

**BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET
LES BIO-INDUSTRIES**

Session 2003

E3 - BIOCHIMIE - BIOLOGIE

Durée : 4 heures

Coefficient : 5

Code : QABIOCH

page 0/8

BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

SESSION 2003

E3 – BIOCHIMIE – BIOLOGIE – U3

Durée : 4 heures

Coefficient : 5

CALCULATRICE AUTORISÉE

Les sous-produits de brasserie.

Biochimie 47 points

La brasserie est l'industrie de la fabrication de la bière. La bière est fabriquée essentiellement à partir d'orge germée qu'on appelle le malt. Les différentes étapes de la fabrication de la bière sont présentées dans l'annexe 1.

Les drêches constituent le principal sous-produit de brasserie. Les drêches correspondent aux enveloppes des grains d'orge.

Elles sont riches en matières azotées totales (MAT) car elles contiennent l'assise protéique et le germe du grain d'orge. Mais ces protéines sont peu solubles, car toutes les protéines solubles sont entraînées dans le moût.

Le taux de matières grasses est assez élevé car les drêches contiennent le germe du grain d'orge.

Les drêches sont très riches en fibres car elles correspondent aux enveloppes du grain.

DRECHES	COMPOSITION, en % en masse de la matière sèche
Matières azotées totales (MAT)	27 à 29
Cellulose brute (CB)	15,5
Fibres alimentaires (NDF)	51,6
Ligno-cellulose (ADF)	21,3
Amidon (par hydrolyse acide)	9,1
Lipides (MG)	8
Cendres	3,5
Calcium	0,30
Phosphore	0,55

Ces drêches constituent un aliment intéressant pour les ruminants car :

- La valeur énergétique est élevée grâce au taux de lipides assez important ;
- La valeur azotée est intéressante ;
- Le rapport phospho-calcique (1/1,7) est moins déséquilibré que celui de l'orge (1/5,4) ;
- L'appétabilité est élevée : les ruminants apprécient les drêches de brasserie ;
- C'est une alternative très intéressante aux farines animales.

Les drêches sont utilisées soit sous forme déshydratée, soit sous forme d'ensilage.

1. Les protéines (9 points).

Les protéines étant insolubles, elles seront très peu dégradées dans le rumen. Elles seront surtout digérées au niveau intestinal.

- 1.1. Rappeler quelles sont les enzymes capables de dégrader les protéines.
- 1.2. Quelles sont les liaisons coupées par ces enzymes ? Indiquer les particularités de structure de ces liaisons.
- 1.3. Les acides aminés issus de cette digestion entrent dans le métabolisme intermédiaire. Ils doivent au préalable perdre leur groupe aminé. Décrire les réactions participant à cette désamination.

2. Les lipides (14 points)

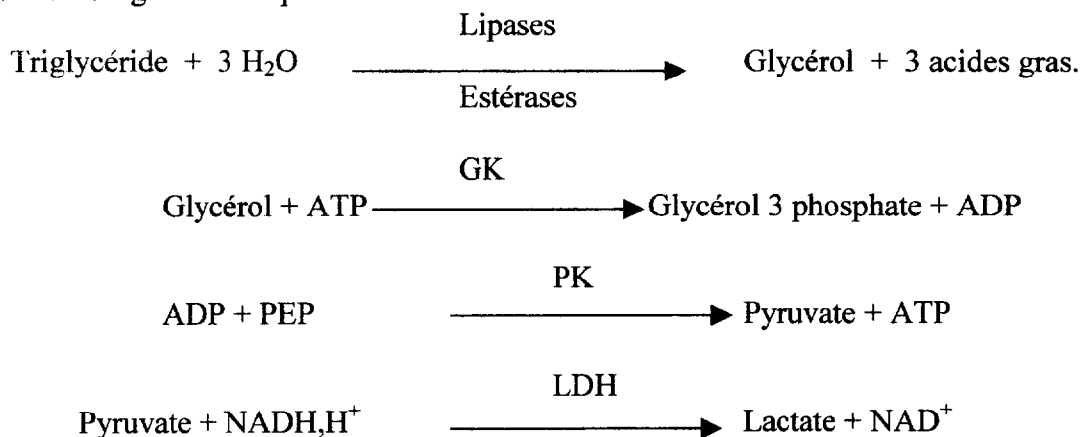
Le taux de lipides des drêches en fait un aliment énergétique intéressant. Parmi ces lipides, on trouve des triglycérides comme le palmitate de glycéryle.

