellules HepG2

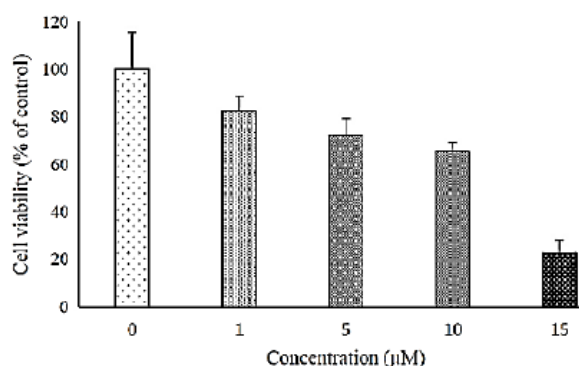
La prolifération des cellules HepG2 est évaluée par le test de coloration au MTT. Les cellules vivantes réduisent le sel de tétrazolium (MTT) de couleur jaune en cristaux de formazan de couleur violette. L'absorbance par puits est mesurée après dissolution de ces cristaux.

Protocole :

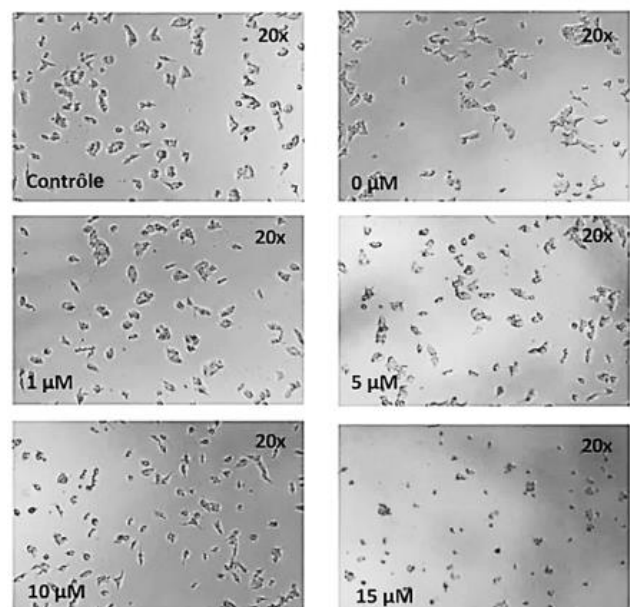
- Les cellules sontensemencées (100 µL/puits) dans une plaque à 96 puits à raison de 5.10⁴ cellules·mL⁻¹ pendant 24 heures.
- Le milieu est remplacé par un milieu frais sans sérum contenant du β-carotène à différentes concentrations en utilisant de l'éthanol (1% V/V) comme solvant puis la plaque est à nouveau incubée pendant 24 heures.
- 10 µL de réactif MTT sont ajoutés à chaque puits et la plaque est incubée à 37 °C pendant 3 heures.
- Les cristaux de formazan obtenus sont dissous avec 100 µL de DMSO sous agitation à 37°C pendant 30 minutes.
- L'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 570 nm à l'aide d'un lecteur de plaque.

Un contrôle cellulaire est réalisé en parallèle des cellules traitées.

Résultats :



A. Résultats du test MTT de la viabilité des cellules HepG2 traitées aux différentes concentrations : 0, 1, 5, 10 et 15 µM (= µmol·L⁻¹) de β-carotène pendant 24 h.



B. Observation au microscope de la morphologie des cellules HepG2 traitées avec différentes concentrations : 0, 1, 5, 10 et 15 µM (= µmol·L⁻¹) de β-carotène pendant 24 h.

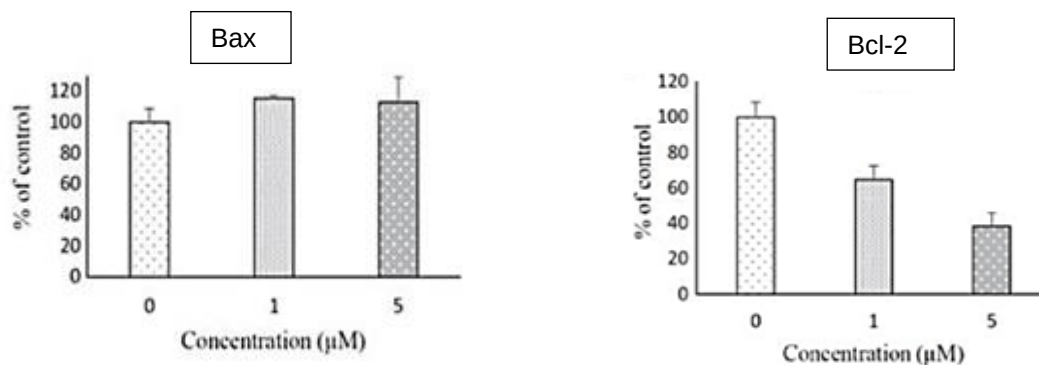
Source : Kavalappa, et al. "β-carotene isolated from the marine red alga, *Gracillaria* sp. potently attenuates the growth of human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells" *Journal of Functional Foods*, vol. 52, Elsevier BV, Jan. 2019.

Document 7 : effet du β -carotène sur l'expression des deux marqueurs d'apoptose et sur l'apoptose des cellules HepG2

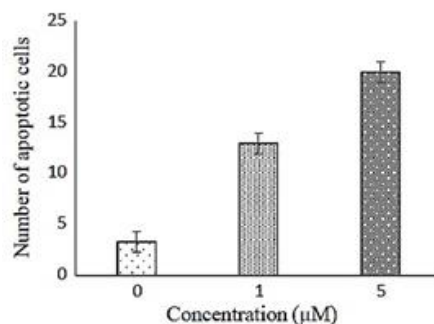
Les protéines des cellules HepG2 traitées avec le β -carotène (1 et 5 μM ($= \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)) ont été extraites et l'expression protéique de Bax et Bcl-2 est détectée par la technique du western blot. La β -actine correspond à une protéine de contrôle dont l'expression est constante dans tous les types cellulaires.



Résultats du western blot pour la protéine de contrôle et pour chaque protéine régulatrice à différentes concentrations en β -carotène (0, 1 et 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).



Expression de chaque protéine à différentes concentrations en β -carotène (0, 1 et 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) rapportée à l'expression du contrôle.



Influence du β -carotène à différentes concentrations (0, 1 et 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) sur le nombre de cellules apoptotiques.

Source : Kavalappa, et al. " β -carotene isolated from the marine red alga, *Gracillaria* sp. potently attenuates the growth of human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells" *Journal of Functional Foods*, vol. 52, Elsevier BV, Jan. 2019.

Sujet de sciences et technologies bioindustrielles 2023

Production d'un dessert végétal à base de jus d'avoine

Loca Bio Frais, entreprise de production de desserts lactés et de yaourts traditionnels certifiés bio veut développer une gamme de desserts végétaux bio sans ingrédient d'origine animale pour répondre aux nouvelles habitudes alimentaires (régimes végétaliens) ou pour des raisons médicales (intolérance au lactose, allergies aux protéines laitières, diabète, obésité). Ces desserts seront produits à partir de jus végétaux tels que le jus d'avoine. Cette nouvelle gamme de desserts végétaux permettra de valoriser des productions locales d'avoine bio à proximité de l'implantation de l'usine de production.

1. Comparaison entre un jus végétal et le lait

Dans l'union européenne l'expression « lait végétal » n'est pas autorisée. Les jus végétaux ont une composition différente du lait ce qui engendre des conséquences nutritionnelles et technologiques. Le **document 1** présente les compositions de produits laitiers et de produits à base d'avoine.

Q1. Comparer les apports en glucides, fibres et calcium du lait et de la boisson à base de jus d'avoine.

Q2. À l'aide du **document 2**, justifier la recommandation aux personnes diabétiques de consommer du jus d'avoine en remplacement du lait.

2. Fabrication du jus d'avoine

Le jus d'avoine est fabriqué en trempant et en mélangeant de l'avoine avec de l'eau.

Les différentes étapes de production de différents jus d'avoine sont présentées dans le **document 3**.

Le **document 4** présente le cycle de fonctionnement d'un mélangeur haut cisaillement à immersion comme celui utilisé à l'étape 2 du document 3.

Q3. Expliquer le rôle du mélangeur dans la solubilisation et la mise en suspension des constituants des grains d'avoine.

Q4. Expliciter l'importance des étapes 3 et 5 pour obtenir différents jus d'avoine, plus ou moins sucrés, plus ou moins riches en fibres.

L'étape de stérilisation est en général réalisée à ultra haute température. On choisit le microorganisme le plus thermorésistant dans ce type de produit *Candida pelliculosa* comme germe de référence. Ses paramètres de thermorésistance sont les suivants : $D_{60} = 3$ min et $z = 30$ °C. Le **document 5** présente la définition de ces paramètres.

Afin de préserver les qualités organoleptiques du jus et les caractéristiques biochimiques de certaines molécules, le service R&D propose une stérilisation à 90 °C pendant 1,8 minute.

Q5. En s'appuyant sur la signification de D_T et z , détailler la méthode de calcul de la durée du traitement thermique à 90 °C pour obtenir 6 réductions décimales de la population (6 log). Expliquer pourquoi ce nouveau barème de traitement thermique préserve les qualités du jus végétal.

Le jus végétal obtenu peut, plutôt qu'être stérilisé et vendu sous forme liquide en briques, être séché par processus d'atomisation afin d'être commercialisé sous forme de poudre (document 3 étape 10). Le schéma de l'appareil utilisé pour cela est présenté sur le **document 6**.

Q6. Identifier les différents éléments du procédé de séchage par atomisation repérés par des chiffres. Reporter sur la copie les chiffres avec les légendes correspondantes.

3. Processus de fabrication et qualité d'un dessert végétal

Les textures du dessert végétal et du yaourt traditionnel, ainsi que les ferments utilisés, sont similaires.

3.1. Fabrication d'un yaourt

Le yaourt est un produit obtenu par fermentation du lait par *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

Q7. Présenter les phénomènes microbiologiques et biochimiques intervenant lors de la fermentation du lait au cours de la fabrication d'un yaourt.

Q8. Nommer un paramètre physico-chimique évoluant au cours de cette étape de transformation du lait en yaourt. Présenter un moyen de mesure permettant le suivi de cette évolution.

3.2. Fabrication d'un dessert végétal

La fabrication d'un dessert végétal par fermentation de jus d'avoine fait intervenir différentes étapes, présentées sur **le document 7**.

Q9. À partir du **document 7**, préciser le but des étapes soulignées puis montrer que le processus de fabrication d'un dessert végétal se rapproche de celui d'un yaourt étuvé (traditionnel).

La production de desserts végétaux à partir de jus végétaux pouvant se substituer aux yaourts peut nécessiter d'être complété par :

- de l'huile pour améliorer la sensation en bouche et augmenter la valeur nutritionnelle ;
- des stabilisants et des agents épaississants pour améliorer la sensation en bouche et prolonger la durée de conservation ;
- des poudres minérales ou des vitamines, pour un dessert végétal enrichi ;
- des arômes ou colorants naturels ;
- des ferments lactiques.

Le **document 8** décrit un dessert végétal à l'avoine actuellement commercialisé en France et de nombreux autres pays européens.

Q10. Parmi les ingrédients spécifiés dans le **document 8**, citer les additifs et expliquer leur rôle.

La texture d'un dessert végétal à base de jus d'avoine nécessite l'ajout d'épaississant comme les carraghénanes dont la structure est présentée dans le **document 9**.

Q11. Expliquer l'action épaississante des carraghénanes et proposer une hypothèse quant à leur rôle dans la prolongation de la durée de conservation.

3.3. Qualité du produit fini

Les lots de fabrication de dessert végétal seront constitués de 100 000 unités par jour. Au sein de l'entreprise, la vérification de la qualité de l'étiquetage est effectuée selon les règles d'échantillonnage pour les contrôles par attributs de la norme NF ISO 2859-1. Ce contrôle qualité est réalisé selon un niveau de contrôle général II avec un niveau de qualité acceptable (NQA) fixé à 0,25 % en termes de défauts d'étiquetage.

Q12. À l'aide du **document 10**, préciser, en décrivant la démarche, le nombre d'échantillons prélevés par lot ainsi que les critères d'acceptation et de rejet appliqués à ces lots.

Pour commercialiser des produits issus de l'agriculture biologique, l'opérateur (producteur, transformateur, distributeur, importateur, exportateur ou restaurateur), doit être contrôlé par un organisme certificateur indépendant et reconnu.

Le **document 11** présente les principales exigences de la certification associée au logo européen « agriculture biologique ».

Q13. Exposer les étapes permettant à une entreprise productrice de desserts à base de lait d'obtenir cette certification.

4. Synthèse

Q14. Discuter des avantages et inconvénients des desserts végétaux à base de jus d'avoine par rapport au yaourt traditionnel.

Document 1 : extraits des tables de composition nutritionnelle des aliments du Centre d'information sur la qualité des aliments (Ciqua 2022)

Constituant	Lait entier	Boisson à base d'avoine	Yaourt nature	Dessert végétal sans soja*
Protéines, N x 6.25 (g/100 g)	3,23	< 0,5	3,8	2
dont caséines (g/100g)	2,8	0	3,0	0
Glucides (g/100 g)	3,47	7,8	4,73	15,8
dont lactose (g/100 g)	3,2	< 0,2	2,65	< 0,1
Lipides (g/100 g)	3,3	1,1	2,3	8
AG saturés (g/100 g)	2,16	0,2	1,53	4,92
AG monoinsaturés (g/100 g)	0,85	0,37	0,54	1,89
AG polyinsaturés (g/100 g)	0,11	0,5	0,047	0,83
Cholestérol (mg/100 g)	14	0	12	0
Fibres alimentaires (g/100g)	0	de 0 à 10	0,86	2,1
Calcium (mg/100 g)	117	1	127	17
Vitamine D (µg/100 g)	0,1	< 0,25	0,61	< 0,25
Vitamine B2 (mg/100 g)	0,17	< 0,01	0,23	0,099
Vitamine B12 (µg/100 g)	0,32	0	0,28	V

* Dessert amande, avoine, chanvre, coco, riz, aromatisé, sucré, non enrichi, préemballé ; « V » variable selon l'ajout réalisé.

Source : <https://ciqua.anses.fr/>

Document 2 : index glycémique et index insulinaire

L'index glycémique (IG) traduit la capacité d'un aliment glucidique à augmenter plus ou moins rapidement la glycémie¹.

Il renseigne sur la vitesse d'assimilation des glucides d'un aliment.

Il se mesure après l'ingestion de l'aliment testé (en quantité adéquate pour apporter 50 g de glucides)².

L'indice de référence est celui du glucose³, fixé à 100.

En dessous de 50, on parle d'IG bas, entre 50 et 70 d'IG modéré et au-dessus de 70 d'IG élevé.

L'index insulinaire (II) renseigne sur la sécrétion d'insuline occasionnée par la consommation d'un aliment.

Il se mesure 2 heures après l'ingestion de l'aliment testé (en quantité adéquate pour apporter 240 kcal).

L'indice de référence est celui du pain blanc, fixé à 100.

Les diabétiques peuvent souffrir d'une maladie métabolique caractérisée par une élévation anormale chronique de la glycémie causée par un dysfonctionnement de la sécrétion ou de l'action de l'insuline. Ils doivent donc favoriser une alimentation avec un IG et un II faibles pour éviter les troubles métaboliques.

À la suite d'un repas, l'insuline permet aux glucides consommés de pénétrer dans les différents organes (muscles, foie...), qui les utilisent ou les stockent sous forme de glycogène. Cette hormone facilite aussi le stockage de graisses au sein du tissu adipeux (réserves graisseuses de l'organisme).

Les aliments fournissant des protéines ou des lipides (par exemple, les viandes ou les poissons) ont également, dans une moindre mesure, un impact sur la libération d'insuline⁴. Le lait ou le yaourt nature, bien qu'ils soient pauvres en glucides et possèdent un index glycémique faible, ont un index insulinaire important (respectivement 145 et 115). Certaines de leurs protéines, stimulant fortement la production d'insuline⁵.