- 2.1. Donner la formule semi-développée de cette molécule, sachant que l'acide palmitique est un acide gras saturé à 16 atomes de carbones.
- 2.2. Comment se fait la dégradation de cette molécule dans le tube digestif ?
- 2.3. Sous quelle(s) forme(s) s'effectue le transport sanguin des molécules issues de la digestion des lipides ? Les définir.
- 2.4. Quel est le devenir énergétique des acides gras dans la cellule ? (bilan énergétique non demandé)
- 2.5. L'acétyl CoA apparaît comme un métabolite carrefour. Justifier cette expression.

3. Dosage enzymatique des triglycérides (24 points).

On désire vérifier le taux de triglycérides d'un lot de drêches venant d'arriver dans l'exploitation agricole. Le laboratoire effectue le dosage selon le protocole ci-joint en **annexe 2**.

Les étapes du dosage réalisé à partir de l'échantillon sont les suivantes:



- 3.1. Calculer la dilution de l'échantillon à doser, sachant que lors de l'extraction, les matières grasses de 200 g de matières sèches de drêches se retrouvent dans un volume de 1 litre d'extrait .
- 3.2. De quel type de méthode enzymatique s'agit-il ?
- 3.3. Quelles sont les conditions expérimentales à appliquer ? Justifier.
- 3.4. La mesure se fait au spectrophotomètre à 340 nm. Indiquer dans quel sens se fera la variation d'absorbance. Justifier.
- 3.5. Etablir la formule littérale de calcul permettant d'obtenir la concentration massique de l'extrait lipidique des drêches, en fonction de la variation d'absorbance enregistrée.
On donne : $\epsilon_{\text{NADH}} \text{ à } 340 \text{ nm} = 630 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$
 $M \text{ moyenne des triglycérides dosés} = 742 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$.
- 3.6. Calculer la teneur en triglycérides des drêches testées, connaissant les résultats expérimentaux suivants :
 - Les lipides de 100 g de drêches sèches sont récupérés dans 1 litre d'extrait ;

- L'extrait est dilué d'un facteur 5 ;
- Les absorbances obtenues sont les suivantes :

	Témoin	Echantillon
A1	1,100	1,020
A2	1,080	0,560

4. Microbiologie (45 points).

L'ensilage des drêches repose sur leur acidification obtenue par le développement de bactéries productrices d'acide lactique et dans une moindre mesure d'acide acétique.

Dans le souci d'optimiser l'ensilage, c'est à dire de garantir un rendement et une productivité élevés, on propose aux agriculteurs d'utiliser des produits de conditionnement d'ensilage constitués de culture de *Lactobacillus buchneri* 40788 qualifiées d'inoculants (Les inoculants se présentent sous forme de granulés introduits dans l'ensilage).

4.1. Le tableau présenté dans l'**annexe 3** donne des résultats d'études menées sur différents types d'ensilages. (un ensilage normal constitue le témoin et un ensilage test est réalisé avec un inoculant).

4.1.1. A l'aide des données du tableau présentées dans l'**annexe 3**, préciser la voie fermentaire utilisée par *Lactobacillus buchneri* dans les ensilages. Justifier.

4.1.2. Quelles sont les applications des germes du genre *Lactobacillus* dans le domaine agroalimentaire. Donner deux exemples d'applications.

4.1.3. *Lactobacillus* est un bacille Gram positif.

4.1.3.1. Donner le principe de la coloration de Gram.

4.1.3.2. Représenter schématiquement l'élément structural de *Lactobacillus buchneri* responsable du signe positif de la coloration de Gram.

4.2. Un ensilage non réussi est lié à une baisse insuffisante du pH. Il peut de ce fait contenir un certain nombre de germes indésirables qui se retrouvent dans le lait par contamination au moment de la traite. (litière, bouse , propreté des trayons..)

Les spores de *Clostridium tyrobutyricum* , bactérie anaérobie sporulée, métabolisant le lactate en butyrate et H₂ sont présentes dans l'ensilage. Elles entraînent des accidents de fabrication surtout des fromages à pâtes pressées cuites (Gruyère, Emmenthal..).

La présence de spores dans le lait en nombre supérieur à 2000 spores par litre de lait conduit à des défauts d'ouverture, des éclatements de meules et des odeurs désagréables liées à la fermentation butyrique.