¹ Concentration en glucose dans le plasma sanguin exprimée en général en millimoles de glucose par litre ou encore en gramme de glucose par litre

² D. J. Jenkins & al. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. Am J Clin Nutr. 1981 ; 34 (3) : 362-366.

³ Dans les premiers travaux de David Jenkins, l'aliment de référence n'était pas le glucose, mais le pain blanc.

⁴ N. Torres & al. Nutrient modulation of insulin secretion. Vitam. Horm. 2009; 80: 217-244.

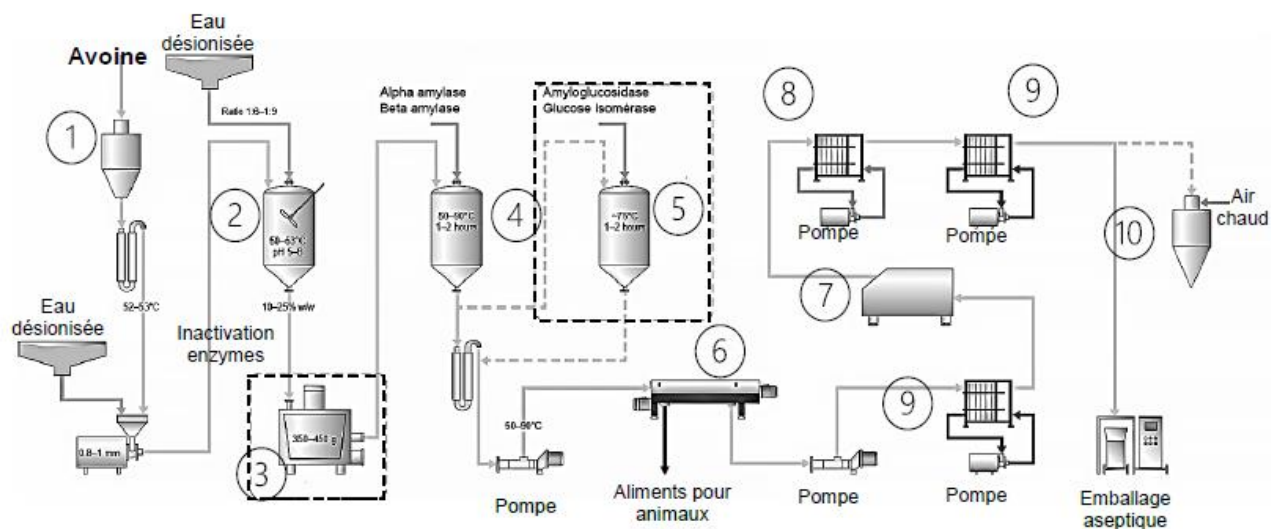
⁵ G. Hoyt & al. Dissociation of the glycaemic and insulinaemic responses to whole and skimmed milk. Br J Nutr. 2005; 93 (2): 175-177.

Suite du document 2 : index glycémique et index insulinique

Index glycémique (IG) et insulinique (II) de différents laits et jus végétaux

Aliment	IG	II
Jus d'avoine crue	30	< 100
Jus d'amande	30	
Jus de coco	40	
Jus de riz	85	
Jus de soja	36	
Lait demi-écrémé	30	de 115 à 145
Lait écrémé	32	
Lait en poudre	30	
Lait entier	27	

Document 3 : procédé de fabrication d'extraits d'avoine



Légendes :

1 : Décortiqueur d'avoine ; 2 : Mélangeur à haut cisaillement à immersion ; 3 : Centrifugeuse à panier ; 4 : Dégradation de l'amidon ; 5 : Conversion du maltose ; 6 : Décanteur ; 7 : Homogénéisateur ; 8 : Traitement UHT* /ESL** ; 9 : Refroidissement ; 10 : Séchoir par atomisation

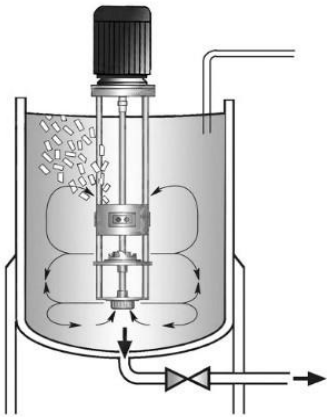
*Ultra Haute Température **Extend Shelf Life ou durée de conservation prolongée

Étapes optionnelles

Source : document modifié à partir de <https://www.alfalaval.com/>

Document 4 : cycle de fonctionnement d'un mélangeur haut cisaillement à immersion

Ce mélangeur convient pour désintégrer les noix, les graines et autres solides. Il permet également le mélange des poudres et des liquides.

 Étape 1 : La rotation à haute vitesse des pales du rotor dans la tête de travail de mélange exerce une aspiration puissante, aspirant les matières liquides et solides vers le haut depuis le fond de la cuve et jusqu'au centre de la tête de travail.	 Étape 2 : La force centrifuge entraîne alors les matières vers la périphérie de la tête de travail où elles sont soumises à un haut cisaillement dans l'entrefer étroit entre les extrémités des pales du rotor et la paroi interne du stator.
 Étape 3 : Les matières sont forcées, à haute vitesse, à travers les perforations du stator et subissent un haut cisaillement hydraulique lorsqu'elles sont expulsées de la tête de travail.	 Le cycle de mélange est maintenu par l'aspiration dans la tête de travail de nouvelles matières.

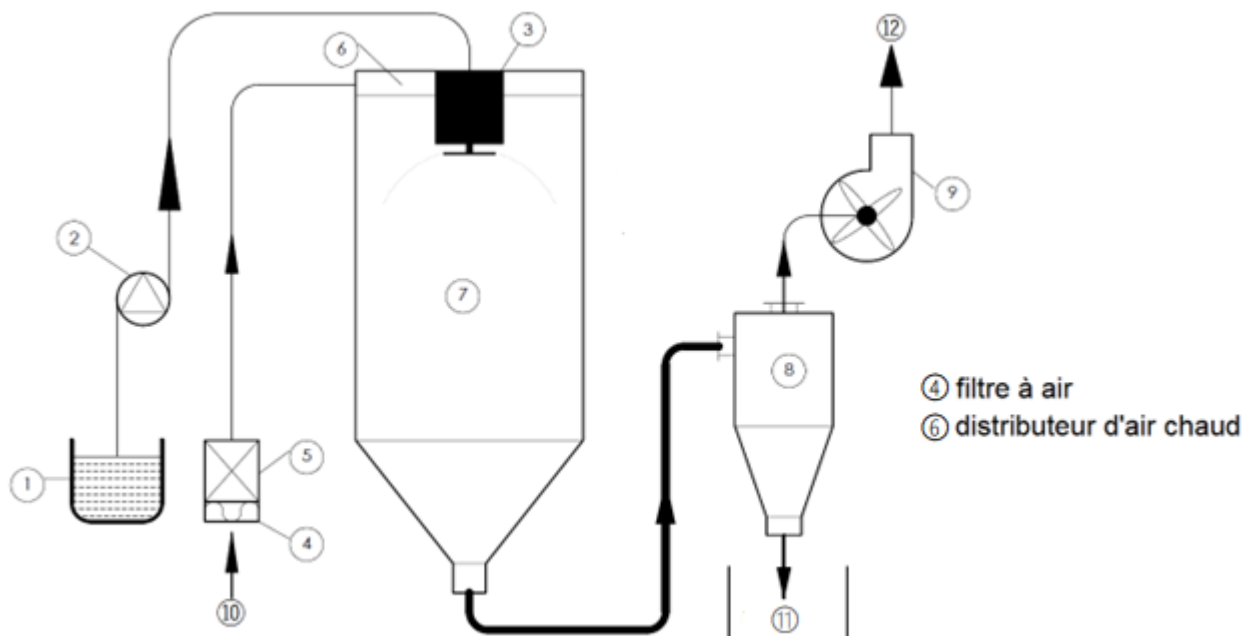
Source : Extrait de <https://www.silverson.fr>.

Document 5 : définitions de paramètres relatifs au traitement thermique

D_T est le temps de réduction décimal de la population de micro-organisme à la température T .

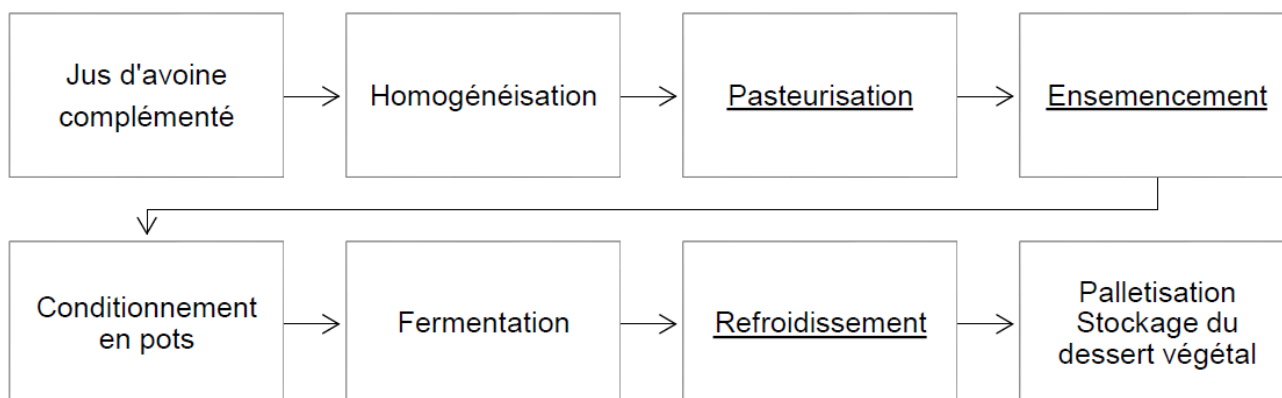
C'est-à-dire le temps nécessaire (en minutes ou secondes) pour réduire la population au $1/10^{\text{ème}}$ de ce qu'elle était à la température T ou encore temps de destruction de 90 % de la population initiale.

z est appelé facteur de réduction décimal. La valeur z correspond à l'élévation de température en degré permettant de réduire le temps de réduction décimale D_T d'un facteur 10 (ou réduire de 90 %). On l'exprime donc en degré Celsius ($^{\circ}\text{C}$). z est un paramètre complémentaire de D_T qui permet de convertir les barèmes à des températures différentes.

Document 6 : principe de fonctionnement d'une installation sécheur atomiseur

Le produit est envoyé au sommet de la tour d'atomisation par une pompe d'alimentation puis pulvérisé par une buse dans la chambre de séchage. Les gouttelettes entrent en contact avec un flux d'air chaud et sec produit par un générateur de chaleur entraînant de façon instantanée la production de poudre qui tombe au fond du cyclone. Cette poudre est aspirée dans le cyclone secondaire pour être séparée de l'air refroidi et humide expulsé par un ventilateur.

Source : <https://spraysas.com/atomisation-industrielle>.

Document 7 : étapes de fabrication d'un dessert végétal**Document 8 : extrait d'une communication publicitaire**

NATURE À L'AVOINE : alternative végétale au yaourt 500 g

L'avoine, est véritablement un héros parmi les graines. Nous aimons les petites bouchées supplémentaires et les fibres qu'elles apportent à notre soja.

AVANTAGES CLÉS

Naturellement sans lactose - 100% végétal – Végétarien - Naturellement pauvre en matières grasses - Naturellement pauvre en matières grasses saturées - Faible en sucres - Riche en fibres - Source de protéines de haute qualité - Source de calcium. Contient de la vitamine B2, B12 et D.

Suite du document 8 : extrait d'une communication publicitaire

INGRÉDIENTS

Base de soja (eau, fèves de soja décortiquées (9,7%)), avoine (3%), fibres de chicorée, sucre, citrate tricalcique (E333), correcteurs d'acidité (citrate de sodium (E331), acide citrique (E330), stabilisant : pectines (E440a), arôme naturel, sel marin, antioxygènes (extrait riche en tocophérols (E306), esters d'acides gras de l'acide ascorbique (E304), vitamines (D2, B12), ferments de yaourt (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*).

INFORMATIONS NUTRITIONNELLES (pour 100 g)

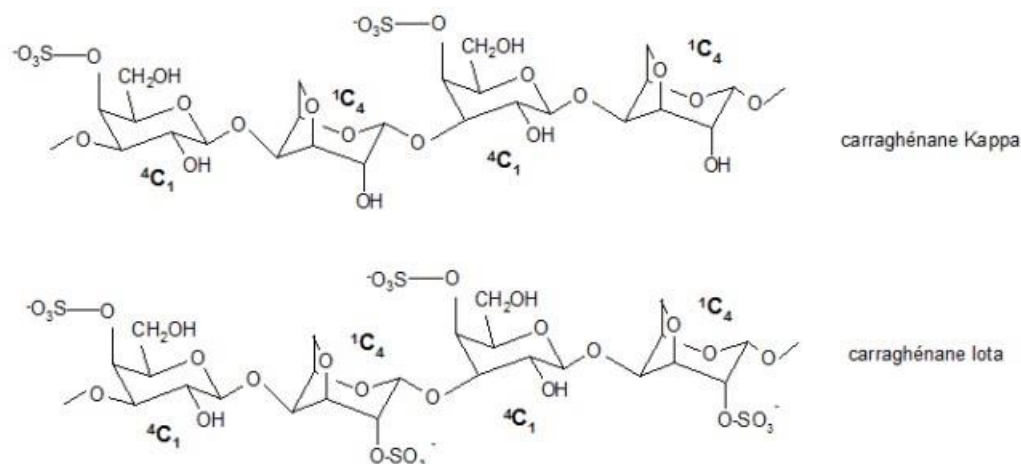
Typical Values	Par
Énergie	230 kJ / 55 kcal
Matières Grasses	2 g
Matières Grasses Saturées	0,4 g
Matières Grasses Mono-Insaturées	0,4 g
Matières Grasses Poly-Insaturées	1,2 g
Glucides	3 g
Sucres	1,9 g
Fibres	2,3 g
Protéines	3,8 g
Sel	0,09 g
Vitamines	
Vitamine D	0,75 µg
Vitamine B12	0,38 µg
Minéraux	
Calcium	120 mg

Source : <https://www.alpro.com/fr>

Document 9 : les carraghénanes

Les carraghénanes sont des polymères soufrés de type polysaccharide extrait d'algues rouges. Leur structure permet de piéger l'eau afin de former des gels à chaud. Ils peuvent être utilisés en remplacement de la gélatine dans des préparations alimentaires 100 % végétales.

La figure suivante rapporte la structure de base des carraghénanes produisant des gels.



Source : <https://biochim-agro.univ-Lille.fr>

Document 10 : extrait de la norme NF ISO 2859-1 Règles d'échantillonnage pour les contrôles par attributs - Partie 1 : procédures d'échantillonnage pour les contrôles lot par lot, indexés d'après le niveau de qualité acceptable (NQA)

Tableau 1 – Lettres-codes d'effectif d'échantillon

Effectif du lot		Niveaux de contrôles spéciaux ⁽²⁾				Niveaux de contrôle généraux ⁽¹⁾		
		S-1	S-2	S-3	S-4	I	II	III
...	...	...	...	...	...	...	...	...
501 à	1 200	C	C	E	F	G	J	K
1 201 à	3 200	C	D	E	G	H	K	L
3 201 à	10 000	C	D	F	G	J	L	M
10 001 à	35 000	C	D	F	H	K	M	N
35 001 à	150 000	D	E	G	J	L	N	P
150 001 à	500 000	D	E	G	J	M	P	Q
500 001 et au-dessus		D	E	H	K	N	Q	R

(1) Pour les usages généraux, sauf prescription contraire, le niveau II doit être utilisé. Le niveau I peut être utilisé quand une sévérité moindre est suffisante et le niveau III quand, au contraire, la sévérité doit être plus grande.

(2) Ces quatre niveaux de contrôle spéciaux supplémentaires : S-1, S-2, S-3 et S-4, peuvent être utilisés lorsque des échantillons d'effectif relativement petit sont nécessaires et lorsque des risques plus élevés peuvent être tolérés.

Tableau 2-A – plans d'échantillonnage simple en contrôle normal (tableau général)

[illegible]

↓ = Utiliser le premier plan d'échantillonnage figurant sous la flèche. Si l'effectif de l'échantillon est égal ou supérieur à l'effectif du lot, effectuer un contrôle à 100 %.

↑ = Utiliser le premier plan d'échantillonnage figurant au-dessus de la flèche.

Ac = Critère d'acceptation

Re = Critère de rejet

Document 11 : logo bio européen



Le logo européen "agriculture biologique", encore appelé "Eurofeuille", a pour objet d'aider les consommateurs à repérer les produits biologiques. Sa présence sur l'étiquetage assure le respect du règlement sur l'agriculture biologique de l'Union européenne.

Le logo européen peut être appliqué sur les produits qui :

- contiennent 100 % d'ingrédients issus du mode de production biologique ou au moins 95 % de produits agricoles biologiques dans le cas des produits transformés, si la part restante n'est pas disponible ...
- sont conformes aux règles du système officiel de contrôle et de certification,
- portent le nom du producteur, du préparateur ou du distributeur et le numéro d'agrément de l'organisme de certification.

Source : <https://www.agencebio.org>

SESSION 2022 - Éléments de corrigé

Éléments de corrigé de mathématiques 2022

EXERCICE 1

Partie A

1. Soit le tableau complété ci-dessous :

Rang de l'année k_i	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de personnes N_i (en milliers) équipées de l'implant	56,25	58,1	60,5	63,0	65,8	68,7	72,0	75,5	79,3
$y_i = \ln(N_i - 30)$	3,268	3,336	3,418	3,497	3,578	3,656	3,738	3,818	3,898

2.

a. L'équation de la droite d'ajustement obtenue par la méthode des moindres carrés : $y = 0,08k + 3,26$

b. En 2.a., l'équation de la droite d'ajustement de y en k est : $y = 0,08k + 3,26$

Pour la modélisation, le changement de variable est : $y = \ln(N - 30)$

On en déduit : $\ln(N - 30) = 0,08k + 3,26$.

Soit $(N - 30) = e^{0,08k+3,26} = e^{0,08k} \times e^{3,26} = e^{0,08k} \times 26,05$

D'où l'expression de N en fonction de k : $N(k) = 30 + 26,05e^{0,08k}$.

3. On formule l'hypothèse que le modèle proposé reste valide plusieurs années encore.

a. En 2026, on a : $k = 13$. Par conséquent $N(13) = 30 + 26,05e^{0,08 \times 13} \approx 103,7$

En 2026, 103 700 personnes environ seront équipées de l'implant médical dans ce pays.

b. Cherchons la limite de $N(k)$ lorsque k tend vers $+\infty$

$$\lim_{k \rightarrow +\infty} 0,08k = +\infty \Rightarrow \lim_{k \rightarrow +\infty} e^{0,08k} = +\infty ;$$

$$\text{On en déduit que } \lim_{k \rightarrow +\infty} N(k) = \lim_{k \rightarrow +\infty} (30 + 26,05e^{0,08k}) = +\infty$$

Sur le long terme, le modèle ne peut rester valable car le nombre d'implants ne peut tendre vers l'infini.

De surcroît, le nombre $N(k)$ de personnes équipées de l'implant médical sera supérieur à la population du pays qui reste stable à 60 millions.

Partie B

1. On considère la fonction g définie et dérivable sur l'intervalle $[0, +\infty[$ qui vérifie $g(0) = 8$ et qui est solution de l'équation différentielle (E) sur l'intervalle $[0, +\infty[$: $(E) : y' + 0,05y = 0,05$

a. $(E_0) : y' + 0,05y = 0$ soit $y' = -0,05y$: l'ensemble des solutions de (E_0) s'écrit : $y_1 = Ke^{-0,05t}$.

b. Soit $y_2 = C$ une solution constante de l'équation (E) . Comme $y_2 = C$ alors $y_2' = 0$.

y_2 est solution de l'équation (E) soit $y_2' + 0,05y_2 = 0,05$ Ainsi $0,05C = 0,05$ donc $C = \frac{0,05}{0,05} = 1$.

c. On en déduit sur l'ensemble des solutions de (E) sont les fonctions : $y = Ke^{-0,05t}$ avec une solution particulière $Ke^{-0,05t} + 1$ où K est une constante.

d. g est solution de (E) donc : $g(t) = Ke^{-0,05t} + 1 \Rightarrow g(0) = Ke^0 + 1 = K + 1$;

Or $g(0) = 8$ Donc $K + 1 = 8$ soit $K = 7$.

On en déduit l'expression de g sur l'intervalle $[0, +\infty[$: $g(t) = 7e^{-0,05t} + 1$.

2. En 2026, $t = 13$ donc $f(13) = \frac{450}{1+7e^{-0,05 \times 13}} = \frac{450}{1+7e^{-0,65}} \approx 96,68 \approx 97$.

En 2026, on peut estimer avec ce modèle que 97 000 personnes seront équipées de l'implant médical.

3. La limite de la fonction f en $+\infty$ est : $\lim_{t \rightarrow +\infty} (-0,05t) = -\infty \Rightarrow \lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-0,05t} = 0 \Rightarrow \lim_{t \rightarrow +\infty} \frac{450}{1+7e^{-0,05t}} = 450$.

Le nombre de personnes équipées d'un implant au bout de très nombreuses années après 2013 s'approchera de 450 000.

4. Pour tout t de $[0, +\infty[$, $e^{-0,05t} > 0$ donc $315e^{-0,05t} > 0$ et $2(1 + 7e^{-0,05t})^2 > 0$. Par quotient $f'(t) > 0$ donc f est croissante de $[0, +\infty[$. Cela signifie que le nombre de personnes équipées d'implants augmente au cours du temps.
5. On peut résoudre l'inéquation $f(t) > 120$ soit $\frac{450}{1+7e^{-0,05t}} > 120$.
- $$\Rightarrow \frac{450}{120} > 1 + 7e^{-0,05t} \text{ soit } 3,75 > 1 + 7e^{-0,05t} \Rightarrow 7e^{-0,05t} < (3,75 - 1) = 2,75 \Rightarrow e^{-0,05t} < \frac{2,75}{7} = \frac{11}{28}$$
- $$\Rightarrow \ln\left(\frac{11}{28}\right) > -0,05t \Rightarrow \frac{1}{-0,05} \times \ln\left(\frac{11}{28}\right) < t.$$
- $$\frac{1}{-0,05} \times \ln\left(\frac{11}{28}\right) \approx 18,69. \text{ On prendra } t \geq 19. \text{ À partir de 2032, le nombre de personnes équipées de cet implant médical dépassera 120 000.}$$

EXERCICE 2

A. Défaut d'approvisionnement

1	La probabilité de l'événement : « la file d'entrée ne se vide pas dans la journée. »	E : $P(A) = 0,03 \Rightarrow P(\bar{A}) = 0,97$
2	L'événement : « la file d'entrée est vide au moins une fois dans la journée mais pas le réservoir. »	C : $A \cap \bar{B}$
3	La probabilité de l'événement : « la file d'entrée et le réservoir ont été tous les deux vides au moins une fois au cours de la journée. »	F : A et B étant indépendants $\Rightarrow P(A \cap B) = P(A) \times P(B) = 0,03 \times 0,02 = 0,0006$
4	La probabilité de l'événement : « la machine a connu un défaut d'approvisionnement dans la journée. »	D : $P(A \cup B) = P(A) + P(B) - P(A \cap B) = 0,0494$

B. Pannes de la machine à embouteiller sur une durée de 200 jours

1. La variable aléatoire X suit une loi binomiale de paramètres $n = 200$ et $p = 0,025$.
- 2.
- On sait que lorsqu'on approxime une loi binomiale $\mathcal{B}(n; p)$ par une loi de Poisson $\mathcal{P}(\lambda)$ alors le paramètre $\lambda = n \times p \Rightarrow \lambda = 200 \times 0,025 = 5$.
 - Avec la calculatrice, pour Y qui suit une loi de Poisson $P(5)$: $P(Y \leq 10) = 0,986$ à 10^{-3} près.
 - $P(Y=15) = \frac{5^{15}e^{-5}}{1 \times 2 \times \dots \times 15} = \frac{5^{15}e^{-5}}{15!} \approx 1,57 \times 10^{-4} \neq 0$. La conjecture $P(Y = 15) = 0$ est donc fausse.

C. Qualité de l'embouteillage

1. À l'aide de la calculatrice, on obtient pour l'échantillon $\bar{x} = 74,73$ et $\sigma = 1,10$ à 10^{-2} près.
- 2.
- On résout $P(75 - h \leq \bar{Z} \leq 75 + h) \approx 0,95$. La calculatrice fournit : $75 - h \approx 74,78$ et $75 + h \approx 75,22 \Rightarrow$ on en déduit $h \approx 0,22$ à 10^{-2} près.
 - La règle de décision du test est :
 - si la quantité d'eau moyenne d'un échantillon pris au hasard et avec remise de 100 bouteilles remplies par la machine appartient à l'intervalle $[74,78 ; 75,22]$ alors l'hypothèse H_0 est acceptée ;
 - sinon, H_0 est refusée et H_1 est acceptée, au seuil de risque de 5 %.
 - Pour l'échantillon donné, on a $\bar{x} = 74,73 \Rightarrow \bar{x} \notin [74,78 ; 75,22] \Rightarrow$ l'hypothèse H_0 : « $m = 75$ » est refusée, au risque de 5 % ; H_1 est acceptée.

Éléments de corrigé de sciences physiques et chimiques 2022

A. Couleur : pigments et colorants (10 points)

Q1. La longueur d'onde pour laquelle l'absorbance est maximale, est $\lambda_{max} \approx 630 \text{ nm}$. La solution est bleue, couleur complémentaire (donc à l'opposé de 630 nm sur l'étoile chromatique) de l'orange correspondant au maximum d'absorption.

Q2. On règle le spectrophotomètre à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorbance de la solution étudiée, pour une plus grande précision et une plus grande sensibilité des mesures. Il est donc judicieux de régler le spectrophotomètre sur 630 nm.

Q3. La loi de Beer-Lambert est valable pour les faibles concentrations : $A = \varepsilon_X^\lambda \cdot l \cdot C$

Avec A : absorbance sans dimension et sans unité ; ε_X^λ : coefficient d'absorption molaire du soluté X à une longueur d'onde donnée en $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (ou $\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$) ; l : distance optique (largeur de la cuve) en cm (ou m) ; C : concentration en quantité du soluté dans la solution en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (ou $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$).

Q4. On a une droite passant par l'origine et l'équation est celle d'une fonction linéaire. Donc A et c sont proportionnels $\Rightarrow$ les conditions de linéarité de la loi est bien vérifiée.

Q5. $C = \frac{A}{1,2 \times 10^5} = 3,9 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Q6. $C = (3,9 \pm 0,2) \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

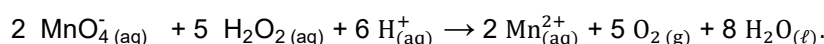
Q7. La concentration indiquée par le fournisseur est bien dans l'intervalle de concentration en colorant mesurée, donc conforme.

B. Eau oxygénée (10 points)

Q8. Première demi-équation : $\text{MnO}_4^- (\text{aq}) + 8 \text{H}^+ (\text{aq}) + 5 \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} (\text{aq}) + 4 \text{H}_2\text{O} (\ell)$

Deuxième demi-équation : $\text{H}_2\text{O}_2 (\text{aq}) \rightleftharpoons \text{O}_2 (\text{g}) + 2 \text{H}^+ (\text{aq}) + 2 \text{e}^-$

Q9. Pour écrire l'équation d'oxydo-réduction, il faut multiplier par 2 la première demi-équation et par 5 la deuxième. Après élimination des termes récurrents et équilibre de l'équation on obtient :



Q10. À l'équivalence, les réactifs MnO_4^- et H_2O_2 ont été versé en proportions stœchiométriques donc :

$$n_{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ initial}} = \frac{5}{2} \times n_{\text{MnO}_4^-} \text{ soit } n_{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ initial}} = \frac{5 \times C_0 \times V_E}{2}$$

Q11. $C_{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ commerciale}} = 20 \times C_{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ diluée}} \text{ soit } C_{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ commerciale}} = \frac{20 \times 5 \times C_0 \times V_E}{2 \times V}$

$$C_{\text{volumes}} = 11,2 \times C_{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ commerciale}} = \frac{11,2 \times 20 \times 5 \times C_0 \times V_E}{2 \times V}$$

$$C_{\text{volumes}} = \frac{560 \times C_0 \times V_E}{V}$$

Q12. $C_{\text{volumes}} = \frac{560 \times 0,0200 \times 17,4}{10,0} = 19,5 \text{ volumes}$

Q13. $C_{\text{volumes}} = 19,5 \text{ volumes}$ est inférieure à la concentration maximale qui est de 40 volumes. Cette solution entre dans la catégorie des « produits pour les cheveux » autorisés au sens de l'annexe III du règlement du Parlement Européen.

Autre méthode en déterminant le pourcentage (m/V) en calculant la concentration en quantité puis en masse de H_2O_2

$$C_{(\text{H}_2\text{O}_2 ; \text{sol commerciale})} = \frac{20 \times 5 \times C_0 \times V_E}{2 \times V} = 1,74 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}.$$

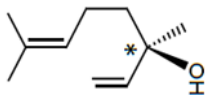
Donc $\rho_{(\text{H}_2\text{O}_2 ; \text{sol commerciale})} = C_{(\text{H}_2\text{O}_2 ; \text{sol commerciale})} \times M_{\text{H}_2\text{O}_2} = 1,74 \times 34,0 = 59,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Soit 5,92 % (m/V) en H_2O_2 . Ce pourcentage est bien inférieur à 12 %.

Q14. Condition d'emploi : porter des gants appropriés (voir document du Parlement Européen). Éviter le contact avec les yeux. Rincer immédiatement les yeux si le produit entre en contact avec ceux-ci.

C. Odeur : synthèse du linalol (11 points)

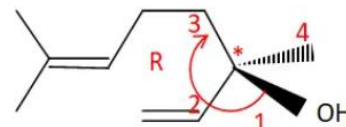
Q15.



Q16. Configuration R selon les règles de Cahn-Ingold-Prelog (CIP) qui détermine un ordre de préséance arbitraire entre les substituants au niveau du carbone asymétrique.

La préséance est accordée au substituant lié au site par l'atome de numéro atomique Z, le plus élevé et ainsi de suite pour les autres substituants.

Lorsque deux substituants sont liés au site par un atome identique, on compare entre eux les numéros atomiques des atomes auxquels ils sont eux-mêmes liés. En cas de liaison multiple, on considère que l'atome est lié à autant d'atomes identiques qu'il y a de liaisons (deux pour une double liaison, trois pour une triple).



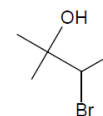
Q17. (–)-linalol, le (–) signifie un pouvoir rotatoire spécifique négatif. Il est donc lévogyre.

Q18. Le mélange est un mélange racémique de pouvoir rotatoire nul.

Q19. L'acétone est la propanone ou propan-2-one.

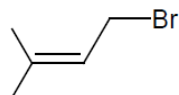
Q20. On a une réaction d'addition de HBr sur une liaison double C=C.

Q21. Selon la règle de régiosélectivité de Markovnikov, l'ion hydrogène H⁺ se fixe sur le carbone le moins substitué. L'espèce majoritaire est donc le composé « C ».

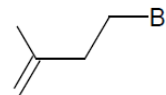


Q22. Selon la règle de Zaïtsev, la double liaison se forme de préférence avec le carbone le plus substitué.