4.2.1. Réaliser un schéma annoté d'une spore bactérienne.

4.2.2. Donner sous forme d'inventaire les différentes propriétés des spores.

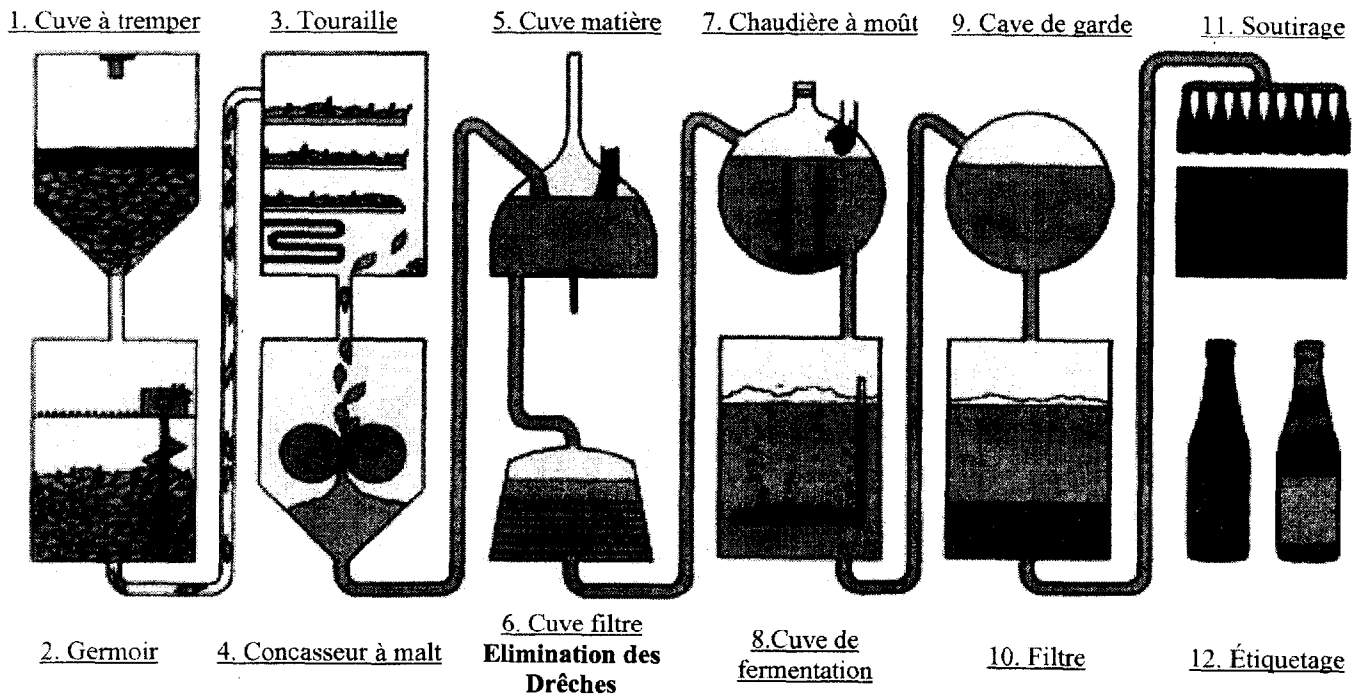
4.2.3 Expliquer comment la présence de spores peut entraîner des défauts de fabrication dans le fromage final.

- 4.3. Un lait peut être contaminé par une bactérie saprophyte du sol : *Listeria*. La présence de *Listeria* dans le lait s'explique par la contamination des ensilages d'herbe. Ce germe est retrouvé dans de nombreux échantillons d'herbe, généralement en très faible nombre mais dans certaines conditions, par exemple un pH trop élevé, *Listeria* prolifère. Dans des conditions de pH de 4,8 à 7, il a été dénombré de $3 \cdot 10^2$ à $3 \cdot 10^5$ *Listeria monocytogenes* par gramme d'ensilage.
- 4.3.1. Donner une définition de « bactérie saprophyte ».
- 4.3.2. La listériose est une toxi - infection à déclaration obligatoire. Définir le terme de toxi-infection.
- 4.3.3 La recherche de *Listeria* à partir d'un aliment, d'après la norme V08 - 055 de décembre 1993, débute par une phase d'enrichissement . On introduit x g ou x mL du produit à analyser dans un volume (9.x) mL de milieu «Fraser - demi».
- 4.3.3.1. Qu'appelle-t-on «enrichissement » ?
- 4.3.3.2. Indiquer succinctement les principales caractéristiques d'une technique d'enrichissement.
- 4.3.3.3. Après incubation à 30°C pendant 18 à 24 heures, on réalise un isolement sur le milieu «Oxford» dont la composition est donnée dans l'**annexe 4**.
Sur ce milieu, les *Listeria* forment en 24 heures des colonies grises à gris verdâtres luisantes, d'environ 1 mm de diamètre, entourées d'un halo brun- noir. Expliquer et justifier cet aspect.
- 4.4. L'ensilage des végétaux, de par sa disponibilité en substrat glucidique, son pourcentage d'humidité, sa température et ses conditions d'aérobiose, crée des conditions propices au développement des moisissures :
Parmi les protéines mineures isolées d'un grain de céréale, les puroindolines présentent des potentialités : elles constituent des molécules antifongiques à spectre intéressant.
- 4.4.1. Définir le terme antifongique.
- 4.4.2. Qu'appelle-t-on spectre d'un antifongique ? Expliquer.
- 4.4.3. L'identification des moisissures repose essentiellement sur des critères morphologiques macroscopiques et microscopiques : aspect macroscopique de la culture, aspect des hyphes et de l'appareil sporifère.
- 4.4.3.1. Annoter l'**annexe 5**. **A rendre avec la copie**
- 4.4.3.2 Indiquer le groupe d'appartenance de chacune des moisissures présentée. Justifier.
- 4.4.3.3. Définir le terme hyphe. Justifier.