Composé D
majoritaire

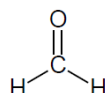


Composé D'
minoritaire



Q23. Le carbone (E.N. = 2,55) est plus électronégatif que le magnésium (E.N. = 1,31). Les électrons du doublet liant sont davantage attirés par le C que par le Mg. Donc le Mg porte une charge partielle positive (δ⁺) et C porte une charge partielle négative (δ⁻).

Q24. Le méthanal est un aldéhyde de formule :



Q25. La polarité de la liaison entre C et O est déduite de la comparaison des électronégativités : E.N. (C) = 2,55 < E.N. (O) = 3,44, les e⁻ sont donc davantage attirés par O que par C. C est (δ⁺) et O est (δ⁻). Le site nucléophile Cδ⁻ de l'organomagnésien va donc "attaquer" le Cδ⁺ du méthanal.

Q26. Dans l'introduction de la partie D, il est indiqué que « La Viscosité dépend fortement de la température ».

Q27. $v = \frac{d}{\Delta t}$

Q28. L'équation aux grandeurs du poids est : $P = m \cdot g = \rho_{bille} \cdot V \cdot g = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R^3 \cdot \rho_{bille} \cdot g$.

Q29. $P = P_A + f$ soit $= \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R^3 \cdot \rho_{bille} \cdot g = \left(\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R^3 \cdot \rho_{liquide} \cdot g \right) + (6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R \cdot v)$.

Après simplification, on obtient l'équation : $6 \cdot \pi \cdot \eta = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R^2 \cdot (\rho_{bille} - \rho_{liquide}) \cdot g$.

On obtient alors l'équation aux grandeurs de η : $\eta = \frac{2 \times (\rho_{bille} - \rho_{liquide}) \times R^2 \times g}{9 \times v}$.

Q30. $K = \frac{2 \cdot R^2 \cdot g}{9 \cdot d} = \frac{2 \times (5,50 \cdot 10^{-3})^2 \times 9,81}{9 \times (20,0 \cdot 10^{-2})} = 3,30 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-2}$

Q31. $\rho_{liquide}$ dépend du mélange. En supposant que l'on ait à 25 °C du glycérol pur, $\rho_{liquide} = 1\,258 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$.

Donc $\eta = K \cdot (\rho_{bille} - \rho_{liquide}) \cdot \Delta t = 3,30 \times 10^{-4} \times (7,70 \cdot 10^3 - 1,258 \cdot 10^3) \times 0,443 = 0,942 \text{ Pa} \cdot \text{s}$.

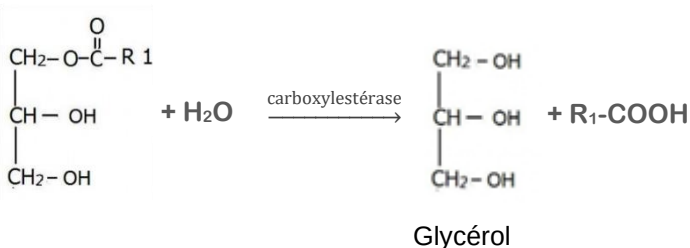
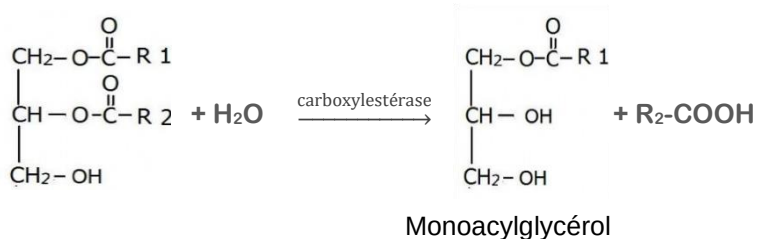
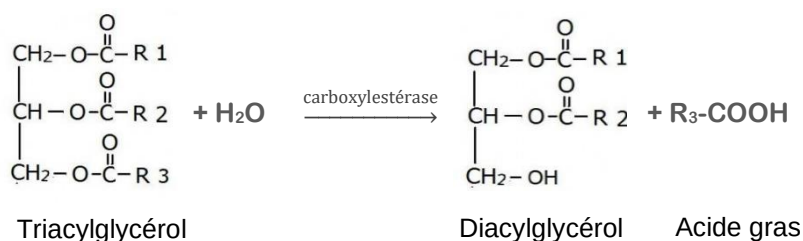
La valeur expérimentale obtenue correspond à celle de la littérature. Le glycérol n'a pas subi d'altération.

Éléments de corrigé de biochimie et de technologies d'analyse 2022

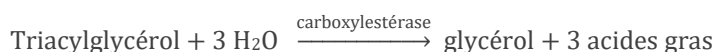
Métabolisme de la cocaïne et identification dans des produits de saisie de stupéfiants

1. La cocaïne : substrat des carboxylestérases

Q1. Hydrolyse d'un triacylglycérol par des carboxylestérases



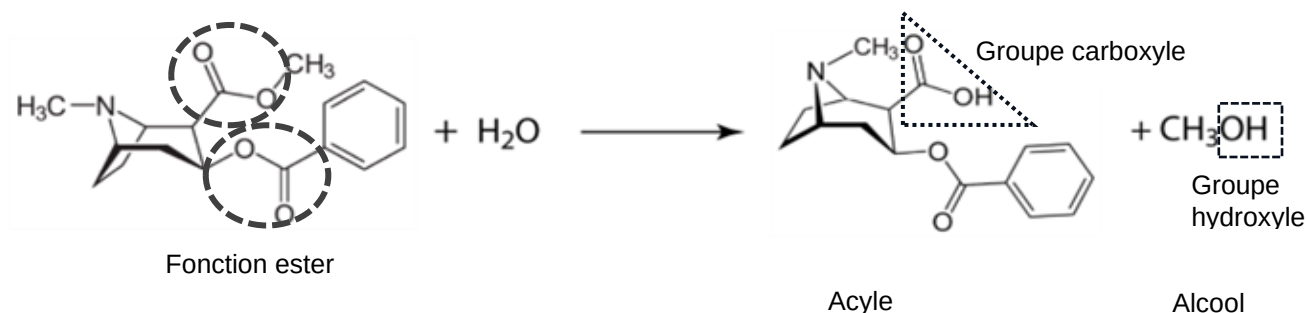
Ou



Classe des carboxylestérases : hydrolase

Q2. La structure de la carboxylestérase monomérique est une structure tertiaire. On y repère les motifs secondaires suivants : hélice α , feuillets β et boucles. La triade d'acides aminés dans le mécanisme enzymatique est la sérine (Ser²²¹), l'histidine (His⁴⁶⁸) et l'acide glutamique (glu³⁵⁴). Ces trois acides aminés sont éloignés dans la structure primaire mais se retrouvent localisés dans une même poche dans la structure tertiaire ou tridimensionnelle. Ils forment le site catalytique du site actif.

Q3.



La présence de liaison ester permet l'hydrolyse de la cocaïne. La carboxylestérase du document 3 préfère hydrolyser les esters contenant un petit groupe alcool et un groupe acyle volumineux.

2. Suivi de la purification des carboxylestérases

Q4. C'est un dosage par méthode cinétique en continu dans le visible car :

- Les absorbances sont suivies durant 10 minutes ;
- La lecture s'effectue à 420 nm dans le domaine du visible.

Q5. La loi de Beer-Lambert est : $A = \varepsilon_{o-NP}^{420} \times l \times c_{(o-NP; sol MR)} = \varepsilon_{o-NP}^{420} \times l \times \frac{n_{(o-NP; V_{MR})}}{V_{MR}}$

D'après le document 5, une mole de substrat apparu dans le V_{MR} correspond à une mole de produit apparu dans le V_{MR} , on peut donc écrire l'équation aux grandeurs de l'activité de la carboxylestérase testée.

$$z \equiv \frac{1}{1} \times \frac{\Delta n_{(o-NP; V_{MR})}}{\Delta t} = \frac{1}{1} \times \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon_{o-NP}^{420} \times l} \times V_{MR} \times 10^6 \text{ avec } \Delta t \text{ en minutes}$$

La concentration d'activité : $b = \frac{z}{V_{\text{prise d'essai de fraction}}} \equiv \frac{1}{1} \times \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon_{o-NP}^{420} \times l} \times \frac{V_{MR}}{V_{\text{prise d'essai de fraction}}} \times 10^6$

$$b \equiv \frac{1}{1} \times \frac{\Delta A}{10} \times \frac{1}{13\,600 \times 1} \times \frac{3,00 \cdot 10^{-3}}{0,25 \cdot 10^{-3}} \times 10^6 = \Delta A \times 882,4 \text{ en U} \cdot \text{L}^{-1}$$

L'activité totale : $z_{\text{totale}} = b \times V_{\text{sol. fraction}} \equiv \frac{1}{1} \times \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon_{o-NP}^{420} \times l} \times \frac{V_{MR}}{V_{\text{prise d'essai de fraction}}} \times 10^6 \times V_{\text{sol. fraction}}$

$z_{\text{totale}} = b \times V_{\text{sol. fraction}} \equiv \Delta A \times 882,4 \times V_{\text{sol. fraction}}$ avec $V_{\text{sol. fraction}}$ en L

Q6. L'activité spécifique représente un nombre d'unité d'enzyme par g de protéines. C'est le rapport de l'activité totale enzymatique : z_{totale} à la masse totale de protéines dans la fraction.

L'enrichissement est le rapport des activités spécifiques après chaque étape de purification.

Échantillon	Activité spécifique en U·mg ⁻¹	Enrichissement
Extrait brut	1,57	
Après chromatographie échangeuse d'ions	29,1	18,5
Après ultrafiltration	30,3	1,04

L'enrichissement global est de 19,3.

Q7. L'ultrafiltration permet le dessalage de l'éluat issu de la chromatographie échangeuse d'ions et sa concentration. L'ultrafiltration peut être remplacée par une dialyse.

Q8. Principe de la SDS-PAGE : les protéines dénaturées et chargées négativement sous l'effet combiné de la chaleur et du SDS vont migrer dans un gel réticulé sous l'influence d'un champ électrique. Le gel réticulé joue le rôle d'un tamis moléculaire. Étant toutes chargées négativement, les protéines seront séparées en fonction de leur taille et donc de leur masse moléculaire. Les protéines de faible masse moléculaire migreront plus vite au sein du gel et se retrouveront du côté anodique du gel. Inversement les protéines de forte masse moléculaire migreront peu au sein du gel et se situeront du côté cathodique du gel.

Q9. Révélation des carboxylestérases (CES) par application sur la membrane de transfert d'anticorps spécifiques anti CES marqués par un fluorochrome.

Les bandes observées sur les électrophorogrammes révèlent la présence de protéines marquées.

Au niveau des contrôles : on a deux isoformes distinctes des carboxylestérases CES1 et CES2 de même masse moléculaire (66 kDa). Chaque anticorps utilisé est bien spécifique de son isoforme.

Dans l'extrait intestinal, on observe une bande épaisse correspondant à l'isoforme CES2 (électrophorogramme A) et une bande de très faible intensité dans le foie (électrophorogramme B).

Dans l'extrait hépatique, on observe une bande épaisse correspondant à l'isoforme CES1 et une bande de faible intensité pour l'isoforme CES2.

On a donc dans l'extrait intestinal l'isoforme CES2 prédominante et dans l'extrait hépatique l'isoforme CES1.

Q10. On retrouve la spécificité tissulaire des CES. L'élution des CES est très différente montrant des masses moléculaires différentes. La CES hépatique est éluée dans les premières fractions et a donc une masse moléculaire élevée. La CES intestinale au contraire est éluée plus tardivement et a donc une masse moléculaire plus faible.

Or lors de la SDS-PAGE, les 2 isoformes étaient de même masse moléculaire. Cela suggère que ces 2 isoformes n'ont pas la même structure. La CES2 est monomérique alors que la CES1 est une enzyme oligomérique constituée de la même sous unité (homomère).

Q11. D'après le chromatogramme 8b, en utilisant la cocaïne comme substrat, il y a présence d'activité enzymatique avec les carboxylestérases issues de l'extrait intestinal (CES2) et absence avec les carboxylestérases hépatiques (CES1).

Q12.

Isoformes des CES	CES1	CES2
structure	oligomérique	monomérique
Localisation tissulaire prédominante	hépatique	intestinale
Métabolisation de la cocaïne	non	oui

Piste pour un médicament : produire une forme assimilable de la CES2 afin de métaboliser la cocaïne des personnes intoxiquées.

Q13. Les R_f n'étant pas suffisamment distincts, il n'y a donc pas de distinction certaine entre la lidocaïne et la cocaïne dans un produit de cocaïne saisi.

Q14. La cocaïne et la benzoylecgonine ont des structures très proches. La seule différence est la présence d'un groupement carboxylique polaire pour la benzoylecgonine et une fonction ester méthylique apolaire pour la cocaïne. En conséquence, la cocaïne est moins polaire que la benzoylecgonine.

Q15. Comparaison des méthodes :

Procédé	Sur couche mince	Sur colonne haute performance
Principe	Adsorption	Partage en phase inverse
Phase stationnaire et polarité	Silice polaire	Silice greffée en C18 apolaire
Phase mobile	$\pm$ apolaire	$\pm$ polaire
Élution des molécules	Rétention des molécules polaires – peu de migration. Désorption des molécules apolaires plus rapide – forte migration sur le gel de silice.	Élution rapide des molécules polaires non retenues par la phase stationnaire. Élution tardive des molécules apolaires,
Ordre d'élution	Cocaïne (peu retenue) – lidocaïne – benzoylecgonine	Benzoylecgonine – lidocaïne – cocaïne

Les résultats observés sont en conformité avec le principe de séparation de chacune des méthodes.

Q16. Le pic de la cocaïne est davantage visible à 230 nm. C'est donc la longueur d'onde la plus adaptée car elle présente une plus grande sensibilité.

Q17. Établissement de la gamme : $V_{(pe\ sol\ étalon\ i)} = \frac{\rho_{(cocaïne ; sol\ étalon\ finale)} \times V_{(sol\ étalon\ finale)}}{\rho_{(cocaïne ; sol\ étalon\ i)}}$

$\rho_{(cocaïne ; sol\ finale)}$ en $mg \cdot L^{-1}$	10	20	30	40	50
$V_{pe\ sol\ étalon\ initiale\ de\ cocaïne}$ en mL	1	2	3	4	5
$V_{diluant}$ en mL	9	8	7	6	5

Q18. De l'équation de droite de regression on en déduit : $\rho_{(cocaïne ; sol)} = \frac{Signal + 0,00252}{0,01476}$

Essai	1	2	3	4	5	6	Moyenne
$\rho_{(cocaïne ; sol)}$ en $mg \cdot L^{-1}$	30,794	30,930	30,862	30,862	30,659	30,862	30,828

Q19. La justesse est l'écart de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée. Les grandeurs mathématiques l'estimant sont le biais et le biais relatif. Une grandeur mathématique est demandée donc calcul :

Soit du biais = $(30,828 - 30) = 0,828\ mg \cdot L^{-1}$ soit du biais relatif = $\frac{(30,828 - 30)}{30} \times 100 = 2,76\ \%$.

2,76 % est inférieur à l'écart relatif admis de 10 % donc la justesse de la méthode utilisée est bonne.

Éléments de corrigé de microbiologie et de technologies d'analyse 2022

Bioproduction d'acide hyaluronique pour formes injectables en industrie pharmaceutique

1. Origine microbienne de l'acide hyaluronique

Q1. Les biopolymères d'acide hyaluronique se localisent autour d'une ou plusieurs bactéries sous forme de couches externes dense et épaisse.

Propriétés : – adhérence de la bactérie sur des surfaces inertes et des tissus (biofilms) ;
– protection de la bactérie contre les conditions environnementales et aux défenses de l'hôte.

Q2. *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* est une bactérie mésophile car sa température optimale de croissance est de 37 °C, neutrophile car son *pH* optimal de croissance est de 7.

Q3. Le gène de l'ARNr 16S est commun à toutes les bactéries et est très conservé.

Q4. Le couple d'amorces à choisir est le primers for Pacific Biosciences de par sa taille du fragment séquencé correspondant à la taille du gène. Plus la taille de la séquence comparée dans la banque de données est importante, plus le % d'homologie obtenu sera significatif.

Q5. Après comparaison des séquences de l'ARN 16 S, le pourcentage d'homologie est supérieur à 99 %. Cela implique que les 2 espèces *Streptococcus equi* et *Streptococcus zooepidemicus* appartiennent à la même espèce *Streptococcus equi*. Cependant leurs caractéristiques phénotypiques (biotypes et pathovars) et biochimiques sont différentes et imposent la création de 2 sous-espèces.

2. Optimisation de la production d'acide hyaluronique au laboratoire R&D

Q6. – Ensemencement de stries de souches mutantes survivantes sur gélose (Columbia) au sang (24 H, 37 °C) pour rechercher le caractère non hémolytique → les mutants sélectionnés ne présenteront pas de halo d'hémolyse autour de la strie.

– Sur le même lot de boîte de gélose Columbia :

- ensemencement d'une strie témoin permettant de vérifier l'aspect d'une souche β hémolytique → observation d'un halo translucide autour de la strie lié à l'hémolyse complète des hématies ;
- ensemencement d'une strie témoin permettant de vérifier l'aspect d'une souche non hémolytique → aucun halo autour de la strie.

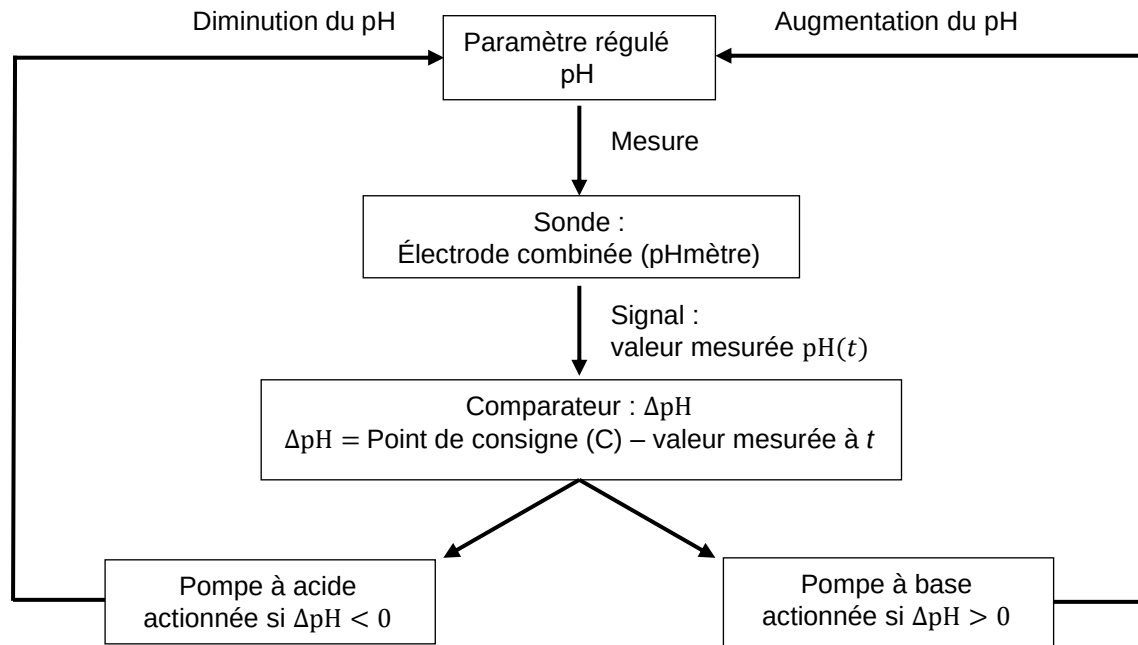
Q7. – Sélection des mutants hyaluronidase (–) : ces mutants n'expriment pas la hyaluronidase, enzyme hydrolysant la molécule d'intérêt, l'acide hyaluronique (AH). → meilleur rendement de production d'AH.

- Sélection des mutants hyperproducteurs d'AH : augmentation du rendement de production d'AH.
- Sélection des mutants Kanamycine^R : utilisation d'un agent sélectif des mutants performants et limitation des contaminations potentielles lors d'une production en bioréacteur.

Q8. Légendes du schéma du bioréacteur

1	Moteur du module d'agitation	6	Sortie de gaz
2	Arrivée d'air	7	Sortie d'eau de la double enveloppe
3	Double enveloppe (échangeur)	8	Pale du système d'agitation
4	Entrée d'eau de la double enveloppe	9	Canule de prélèvement
5	Sortie pour la vidange	10	Spargeur ou bulleur ou diffuseur d'air

Schéma fonctionnel de la boucle de régulation du pH



Q9.

Composants	Rôle
D-Glucose	Source d'énergie et de carbone
Caséines et peptone de soja	Source d'énergie, de carbone et d'azote
Extrait de levure	Source de facteurs de croissance, de carbone et d'azote
KH ₂ PO ₄ et K ₂ HPO ₄	Tampon, source d'ions minéraux
Kanamycine	Agent sélectif (antibiotique) des souches mutantes performantes

PKB : milieu semi-synthétique sélectif LAI Milieu empirique sélectif

Q10. L'AH est produit durant la phase de croissance (phases d'accélération et/ou exponentielle). C'est donc un métabolite primaire.

Q11. La souche MSE2 et le milieu LAI seront sélectionnés car la production en acide hyaluronique est la plus élevée (environ 5,5 g·L⁻¹).

Pour les 3 souches, la production d'acide hyaluronique est meilleure en milieu LAI plutôt qu'en milieu PKB. Les éléments qui diffèrent entre ces 2 milieux sont la source d'azote et l'apport en facteur de croissance. Les peptones de soja et l'extrait de levure sont donc plus favorables à la production d'acide hyaluronique que la caséine qui n'apporte pas de facteur de croissance, contenus dans l'extrait de levure.

Q12. Équation aux grandeurs de la productivité volumique horaire maximale P : $P = \frac{AH_{max}}{\text{durée de la culture}}$

Type d'agitateur	Rhuston	Paravisc	Intermig
P en g·L ⁻¹ ·h ⁻¹	0,325	0,458	0,400

L'agitateur Paravisc est le plus performant car il permet d'obtenir la meilleure productivité volumique horaire maximale.

3. Contrôle qualité de solutions injectables

Q13.

Témoin	Contrôle	Résultat à J14
FT100 + <i>Clostridium</i> ou <i>Staphylococcus</i>	Contrôle de fertilité	Culture
FT100 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (aérobie stricte)	Contrôle de sélectivité	Absence de culture
FT100 + Eau physiologique	Contrôle de stérilité	Absence de culture

Q14. Avantages : durée d'analyse courte : 3 h au lieu de 14 jours ; sensibilité plus importante car elle détecte de nombreuses catégories de microorganismes (spores, bactéries, difficilement cultivables, levures et moisissures) au lieu uniquement des bactéries anaérobies strictes et facultatives.

Q15. La nature biochimique des endotoxines est de type lipidique (lipide A du LPS) – elle se situe au niveau de la membrane externe de la paroi des bactérie à Gram négatif.

Les effets à forte dose sont : pyrogène, hypotension, coagulation sanguine disséminée entraînant un choc toxique ou anaphylactique pouvant être responsable de la mort du patient.

Q16. – Temps d'incubation de 10 minutes, temps nécessaire pour l'activation de la coagulase dans le LAL.

- Choix de la température (37 °C) et du pH (7,0) nécessaires pour que les réactions enzymatiques se réalisent dans les conditions de la méthode choisie.

Q17. Toutes les concentrations sont inférieures à la limite de toxicité (0,5 UI·L⁻¹). Le lot peut être libéré car la stérilité est conforme ainsi que le taux d'endotoxine ((n = 5, c = 0).

Éléments de corrigé de BCM et de technologies d'analyse 2022

Peste porcine africaine : Comment faire face à la menace mondiale ?

1. Le virus de la peste porcine ASFV

Q1. Les caractéristiques de l'ASFV sont :

- Génome : ADN double brin linéaire non fragmenté
- Capside : icosaédrique
- Enveloppé

Q2. Le virus est très résistant aux conditions environnementales ce qui lui permet de subsister longtemps dans différents réservoirs donc d'infecter davantage d'hôtes et de se propager par contact direct hôte/hôte ou par contact indirect (alimentation contaminée par exemple).

2. Développement d'une nouvelle technique de détection moléculaire de ASFV : la méthode RPA

Q3. À partir de la relation : $c_{(\text{solutés}; \text{sol initiale})} \times V_{(\text{pe sol initiale})} = c_{(\text{solutés}; \text{sol étalon finale})} \times V_{(\text{sol étalon finale})}$, on en déduit $V_{(\text{pe sol initiale})} = \frac{c_{(\text{solutés}; \text{sol étalon finale})} \times V_{(\text{sol étalon finale})}}{c_{(\text{solutés}; \text{sol initiale})}} = V_x$ avec $x = 1, 2, 3, 4$ dans l'énoncé.

Mix PCR	$V_1 = \frac{(1X) \times 25}{(2X)} = 12,5 \mu\text{L}$	Amorce 2	$V_3 = \frac{0,4 \times 25}{10} = 1,0 \mu\text{L}$
Amorce 1	$V_2 = \frac{0,4 \times 25}{10} = 1,0 \mu\text{L}$	Sonde	$V_4 = \frac{0,2 \times 25}{10} = 0,5 \mu\text{L}$

Q4. Rôle des cinq réactifs soulignés :

- Taq DNA polymérase : enzyme catalysant la polymérisation de l'ADN
- Tampon : apporte un pH optimal pour le fonctionnement de l'enzyme
- dNTP : Monomère pour la polymérisation du nouveau brin synthétisé
- Amorce : courte séquence nucléotidique (oligonucléotide) complémentaire du début la séquence cible (matrice), point de départ et apportant l'extrémité 3'OH nécessaire à la synthèse du brin d'ADN
- Sonde : oligonucléotide marqué se fixant sur une séquence spécifique pour détection et quantification éventuelle.

Q5. Le Ct correspond au nombre de cycles nécessaires pour obtenir un signal de fluorescence spécifique, c'est-à-dire qui dépasse le signal seuil. Le Ct pour l'étalon 10^1 est de 34 cycles, pour l'étalon 10^5 : 20 cycles.

Q6. Méthode qualitative :

Signal détecté inférieur au signal seuil ne permettant pas d'avoir un Ct, en absence d'ADN cible : témoin négatif
Signal détecté supérieur au signal seuil permettant d'avoir un Ct, en présence faible d'ADN cible : témoin positif (avec un nombre de cycles suffisant).

Méthode quantitative : pour chaque étalon, on obtient un Ct inversement proportionnel à la quantité d'ADN.

Q7.

	RPA	PCR
Température	Même température (isotherme)	3 températures différentes
Étape de dénaturation de l'ADN	Non	Oui
Utilisation d'une recombinaise	Oui	Non
Protéine SSB	Oui	Non
Polymérase	ADN polymérase	Taq polymérase
Durée	Moins d'une heure	Plus d'une heure
But de l'analyse	Qualitative et semi-quantitative	Qualitative et quantitative

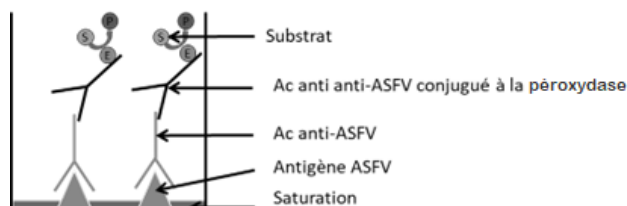
Q8. L'objectif est de développer une méthode de détection rapide, avec moins de matériel, de donner un résultat qualitatif (présence ou non du virus) et non quantitatif.

3. Évaluation d'une nouvelle voie d'administration d'un vaccin contre l'ASFV

Q9. Le SVF apporte des facteurs de croissance, des hormones (et des facteurs d'adhésion). Rôle d'agent mitogène.

Les antibiotiques empêchent le développement bactérien afin de prévenir la contamination du milieu de culture. L'EDTA est un chélateur de cations bivalents, utilisé en combinaison avec la trypsine, pour détacher les cellules adhérentes des surfaces des récipients de culture, afin de les mettre en suspension.

Q10.



Q11.

		Témoin d'efficacité	Témoins de spécificité		
Composition	Sensibilisation à l'antigène viral	+	—	+	+
	Saturation : protéines de lait	+	+	+	+
	Sérum avec anticorps anti-ASFV	+	+	—	—
	Sérum non immunisé sans anticorps anti-ASFV	—	—	—	+
	Conjugué : Ac anti anti-ASFV couplé à la peroxydase	+	+	+	+
	Solution de substrat	+	+	+	+
	Solution d'arrêt	+	+	+	+
Rôle : vérifier		l'efficacité de la réaction → Absence de faux négatif	la spécificité des anticorps anti-ASFV	la spécificité du conjugué	l'absence de fixation non spécifique → Absence de faux positifs
Résultats attendus		$A_{630\text{ nm}}$ élevée	$A_{630\text{ nm}}$ faible		

Q12. L'étape 3 correspond à l'étape de saturation. Elle permet de bloquer les sites de fixation non spécifiques afin d'éviter les faux résultats positifs.

Q13.

Pour le titre d'anticorps IgM :

Il est détectable à 7 jours après l'infection chez les animaux ayant reçu une inoculation orale et ayant maintenu des titres relativement élevés (10^2 - 10^3) jusqu'à 14 jours après l'infection.

La réponse IgM chez les animaux inoculés par voie intramusculaire est apparue retardée (11^e jour après l'infection) et avec un titre inférieur (max 10^2) à celui des animaux inoculés par voie orale.

La réponse primaire par voie orale est plus importante que par la voie intramusculaire.

Pour le titre d'anticorps IgG :

Il est détecté à 11 jours après l'infection, augmentant jusqu'au 28^e jour. Les titres maximums observés sont au 28^e jour entre 10^3 - 10^4 .

Aucune différence n'a été observée dans les titres d'IgG des animaux inoculés par voie orale ou intramusculaire. L'efficacité de la réponse immunitaire à médiation humorale, suite à l'administration par voie orale est comparable à celle par voie intramusculaire. L'administration par voie orale est efficace.

Q14. Groupe 1 : après 6 jour, on observe 100 % de mortalité → absence d'immunité naturelle.

Groupes 2 et 3 : pour les deux groupes vaccinés, on observe une protection identique avec 100 % de survivants. Les deux modes d'administration donnent des résultats similaires.

Q15. Les anticorps produits par l'immunisation par voie orale aboutissent à une protection de 100 % de la population testée. Ils sont donc efficaces et montrent que ce vaccin peut être utilisé contre l'ASFV par voie orale.

Éléments de corrigé de sciences et technologies bioindustrielles 2022

Voie de valorisation des algues brunes

1. Étude du procédé d'extraction des alginates

Q1. La détermination de la matière sèche permet de calculer le volume de Na_2CO_3 à 4 % (m/V) à ajouter en fonction de la masse de matière sèche obtenue pour la carbonatation.

Q2. 1 : alimentation – 2 : produit clarifié – 3 : assiette – 4 : évacuation des sédiments (boues)

Q3. Principe : séparation sous l'action de la force centrifuge d'une particule (résidu) en suspension dans une phase liquide (solution d'alginate).

La séparation est possible car les masses volumiques sont différentes pour les deux phases (résidus d'algues et solution d'acide alginique) : $\rho_{(\text{résidus d'algues})} > \rho_{(\text{phase liquide})}$ donc la vitesse de séparation est non nulle (loi de Stokes).

Les résidus d'algues, plus lourds, sont récupérés dans la chambre à boues par le bas et la solution d'alginate, plus légère, est récupérée par le haut.