5. Toxicologie (8 points).

- 5.1. Les moisissures produisent des métabolites secondaires présentant un risque pour le bétail et le consommateur. Donner leur nom.
- 5.2. Citer quelques genres microbiens susceptibles de produire ces métabolites.
- 5.3. L'effet d'un toxique est évalué par des études toxicologiques. Enumérer les paramètres et préciser les conditions expérimentales permettant de réaliser une étude de toxicité aiguë. Que détermine-t-on ?
- 5.4. Une indication de toxicité est donnée par la DJA . Définir ce terme, préciser son unité.

Etapes de fabrication de la bière



Méthode de dosage des triglycérides

Méthode UV

Pour la détermination des triglycérides dans les aliments, en utilisant le test combinaison glycérol et les enzymes lipase et estérase.

1. Réactifs.

- **I** – Solution tampon – coenzymes. Composition : tampon glycylglycine, 0,39 mol/L, pH 7,4 ; NADH, 0,84 mol/L ; ATP, 3,23 mmol/L ; PEP, 0,83 mmol/L.
- **II** – Suspension de lipase à 50 000 U/mL
- **III** – Suspension d'estérase à 10 mg/mL.
- **IV** – Suspension de pyruvate kinase (PK) à 550 U/mL et de lactate déshydrogénase (LDH) à 550 U/mL.
- **V** – suspension de glycérokinase (GK) à 85 U/mL.

2. Mode opératoire.

Longueur d'onde : 340 nm

Cuve de verre : 1 cm d'épaisseur

Température : 20 à 25°C

Volume du test : 3,08 mL

Lire contre de l'eau distillée.

La solution d'échantillon à tester doit permettre d'introduire de 40 à 400 µg de triglycérides dans la cuve de mesure.

Introduire dans les cuves :	Témoin	Echantillon
Solution I :	1,00 mL	1,00 mL
Eau bidistillée :	2,00 mL	1,90 mL
Echantillon ou solution standard :	-	0,10 mL
Lipase (II) :	0,01 mL	0,01 mL
Estérase (III) :	0,05 mL	0,05 mL
Suspension IV :	0,01 mL	0,01 mL
Mélanger. Après 10 minutes, lire les absorbances des solutions (A1).		
Déclencher la réaction par addition de :		
Suspension V :	0,01 mL	0,01 mL
Mélanger. Attendre la fin de la réaction (environ 10 minutes), et lire l'absorbance des solutions (A2).		
Si la réaction n'est pas terminée après 10 minutes, continuer à lire les absorbances de 2 minutes en 2 minutes jusqu'à ce que la diminution d'absorbance soit constante sur 2 minutes.		

Résultats d' études menées sur différents ensilages

Eléments	Ensilage Témoin	Ensilage avec inoculant <i>Lactobacillus buchneri</i>
pH	3,8	4,08
Acide lactique (%)	3,83	3,18
Acide acétique (%)	2,03	2,86
Pertes en matière sèche (%)	2,33	2,77

pK_a acide lactique = 3,9 pK_a acide acétique = 4,75

Composition du milieu « Oxford »

Eléments	quantité
peptone	23,0 g
amidon	1,0 g
chlorure de sodium	5,0 g
agar- agar	9 à 18 g
esculine	1,0 g
citrate de fer III ammoniacal	0,5 g
chlorure de lithium	15,0 g
eau	1000 mL

À RENDRE ET À AGRAFER AVEC LA COPIE

Schéma d'organisation microscopique de l'appareil sporifère de deux moisissures.