Q4. Lorsque la température de centrifugation augmente, la viscosité de la phase liquide diminue. D'après la loi de Stokes, ceci augmente la vitesse de séparation centrifuge et diminue la durée de centrifugation.

Q5. Les limites de surveillance et de contrôle sont établies sur la base du paramètre statistique écart-type (s)

Cible $T = 39\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$. Les limites de surveillance sont : $\pm 2s$ et les limites de contrôle (ou d'action) sont : $\pm 3s$. Chaque jour la température de l'étuve est relevée et consignée par écrit sur la carte de contrôle. Cette méthode visuelle est rapide. Une dérive peut être rapidement observée.

Q6. Du 1^{er} au 30^{ème} jour, la T en °C relevée se situe entre LSI et LSS. Mais à partir du 23^{ème} jour on observe 8 points successifs qui dérivent de façon croissante et se rapprochent de la limite supérieure de surveillance (règle 5). Le procédé a subi un dérèglement.

Une action corrective serait de vérifier l'étalonnage de la sonde de température et de la ré-étalonner si nécessaire.

2. Les crèmes cosmétiques

Q7. L'intérêt pour l'entreprise de hausser son niveau d'exigence se traduira par la satisfaction des clients, une diminution des non-conformités et donc des pertes.

Q8. La masse du pot correctement remplie est de $(147,50 \pm 0,10)$ g soit $[147,40\text{ g} - 147,60\text{ g}]$.

2 pots en classe 1 ont une masse inférieure à 147,40 g et 0 pot en classe 7 ont une masse supérieure ou égale à 147,60 g.

2 pots sur un lot de 1000 pots représentent 0,2 % de non-conformité. $0,2\% < 0,3\%$ donc le contrôle est conforme et le lot est accepté.

Q9. NQA est le Niveau de Qualité Acceptable qui correspond au % de Non Conformés (NC) toléré dans le lot.

Q10. « n » = effectif d'échantillonnage ; « A » = critère d'acceptation : nombre maximum d'individus NC dans l'échantillon pour accepter le lot. « R » = critère de refus : nombre d'individus NC dans l'échantillon à partir duquel le lot est refusé.

D'après la table 1 du document 5 : l'effectif du lot est de 5 000 pots → lettre code = L et l'effectif de l'échantillonnage $n = 200$ selon la table 2. Le NQA étant de 0,25 % on a donc $A = 1$ et $R = 2$.

Q11. Si l'entreprise veut augmenter son niveau de qualité cela consiste à réduire le nombre de pots non conformes et donc le NQA. D'après la table 2 on passerait d'un NQA à 0,25 % à 0,065 %.

Q12. Les éléments d'étiquetage permettant la traçabilité sont le code barre (ou dénomination) et le N° de lot.

Q13. Exemple d'éléments concrets à argumenter : observation de moisissures, changement de couleur de la crème, changement de texture de la crème, allergie développée par le consommateur...

L'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé) est chargée de la cosmétovigilance (vigilance sanitaire concernant les produits cosmétiques).

Q14. Exemples de rôles possibles de l'alginate : gélifiant, texturant.

3. La démarche qualité de l'entreprise ALGI-France

Q15. L'audit interne est un contrôle permettant de s'assurer de ce qui est fait en fonction de ce qui doit être fait. « C'est une activité indépendante et objective qui donne à une organisation une assurance sur le degré de maîtrise de ses opérations ».

Il est réalisé soit par le personnel de l'entreprise, soit par des tiers sans sanction directe pour le service audité.

Il est fait dans un souci d'amélioration continue (conseil, implication du personnel, motivation...).

Il peut aboutir à des directions d'actions correctives.

SESSION 2023 - Éléments de corrigé

Éléments de corrigé de mathématiques 2023

EXERCICE 1

PARTIE A

1. $y' + 0,05y = 0 \Rightarrow y' = -0,05y$. Les solutions de l'équation homogène sont les fonctions $f_1(t) = Ke^{-0,05t}$ avec $K \in \mathbb{R}$.
2. Soit f_2 une solution particulière de (E). f_2 est une fonction constante, on pose donc $f_2(t) = a$ avec a une constante réelle.

f_2 vérifie $f_2'(t) + 0,05f_2(t) = 1,25$. Comme $f_2(t) = a$ alors $f_2'(t) = 0$

D'où $0,05f_2(t) = 1,25$ soit $f(t) = a = \frac{1,25}{0,05} = 25$.

3. On en déduit l'ensemble des solutions de (E) : $y = Ke^{-0,05t} + 25$ avec $K \in \mathbb{R}$.
4. f est une solution de (E) $\Rightarrow$ il existe un réel K_1 tel que $f(t) = K_1e^{-0,05t} + 25$.

Pour $t = 0$ on a donc $f(0) = K_1e^{-0,05 \times 0} + 25 = 38 \Rightarrow K_1 + 25 = 38$. Soit $K_1 = 13$.

La fonction f solution de (E) telle que $f(0) = 38$ s'écrit donc $f(t) = 13e^{-0,05t} + 25$ avec $t \in [0, +\infty[$.

PARTIE B

1. $f(24) = 13e^{-0,05 \times 24} + 25 = 13e^{-1,2} + 25 \approx 28,9$.

24 h après la coupure de l'alimentation électrique, la température de l'eau du spa est d'environ 28,9 °C.

2.

- a) Pour tout $t \in [0, +\infty[: f'(t) = 13 \times (-0,05)e^{-0,05t} = -0,65e^{-0,05t}$.
- b) $f'(t) < 0$ car $e^{-0,05t} > 0$ et $-0,65 < 0$. On en déduit que f décroît sur $[0, +\infty[$. Ceci est cohérent dans le contexte de l'exercice. La température de l'eau ne peut être maintenue à 38 °C suite à la coupure l'alimentation électrique du spa. Il est normal que la température de l'eau diminue, la température extérieure de 25 °C étant inférieure à la température initiale de l'eau.

3.

- a) $\lim_{t \rightarrow +\infty} -0,05t = -\infty$ donc par composée $\lim_{x \rightarrow +\infty} e^{-0,05t} = 0$.

$\Rightarrow \lim_{x \rightarrow +\infty} f(t) = \lim_{x \rightarrow +\infty} 13e^{-0,05t} + 25 = 13 \times 0 + 25 = 25$.

- b) La température de l'eau du spa tendra à se stabiliser autour de 25 °C au bout d'un grand laps de temps.

4.

- a) L'alarme se déclenche lorsque la température est inférieure à 36°C $\Rightarrow$ on résout l'équation $f(t) = 36$.

$$13e^{-0,05t} + 25 = 36 \Leftrightarrow e^{-0,05t} = \frac{11}{13} \Leftrightarrow -0,05t = \ln\left(\frac{11}{13}\right) \Leftrightarrow t = \frac{\ln\left(\frac{11}{13}\right)}{-0,05} \approx 3,34.$$

Soit 3,34 h = 3 h + 0341 x 60 $\approx$ 3 h 20 min. L'alarme se déclenche 3 h 20 min environ après la coupure de l'alimentation.

- b) La valeur H affichée est de 8.
- c) Cet algorithme détermine au bout de combien d'heures la température de l'eau du spa devient inférieure à 34 °C.

EXERCICE 2

PARTIE A

1.

a) Moyenne de la série : $\bar{x} = 76$; écart-type : $\sigma \approx 18,22$ à 0,01 près.

b) Avec : $\sigma = 18$: $[\bar{x} - 2\sigma ; \bar{x} + 2\sigma] = [76 - 2 \times 18 ; 76 + 2 \times \sigma] = [40 ; 112]$.

Les 5 valeurs de la série appartiennent à cet intervalle donc le technicien n'a pas besoin de procéder à un test sur 5 nouveaux échantillons de pâtes.

2. Le taux d'humidité H en % du mélange des 2 chargements est : $\frac{29540 \times 12,4 + 14540 \times 14,1}{29540 + 14540} \approx 12,96 \%$.

Le taux d'humidité du mélange étant inférieur à 13 %, le déchargement des deux camions dans un même silo est autorisé.

PARTIE B

1. $P(\text{sac non vendu}) = P(X \leq 25) \approx 0,023$. La probabilité que la masse du sac soit inférieure à 25 kg est égale à 0,023 à 10^{-3} près.

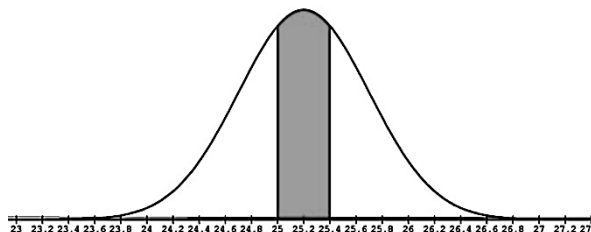
2.

a) On sait que X suit une loi normale $\mathcal{N}(25,2 ; 0,1)$. On résout donc $P(25,2 - h \leq X \leq 25,2 + h) \approx 95 \%$. La calculatrice indique $X_{\max} = 25,396 = 25,2 + h \Rightarrow h \approx 0,2$ à 10^{-1} près.

b) On sait que $P(25,2 - h \leq X \leq 25,2 + h) = P(25,0 \leq X \leq 25,4) \approx 95 \%$. Cela signifie que la masse d'un sac pris au hasard appartient à l'intervalle $[25 ; 25,4]$.

Graphiquement, l'aire sous la courbe de densité associée à loi normale $\mathcal{N}(25,2 ; 0,1)$, délimitée par la courbe, l'axe des abscisses et les droites d'équation $x = 25$ et $x = 25,4$ doit correspondre à 95 % de l'aire totale sous la courbe.

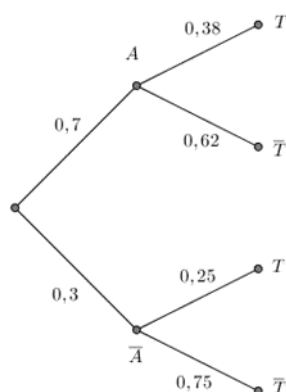
Ce qui n'est pas le cas dans la représentation de l'énoncé.



La représentation ne peut être celle de la fonction de densité de la variable aléatoire X .

PARTIE C

1. Arbre pondéré



2.

- a) $P(A \cap T) = P(A) \times P_A(T) = 0,7 \times 0,38 = \mathbf{0,266}$. La probabilité que le client soit un artisan boulanger qui accepte de tester la farine *La Romaine* est égale à 0,266.
- b) On applique la formule des probabilités totales : $P(T) = P(A \cap T) + P(\bar{A} \cap T) = 0,266 + 0,3 \times 0,25 = 0,341$. La probabilité que le client accepte de tester la farine la romaine est égale à 0,341.

3. On calcule $P_T(A) = \frac{P(A \cap T)}{P(T)} = \frac{0,266}{0,341} \approx 0,780$. La probabilité qu'un client ayant testé la farine *La Romaine* soit un artisan boulanger est égale 0,780 environ.

4. On admet que Y suit la loi binomiale $\mathcal{B}(200 ; 0,341)$.

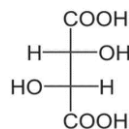
- a) « au plus de 60 » : $Y \leq 60$ donc $P(Y \leq 60) \approx 0,125$. La probabilité « qu'au plus 60 clients » aient testé la farine est égale à 0,125 environ.
- b) $E(Y) = n \times p = 200 \times 0,341 = 68,2$. On peut prévoir qu'en moyenne 68 clients environ testeront la farine *La Romaine*, parmi 200 clients pris au hasard.

Éléments de corrigé de sciences physiques et chimiques 2023

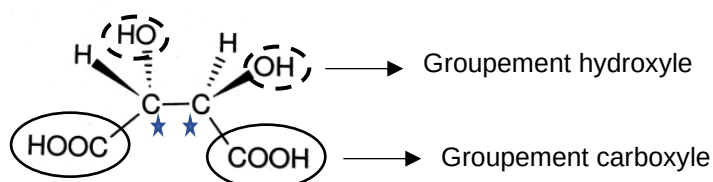
A. La découverte de la chiralité

Q1. Dextrogyre : solution qui dévie le plan de polarisation de la lumière polarisée dans le sens des aiguilles d'une montre (vers la droite). Énantiomères : stéréoisomères qui sont images l'un de l'autre dans un miroir et non superposables.

Q2. Représentation de Fischer du L-(+)-acide tartrique :



Q3.



Q4. La molécule d'acide tartrique possède 2 atomes de carbone asymétriques comme indiqué en question Q3.

Q5. On applique les règles de Cahn-Ingold-Prelog (règles C.I.P.). L'ordre des priorités des groupements est : OH > COOH > R > H. L'œil est placé à l'opposé du substituant classé 4. L'ordre croissant des constituant (classés 1, 2, 3) suit le sens des aiguilles d'une montre. Les 2 carbones asymétriques ont une configuration R : 2R et 3R.

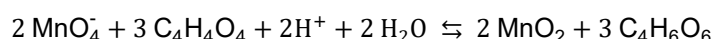
Q6. On observe vers 1710 cm^{-1} , un pic d'absorbance caractéristique de la liaison C=O des acides carboxyliques et un pic vers 3200 cm^{-1} caractéristique de la liaison O-H.

B. Quelques réactions autour de l'acide tartrique

Q7. Première demi-équation : $\text{MnO}_4^- + 3\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{MnO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$

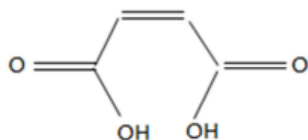
Deuxième demi-équation : $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6 + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+$

Pour écrire l'équation d'oxydo-réduction, il faut multiplier par 2 la première demi-équation et par 3 la deuxième. Après élimination des termes récurrents et équilibre de l'équation on obtient :

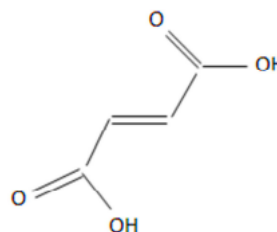


Q8.

Acide maléique de configuration Z

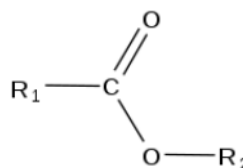


Acide fumarique de configuration E



Q9. $\text{HOOC}-\text{CHOH}-\text{CHOH}-\text{COOH} + 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \rightleftharpoons \text{H}_5\text{C}_2-\text{OOC}-\text{CHOH}-\text{CHOH}-\text{COO}-\text{C}_2\text{H}_5 + 2\text{H}_2\text{O}$

Q10. L'espèce A est H_2O et l'espèce E est un ester :



Q11. Dans ce mécanisme, l'ion H^+ est un catalyseur.

C. Détermination de la concentration d'une solution d'acide tartrique par polarimétrie

Q12. Le signe (+) indique que la molécule est dextrogyre.

Q13. La loi de Biot est : $\alpha = [\alpha] \cdot \ell \cdot c$.

L'équation de la droite de régression de la courbe étalon est $\alpha = 0,037 C + 0,048$ avec R^2 de 0,9992. Le R^2 est très proche de 1 donc les points sont alignés. On peut estimer que la droite passe par l'origine car l'intercept à l'axe des ordonnées a une valeur faible devant les ordonnées.

Le coefficient directeur de la droite a pour expression $[\alpha] \cdot \ell$ donc $[\alpha] = \frac{0,037}{0,300} = 0,12 \text{ } ^\circ \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$. Cette valeur est en accord avec celle de l'énoncé ($0,125 \text{ } ^\circ \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$).

Q14. On déduit de la loi de Biot que $c_1 = \frac{\alpha}{[\alpha] \cdot \ell} = \frac{5,6}{0,125 \times 0,300} = 149 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. L'incertitude-type de la mesure est de $0,06 \text{ } ^\circ$ donc celle sur la concentration est de $\frac{0,06}{0,125 \times 0,300} = 2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Q15. La concentration massique obtenue est bien comprise dans l'intervalle $147 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} < c_1 < 153 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Le contrôle effectué valide la préparation du technicien.

D. Détermination de la concentration d'une solution d'acide tartrique par titrage pH-métrique

Q16. Pour réaliser 50 mL de solution diluée 10 fois, il faut prélever 5,0 mL de solution S_1 . On utilisera une pipette jaugée de 5,0 mL avec une propipette, une fiole jaugée de 50 mL avec bouchon et un bécher.

Q17. La différence entre les pK_a de l'acide tartrique est égale à $4,37 - 3,04 = 1,33 < 4$. Les valeurs des deux pK_a sont trop proches pour distinguer les deux acidités. En conséquence, un seul saut de pH sera observé sur la courbe et les 2 acidités sont dosées presque en même temps.

Q18. Par la méthode des tangentes, le volume équivalent est $V_{eq \text{ sol B}} = 10,0 \text{ mL}$.

Q19. À l'équivalence : $n_{(\text{acide tartrique}) ; V_1} = \frac{1}{2} \cdot n_{(\text{HO}^- ; V_{eq})}$. Le modèle de mesure est : $c_1 \text{ diluée} \cdot V_1 = \frac{1}{2} \cdot c_B \cdot V_{eq \text{ sol B}}$.

On en déduit $c_1 \text{ diluée} = \frac{c_B \cdot V_{eq \text{ sol B}}}{2 \cdot V_1} = \frac{0,10 \times 10}{2 \times 5} = 0,10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Or $c_1 = c_1 \text{ diluée} \times 10 = 1,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Ce dosage permet vérifier que la solution c_1 préparée par le technicien est conforme et est en accord avec le contrôle réalisé par polarimétrie.

E. Étude de la solubilité de l'hydrogéntartrate de potassium

Q20. L'équation de dissolution de l'hydrogéntartrate de potassium est : $\text{KC}_4\text{H}_5\text{O}_6 (\text{s}) \rightarrow \text{K}^+_{(\text{aq})} + \text{C}_4\text{H}_5\text{O}_6^-_{(\text{aq})}$.

Q21. $K_s = [\text{K}^+] \cdot [\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_6^-]$. Or $[\text{K}^+] = [\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_6^-] = s$. Donc la relation est : $K_s = s^2$ donc $s = \sqrt{K_s}$.

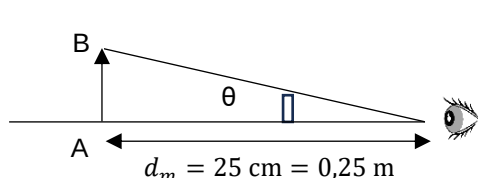
Q22. La solubilité en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ de $3,0 \times 10^{-2}$ et en $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ est de 5,7.

Étude des cristaux d'acide tartrique au microscope

Q23. L'image intermédiaire A_1B_1 doit se former dans le plan focal objet de la lentille oculaire L_2 pour avoir une image définitive $A'B'$ rejetée à l'infini.

Q24. $G_c = \frac{16 \times 25}{0,40 \times 2,0} = 500$.

Q25.



$$\tan \theta = \frac{AB}{0,25}.$$

L'angle θ est petit donc $\tan \theta \approx \theta$.

$$\theta \approx \frac{100 \times 10^{-6}}{0,25} = 4,0 \times 10^{-4} \text{ rad.}$$

Q26. $\theta' = 500 \times \theta = 0,20 \text{ rad}$.

Q27. Le cristal d'acide tartrique est visible à l'œil nu car $\theta > \theta_E$.

Q28. L'avantage du microscope est de grossir suffisamment l'image des cristaux d'acide tartrique afin que leur forme soit bien visible.

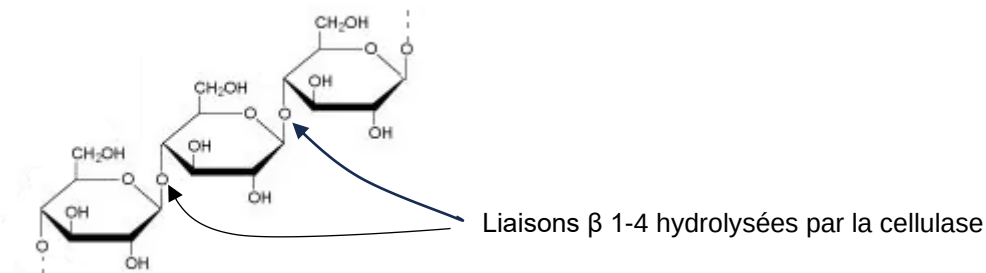
Éléments de corrigé de biochimie et de technologies d'analyse 2023

Production et purification de l'acide lactique dans le cadre de la valorisation des biodéchets par production de bioplastique

1. Transformation des déchets organiques en acide lactique

Q1. Pictogramme : toxique pour la santé – le produit utilisé présente un danger pour l'appareil respiratoire par inhalation. Porter les EPI + masque si la ventilation du local est insuffisante ou sous hotte.

Q2.



Q3. Nombre de mole de résidus glucose dans 500 mL : $n_{(\text{résidu glucose}, V_{\text{milieu}})} = \frac{\rho_{(\text{cellulose, sol})} \times V_{\text{milieu}}}{M_{\text{résidu glucose}}} = \frac{40 \times 0,5}{162} = 0,1235 \text{ mol}$. Or une unité cellulasique libère 1 μmol de glucose en 1 h dans les conditions opératoires. L'activité cellulasique minimale nécessaire pour cette fermentation durant 100 h est donc de :

$$Z_{\text{cellulasique nécessaire}} = \frac{\Delta n_{\text{glucose libéré}}}{\Delta t} = \frac{0,1235 \times 10^6}{100} = 1235 \text{ U}$$

Pour le test, on utilise 0,1 g de cellulase d'activité cellulasique massique $z_{\text{massique}} = 22\,000 \text{ U/g solide}$. Ceci correspond à l'activité : $z_{\text{cellulasique utilisée}} = z_{\text{massique}} \times m_{\text{cellulase utilisée}} = 22\,000 \times 0,1 = 2\,200 \text{ U} > 1\,235 \text{ U}$. $2\,200 > 1\,235$ donc la masse de cellulase utilisée est suffisante.

Q4. Pyruvate : $\text{CH}_3\text{-CO-COO}^-$ Lactate : $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH-COO}^-$ L'enzyme ⑪ : lactate deshydrogénase

Q5. Équation bilan : $\text{D-glucose} + 2 \cdot (\text{ADP} + \text{Pi}) + 2 \text{NAD}^+ \rightarrow 2 \text{lactate} + 2 \text{ATP} + 2 \text{H}_2\text{O} + 2 \text{NADH}, \text{H}^+$
Intérêt métabolique : réoxydation des coenzymes réduits (NADH) en NAD^+ , indispensable pour la phase de remboursement de la glycolyse (étape 6) afin de produire de l'ATP.

Q6. Les trois enzymes clés de la régulation sont : l'hexokinase, la phosphofructokinase et la pyruvate deshydrogénase. Les réactions catalysées par ces enzymes sont des réactions irréversibles du fait de leur $\Delta rG' \ll 0$ (très exergoniques).

2. Quantification et optimisation de la production d'acide D-lactique

Q7. Paramètres de séparation : taille (exclusion diffusion) et la charge (échange d'ions).

Q8. D'après le chromatogramme de l'étalon l'acide lactique (pic N°8) est élué à un t_r légèrement supérieur à 11,83 min.

Par comparaison de la hauteur des pics de l'acide lactique entre la souche sauvage et celle des différents mutants, on en conclue que le mutant QZ19 permet une production maximale d'acide lactique.

Q9. C'est une méthode de dosage enzymatique en point final car on attend la fin de réaction : les temps d'incubation sont à titre indicatif. L'intérêt de la D-GPT : les LDH catalysent des réactions réversibles, La D-GPT permet de déplacer l'équilibre de la réaction vers la consommation du lactate et les rendre totales.

Q10. Détermination du facteur 320 : $n_{(\text{lactate}, V_{pe})} = n_{(\text{NADH}, V_{\text{totale}})}$

$\rightarrow c_{(\text{D-lactate ; surnageant dilué})} \times V_{(pe \text{ surnageant dilué})} = c_{(\text{NADH ; sol totale})} \times V_{(sol \text{ totale})}$ avec selon la loi de Beer - Lambert $c_{(\text{NADH ; sol totale})} = \frac{\Delta A}{\epsilon_{\text{NADH}} \times \ell}$. Il faut tenir compte du FD = 1000 pour avoir $c_{(\text{D-lactate ; surnageant})}$ et de la masse molaire $M_{\text{D-lactate}}$ pour avoir $\rho_{(\text{D-lactate ; surnageant})} = c_{(\text{D-lactate ; surnageant})} \times M_{\text{D-lactate}}$

Donc $\rho_{(D-lactate ; surnageant)} = \frac{\Delta A}{\epsilon_{NADH} \times \ell} \times \frac{V_{(sol\ totale)}}{V_{(pe\ surnageant\ dilué)}} \times FD \times M_{D-lactate}$. Le facteur $K = 320$ correspond donc à : $K = \frac{1}{\epsilon_{NADH} \times \ell} \times \frac{V_{(sol\ totale)}}{V_{(pe\ surnageant\ dilué)}} \times FD \times M_{D-lactate} = \frac{1}{(6\ 300 \times 1)} \times \frac{1,12}{0,05} \times 1000 \times 90,1 = 320 \text{ (UA}^{-1} \cdot \text{g} \cdot \text{L}^{-1}\text{)}$.

Détermination du ΔA

$$\begin{array}{l} \text{Blanc (B)} \quad \left. \begin{array}{l} A_1 = A_{cuve} + A_{ech} + A_{sol\ 1+2+susp\ 3} \\ A_2 = A_{cuve} + A_{ech} + A_{sol\ 1+2+susp\ 3} + A_{susp\ 4} \end{array} \right\} \Delta A_B = (A_2 - A_1)_T = A_{susp\ 4} \\ \text{Essai (E)} \quad \left. \begin{array}{l} A_1 = A_{cuve} + A_{ech} + A_{sol\ 1+2+susp\ 3} \\ A_2 = A_{cuve} + A_{ech} + A_{sol\ 1+2+susp\ 3} + A_{susp\ 4} + A_{NADH} \end{array} \right\} \Delta A_E \\ \text{Avec } \Delta A_E = (A_2 - A_1)_e = A_{susp\ 4} + A_{NADH} \end{array}$$

Donc pour avoir l'absorbance provenant seulement du NADH il faut calculer : $\Delta A_{(D-AL)} = \Delta A_E - \Delta A_B$.

Q11. $\Delta A_{(D-AL)} = (0,802 - 0,532) - (0,438 - 0,437) = 0,269$ et $\Delta A_{(L-AL)} = (0,824 - 0,802) - (0,460 - 0,438) = 0$.

Donc $\rho_{(D-lactate ; surnageant)} = 0,269 \times 320 = 86,08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ et $\rho_{(L-lactate ; surnageant)} = 0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Conclusion : cette souche produit du D-lactate.

Q12. Rôle de l'étalon interne : s'affranchir de la variabilité des volumes d'injections et des paramètres physico-chimiques du chromatographe.

Caractéristiques essentielles : absent de l'échantillon, pur, pic et temps de rétention voisins mais distincts des autres solutés à séparer, propriétés physico-chimiques proches des solutés à séparer. L'étalon interne est ajouté dans la solution étalon mixte et dans les essais en quantité constante.

Q13. Par le chromatogramme du témoin : identification des temps de rétention du L-lactate = 21,87 min et du D-lactate = 28,82 min. Au niveau du chromatogramme de l'essai : absence du pic correspondant au L-lactate (et donc de son t_R) mais présence du pic D-lactate avec le temps de rétention de 28,85 min. donc cette souche produit bien que du D-lactate.

Q14.

$$C_{(D-lactate ; sol)} = \frac{C_{(D-lactate ; \text{étalon})} \times R_{\text{essai}}}{R_{\text{étalon}}} \times FD = \frac{100 \times \frac{1\ 814\ 791}{1\ 548\ 707}}{\frac{1\ 292\ 160}{1\ 450\ 877}} \times 10 \approx 1\ 317 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}.$$

3. Purification de l'acide lactique

Q15. Les bactéries se retrouvent dans le rétentat de la microfiltration car la taille des bactéries (de l'ordre de 0,5 - 5 μm) est supérieure à la taille des pores de la membrane (0,2 μm).

Intérêt de la microfiltration : éliminer du milieu les particules, colloïdes, bactéries, macromolécules de taille > 0,2 μm . Ces derniers se retrouvent dans le microrétentat. Cela permet d'éviter le colmatage de la membrane OS15 utilisée en nanofiltration.

Intérêt de la nanofiltration : éliminer du micropérméat les protéines, glucides, ions d'une certaine taille. Le nanopérméat (NP) contient essentiellement du D-lactate ainsi purifié.

Q16. Rendement de récupération de l'acide lactique :

$$\begin{aligned} R &= \frac{m_{(ac.\ lactique, \text{ nanopérméat})}}{m_{(ac.\ lactique, \text{ milieu inactivé})}} \times 100 = \frac{\rho_{(ac.\ lactique ; \text{ nanopérméat})} \times V_{\text{nanopérméat}}}{\rho_{(ac.\ lactique ; \text{ milieu inactivé})} \times V_{\text{milieu inactivé}}} \times 100 \\ R &= \frac{293,5 \times 76,6}{349 \times 90,4} \times 100 \approx 71 \%. \\ P &= \frac{m_{(ac.\ lactique, \text{ nanopérméat})}}{m_{(\text{solutés}, \text{ nanopérméat})}} \times 100 = \frac{76,6 \times 293,5}{(1,0 + 76,6 + 0,54) \times 293,5} \times 100 \approx 98 \%. \end{aligned}$$

Q17. En fin de fermentation pH = 5 > pKa de l'acide lactique (3,86), il se retrouve donc sous sa forme anionique. On utilisera donc une résine échangeuse d'anions pour le fixer.

Q18. Comparaison sous forme de tableau :

Méthodes	1 : Microfiltration + nanofiltration	2 : Ultrafiltration + 2 chromatographies d'échange d'ions
Rendement R	72 %	<< 99 %
% de pureté P	98 %	≈ 99 %

Choix de la méthode 2 : moins de pertes et un enrichissement légèrement meilleur.

Éléments de corrigé de microbiologie et de technologies d'analyse 2023

Recherche de *Listeria monocytogenes* en industrie alimentaire et essais de bioprotection

1. Contrôles microbiologiques dans l'entreprise

Q1. *Listeria monocytogenes* est classée dans les critères de sécurité car c'est un microorganisme pathogène que l'on ne veut pas retrouver dans le produit fini. En cas de non respect du critère, le lot est rejeté du marché (Doc1/extrait2). Le critère d'hygiène du procédé concerne les produits pendant la transformation et non en fin de production.

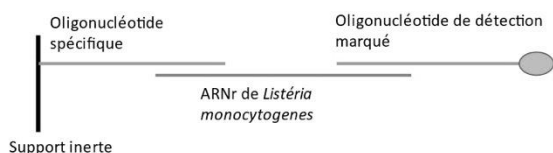
Q2. Les méthodes alternatives réduisent le temps des procédures opératoires par rapport aux méthodes de référence.

Q3. C'est une étape de pré-enrichissement (sélectif) : on met l'échantillon dans le bouillon Fraser 1/2 pour favoriser la croissance des *Listeria* par rapport aux autres microorganismes et les remettre en bonnes conditions de croissance pour les autres étapes. Cela permet de les détecter même en très faible quantité.

Q4. Le milieu ALOA est un milieu empirique (digestats) ; enrichi (extraits de levures), sélectifs (inhibiteurs tels que chlorure de lithium et ATB), chromogénique /différentiel (substrat X-glucoside et phosphatidylinositol).

Q5. L'extrait de levure contient des facteurs de croissance (vitamines...) présents uniquement dans cette source.

Q6. Schéma de principe :



Q7. L'utilisation de l'ARNr entraîne une très bonne spécificité et sensibilité de la méthode. Il y a en sus un gain de temps : 24 h + 20 min pour analyser 96 échantillons avec cette méthode contre 3 jours avec la méthode de référence.

2. Mise en place d'un nouveau protocole de décontamination des surfaces

Q8. Calcul du titre des 2 suspensions avec l'équation aux grandeurs données (document 5).

$$N_{(suspension\ 1)} = 3,5 \cdot 10^8 \text{ UFP} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ et } N_{(suspension\ 2)} = 3,5 \cdot 10^9 \text{ UFP} \cdot \text{mL}^{-1}$$

Pour les expériences suivantes, la suspension de phages doit être ajustée à $3,5 \cdot 10^8 \text{ UFP} \cdot \text{mL}^{-1}$, on utilisera donc la suspension 1 pour les tests.

Q9. Analyse du document 6 : les surfaces sont contaminées avec *Listeria monocytogenes* de façon similaires (control). Les phages utilisés en suspensions pures permettent de réduire le nombre de *Listeria monocytogenes* présents sur les surfaces d'environ 3 log. L'effet décontaminant est encore plus marqué avec le mélange des 3 phages (diminution de 4 log). La décontamination avec les phages semble plus efficace sur les surfaces en acier inoxydable que les surfaces en polypropylène.

Q10. Analyse du document 7 : les surfaces sont contaminées avec *Listeria monocytogenes* de façon similaires (control). Le Quatal 20 ppm a bien un effet décontaminant : il permet de réduire le nombre de bactéries de 3 log sur les 2 surfaces.

Q11. Le mélange de phages est plus efficace que le Quatal 20 ppm pour décontaminer les 2 types de surfaces.

Q12. Les freins à l'utilisation des phages dans les IAA sont :

- la spécificité phages / bactéries à éliminer ;
- la préparation plus longue et obligatoire sur des cultures bactériennes ;
- la stabilité dans le temps inconnu ;
- la mutation possible des bactéries qui deviendraient résistantes.

3. Réalisation de tests de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre cru

Q13. L'écart type est de $0,2 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$, donc il est inférieur à $0,3 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$: le test de croissance est validée.

Calcul du potentiel de croissance $\Delta = \log_{\max} - \log_i$:

Lot	1	2	3
$\Delta : \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$	2,28	3,01	2,82

Les valeurs obtenues pour chaque lot sont supérieures à $0,5 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$, donc le beurre cru permet la croissance de *Listeria monocytogenes*.

Q14. Les termes adaptés pour qualifier *Listeria monocytogenes* sont :

- psychrotrophe (et mésophile) car culture à température froide (jusqu'à 0°C) mais optimum à $30-37^\circ \text{C}$;
- neutrophile car culture optimale à pH 7 ;
- halotolérante car culture avec des concentrations en sels de 13 à 14 % ;
- xérophile car culture en milieu xérotrophe avec un $A_w = 0,9$.

Q15. *Listeria monocytogenes* se développe avec un $A_w = 0,9$ et jusqu'à un pH = 4. Elle peut donc croître dans le beurre fermier avec $A_w = 0,91$ et un pH = 6,5.

4. Réalisation d'un test de croissance de *Listeria monocytogenes* pour optimiser les conditions de conservation du beurre cru fermier

Q16. Phase de latence d'environ 7 jours – phase d'accélération d'environ 3 jours – phase de croissance exponentielle de 24 jours et phase de ralentissement de 15 jours et plus...(absence de phase stationnaire).

Q17. $\log N_1 - \log N_2 = \log 2 = 0,3 \rightarrow G = t_2 - t_1$ avec $\log N_1$ et $\log N_2$ pris dans la phase exponentielle.

Exemple : $\log N_1 = 3,83$ ($t_1 = 18 \text{ j}$) $\rightarrow \log N_2 = 3,83 + 0,3 = 4,13$ ($t_2 \approx 19 \text{ j}$).

Temps de génération $G = t_2 - t_1 = 19 - 18 = 1 \text{ j}$.

La vitesse de croissance spécifique $Q_x = \frac{\ln 2}{G} = \frac{0,7}{1} = 0,7 \text{ j}^{-1}$.

Q18. Pendant la durée de conservation préconisée (50 j) *Listeria monocytogenes* se multiplie de façon importante. Proposition de réduire la durée à 10 j avec réfrigération à 4°C pour limiter la croissance.

Éléments de corrigé de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse 2023

Intérêt de la production bio-industrielle de β -carotène

1. Amélioration de la production naturelle de β -carotène chez *Dunaliella salina*

Q1. L'ARN guide est complémentaire et spécifique de la séquence à couper. Il positionne Cas9 pour une coupure à un site précis de l'ADN.

Q2. Les enzymes de restriction reconnaissent des séquences de 4 à 6 pb, appelées sites de restriction, présentes à différents endroits de l'ADN.

Cas9 est plus adaptée car elle permet de choisir la localisation précise du site de coupure et présente une plus grande spécificité de par la complémentarité de l'ARN guide avec la séquence cible.

Q3. Éléments caractéristiques d'un vecteur d'expression : origines de réplication, gènes de sélection, promoteurs et terminateur de transcription.

Q4. Séquences exprimées du système CRISPR-Cas9 :

- séquence de l'ARN guide : gRNA scaffold ;
- gène de l'endonucléase : zCas9.

Q5. L'ARN guide cible des exons car les introns sont éliminés à l'épissage et ne sont pas codants. Seuls les exons sont conservés à l'épissage et sont codants.

La modification doit porter sur une région codante pour inactiver la β -carotène hydroxylase.

Q6. Contrôles :

- piste 4 : vérifie l'absence de coupure par Cas9 en absence d'ARN guide ;
- piste 5 : vérifie l'intégrité de l'amplicon seul ;
- pistes 6,7,8 : vérifient l'absence d'hydrolyse de l'amplicon en absence de cas9.

Tous les contrôles présentent une absence de clivage de l'amplicon donc sont conformes et permettent de valider la manipulation.

Q7. Les pistes 1 et 2 présentent 2 bandes donc l'amplicon a été clivé par Cas9 en présence des sgRNA1 et sgRNA2. Ces sgRNA ont donc reconnu spécifiquement la séquence cible pour permettre à Cas9 de couper.

La piste 3 ne présente qu'une bande donc sgRNA3 n'a pas permis à Cas9 de couper l'ADN.

Conclusion : les sgRNA 1 et 2 sont efficaces mais pas le sgRNA 3.

Q8. Le traitement de la souche sauvage (W) pendant 24 h sous haute lumière permet presque de doubler la production de β -carotène ce qui valide les conditions de stress lumineux.

Sous stress lumineux, les souches mutées T2 et T3 présentent significativement plus de β -carotène que la souche sauvage (respectivement environ $1,3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ et $1,4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ contre $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Sous stress lumineux, la souche mutée T4 produit environ $0,7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ de β -carotène soit moins que la souche sauvage.

Conclusion : en termes de production de β -carotène, les souches mutées T2 et T3 sont intéressantes et non la souche T4.

2. Exemple d'utilisation du β -carotène dans l'industrie pharmaceutique

Q9. Rôles des composants du milieu de culture :

- SVF : apport de facteurs de croissance, de facteurs d'adhérence et d'inhibiteur de trypsine ;
- Pénicilline et streptomycine : antibiotiques qui préviennent les contaminations bactériennes.

Q10. Composition du puits contrôle de culture cellulaire: cellules HepG2 et milieu de culture (et réactifs du test au MTT).

Q11. Rôle du contrôle : constitue une référence correspondant à 100 % de viabilité cellulaire.

Q12. En absence de β -carotène, la viabilité est de 100 % ce qui valide l'absence de toxicité de l'éthanol utilisé comme solvant.

Pour des concentrations croissantes en β -carotène inférieures ou égales à $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, la viabilité cellulaire diminue de façon limitée jusqu'à 70 %. Pour une concentration de β -carotène de $15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ la viabilité baisse de façon importante à environ 25 %.

Concernant la morphologie des cellules, on observe une modification essentiellement pour une concentration de $15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ avec une disparition des prolongements cytoplasmiques.

Conclusion : le β -carotène modifie la morphologie cellulaire et diminue leur viabilité. Il présente donc un effet cytotoxique sur les cellules HepG2.

Q13. Modifications morphologiques d'une cellule apoptotique :

- gonflement des cellules,
- fragmentation en corps apoptotiques.

Q14. Effet du β -carotène sur l'expression de Bax et Bcl-2 :

Le western blot montre des bandes d'actine de même intensité pour toutes les pistes ce qui est conforme. Ce contrôle valide la bonne extraction des protéines pour toutes les conditions testées.

Quelles que soient les concentrations en β -carotène :

- les bandes de Bax au western blot présentent la même intensité,
- le taux d'expression de Bax comparé au contrôle est d'environ 100 %.

L'expression de Bax n'est donc pas modifiée par le β -carotène.

Quand les concentrations en β -carotène augmentent :

- les bandes de Bcl-2 au western blot présentent une intensité décroissante,
- le taux d'expression de Bcl-2 comparé au contrôle diminue de 100 % pour le témoin, à 40 % pour une concentration en β -carotène de $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

L'expression de Bcl-2 est donc inhibée par le β -carotène.

L'augmentation des concentrations en β -carotène provoque une augmentation du nombre de cellules apoptotiques. On multiplie ce nombre par 7 entre le témoin et la concentration $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Conclusion : en inhibant l'expression de Bcl-2 qui est une protéine anti-apoptotique, le β -carotène active l'apoptose des cellules HepG2.

Q15. Le β -carotène :

- a un effet cytotoxique sur les cellules HepG2 ;
- active l'apoptose des cellules HepG2 en inhibant l'expression de Bcl-2.

HepG2 sont des cellules cancéreuses provenant d'une tumeur du foie.

Donc le β -carotène est un candidat potentiel pour le traitement du cancer du foie.

Éléments de corrigé de sciences et technologies bioindustrielles 2023

Production d'un dessert végétal à base de jus d'avoine

1. Comparaison entre un jus végétal et le lait

Q1. Apports glucidiques :

- la boisson à base d'avoine a une teneur en glucides (7,8 %) deux fois supérieure à celle du lait (3,47%) ;
- qualitativement, le lactose est le glucide principal du lait or il est à état de trace dans la boisson à base d'avoine. Cette boisson est composée de glucides autres que le lactose comme l'amidon, le maltose.

Apports en fibres : absence de fibres pour le lait entier, le lait d'avoine peut apporter des fibres (0 à 10 %).

Apports en calcium : lait riche en calcium (117 mg/100 g) alors que le lait d'avoine en est dépourvu.

Q2. Les diabétiques doivent favoriser une alimentation avec un IG < 50 et un II < 100 – ces 2 boissons ont un IG proche (30 pour le jus d'avoine et 27 pour le lait) et inférieur à 50. Le jus d'avoine a une II < 100 alors que le lait entier à une II de 145 > 100 de part ses protéines et ses lipides. Le jus d'avoine semble plus intéressant pour les diabétiques car il stimule moins la sécrétion d'insuline.

2. Fabrication du jus d'avoine

Q3. Les grains d'avoine mondés sont réduits en très fines particules par le mélangeur à haut cisaillement à immersion. Cet appareil polyvalent permet en outre de mélanger, de mettre en suspension grâce à :

- l'aspiration permet aux grains mondés et aux liquides d'accéder à la tête de travail ;
- le broyage fin des grains mondés dans l'entrefer entre les extrémités des lames du rotor et la paroi intérieure du stator → obtention d'une suspension (partie non soluble comme l'écorce...) ;
- les produits obtenus sont mélangés grâce à l'étape 3 provoquant leur circulation dans le corps principal du mélange. Certains constituants sont solubilisés.

Q4. Étape 3 : centrifugation pour séparer les fibres du jus. Étape 5 : fin de l'hydrolyse de l'amidon en glucose (jus sucré).

Q5. $D_{60} = 3$ min et $z = 30$ °C donc cette augmentation de T de z °C ($T = 60 + 30 = 90$ °C) permet de réduire le D_T d'un facteur 10 : $D_T \rightarrow D_{90} = \frac{D_{60}}{10} = 0,3$ min. La durée de traitement = $6 \times 0,3 = 1,8$ min. Un traitement court et à température élevée permet de mieux préserver les molécules d'intérêt.

Q6. Les éléments ④ et ⑥ figurent dans l'énoncé.

1	Réservoir du produit à sécher	8	Cyclone secondaire
2	Pompe d'alimentation	9	Ventilateur
3	Atomiseur ou buse	10	Entrée d'air de séchage
5	Générateur de chaleur	11	Produit sec ou poudre
7	Chambre de séchage ou tour d'atomisation	12	Air humide

3. Processus de fabrication et qualité d'un dessert végétal

Q7. Lors de la fermentation du lait à 45 °C les bactéries lactiques se multiplient et fermentent le lactose. Les bactéries lactiques transforment le lactose en acide lactique lors de la fermentation lactique (hydrolyse du lactose en D-gal et D-glc → Transformation des oses en acide pyruvique lors de la glycolyse et de l'acide pyruvique en acide lactique par la fermentation lactique). Conséquence de la fermentation : Acidification d'un lait par l'acide lactique produit. Le traitement thermique ainsi que l'abaissement du pH au pHi des caséines conduit à la coagulation des caséines du lait permettant la formation d'un gel (agrégation des micelles de caséines).

Q8. Paramètres : pH suivi au pHmètre et / ou viscosité par un viscosimètre et un pénétromètre (yaourt)

Q9. Pasteurisation : destruction de la flore pathogène et stabilisation

Ensemencement : ajout de la flore utile

Refroidissement : arrêt de la fermentation et de la gélification

On a les mêmes étapes de fabrication lors des productions d'un yaourt et d'un dessert végétal.

- Les additifs : Apport de calcium + correcteurs d'acidité : citrate tricalcique (E333),
- correcteurs d'acidité (augmentation l'acidité et confère une saveur acidulée) : citrates de sodium (E331), acide citrique (E330),
- stabilisant et épaississant (agent de texture) : pectines (E440a),
- antioxygènes (limitation de l'oxydation du dessert et du rancissement de la matière grasse) (extrait riche en tocophérols (E306), esters d'acides gras de l'acide ascorbique (E304),

Q10. Les carraghénanes sont des longues chaînes osidiques sulfatés pouvant piéger, lier les molécules d'eau par établissement de liaison hydrogène avec les fonctions polaires du polysaccharide. Conséquence : gélification de la boisson.

En piégeant les molécules d'eau, on a une diminution de l'eau disponible et donc de l' A_w . L' A_w étant plus faible, la croissance des microorganismes se trouve limitée et améliore donc la conservation du produit.

Q11. Pour un lot de 100 000 unités la lettre code est N (soit effectif de 500 pour l'échantillon). Le NQA étant de 0,25 %, on a $Ac = 3$ et $Re = 4$.

Q12. Étapes de la certification :

- choix du référentiel : cahier des charges du label européen de l'agriculture biologique ;
- application du référentiel dans l'entreprise avec évaluation par audit interne (respect de l'origine des matières premières agricoles de l'UE ou non UE) ;
- audit externe de certification par un organisme certificateur.

4. Synthèse

Q13. Les inconvénients d'un dessert à base de jus d'avoine par rapport au yaourt :

- aspect nutritionnel : très faible teneur en protéines et donc en acides aminés essentiels ainsi qu'une absence de calcium, l'avoine faisant partie des céréales contient du gluten (indésirable lors de maladie cœliaque), moins de vitamines D, B2 et B12, plus d'acide gras saturés ;
- procédé de fabrication plus complexe (obtention du jus d'avoine + addition de nombreux additifs pour augmenter les qualités organoleptiques et texturantes, supplémenter en calcium...).

Les avantages :

- aspect nutritionnel et santé : IG faible associé à un indice insulémique bas est une boisson adaptée aux diabétiques. Faible teneur en lactose (convient aux intolérants au lactose). Riche en fibre (transit intestinal + satiété), Présence de davantage d'acide gras polyinsaturés ;
- utilisation de produits végétaux associés à des filières courtes.