

DOCUMENT N° 1 :**DISPERSION DE L'AMIDON PAR LE DIMÉTHYLSULFOXYDE.**

Dans une fiole d'Erlenmeyer vissée de 100 mL, peser exactement une masse m (entre 100 mg et 1 g) d'échantillon (tubercule de pomme de terre préalablement lavé et broyé en très fines râpures).

Ajouter :

- 5 mL de solution d'acide chlorhydrique à 8 mol/L ;
- 20 mL de diméthylsulfoxyde.

Boucher, incubé 60 min à 60°C dans un bain thermostaté avec agitation.

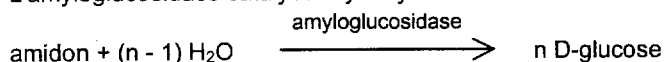
Ramener à température ambiante, transvaser en fiole jaugée de 100 mL, ajouter 50 mL d'eau bidistillée et ajuster le pH entre 4 et 5 avec de l'hydroxyde de sodium à 5 mol/L en agitant vigoureusement. Compléter à 100 mL avec de l'eau bidistillée. Filtrer si nécessaire.

On obtient la **solution d'essai** utilisée immédiatement pour effectuer le dosage de l'amidon.

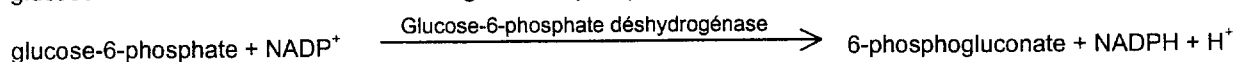
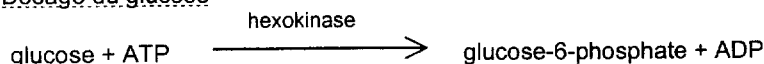
DOCUMENT N° 2 :**DOSAGE DE L'AMIDON DANS LES ALIMENTS (METHODE UV).****1 - Principe du dosage**

- Hydrolyse de l'amidon

L'amyloglucosidase catalyse l'hydrolyse totale des liaisons $\alpha 1 \rightarrow 4$ et $\alpha 1 \rightarrow 6$ entre résidus α -glucosyl :



- Dosage du glucose

**2 - Composition des solutions**

| Solution 1 | Solution 2 | Solution 3 |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| - Tampon citrate pH 4,6 - Amyloglucosidase 84 U | - Tampon triéthanolamine pH 7,6 - NADP ⁺ 64 mg - ATP 160 mg - Sulfate de magnésium et stabilisateurs | - Hexokinase environ 200 U - Glucose-6-phosphate déshydrogénase environ 100 U |

3 - Mode opératoire

$\lambda = 340 \text{ nm}$; cuve : $\ell = 1 \text{ cm}$; mesurer contre l'air.

Solution d'essai : 3 à 70 μg d'amidon par cuve.

Si l'échantillon contient du glucose libre, une détermination séparée de celui-ci est nécessaire.

| Introduire dans des cuves : | Témoin | Essai amidon | Essai glucose libre |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------|---------------------|
| Solution 1 | 0,20 mL | 0,20 mL | Non effectué |
| Solution d'essai | - | 0,10 mL | |
| Eau bidistillée | 0,10 mL | - | |
| Mélanger, recouvrir les cuves de parafilm, incubé 15 min dans un bain thermostaté à 55-60°C | | | |
| Solution 2 | 1,00 mL | 1,00 mL | Non effectué |
| Eau bidistillée | 1,00 mL | 1,00 mL | |
| Mélanger, lire les absorbances A_1 des solutions après environ 3 min. Déclencher la réaction par addition de : | | | |
| Suspension 3 | 0,02 mL | 0,02 mL | |
| Mélanger, attendre la fin de la réaction (environ 15 min) et lire les absorbances A_2 des solutions. | | | |
| Déterminer les différences d'absorbances $A_2 - A_1$ du témoin et de l'essai. | | | |
| Dédire la différence d'absorbance du témoin de celle de l'essai : $\Delta A = \Delta A_{\text{essai}} - \Delta A_{\text{témoin}}$ | | | |

4 - Calcul

Formule générale pour le calcul de la concentration massique en amidon de la solution d'essai :

$$\rho \text{ g/L} = \frac{V.M}{\epsilon \cdot \ell \cdot v} \cdot \Delta A$$

V : volume du test

M : masse molaire de la substance à doser = 162 g/mol

ϵ : coefficient d'extinction molaire du NADPH à 340 nm

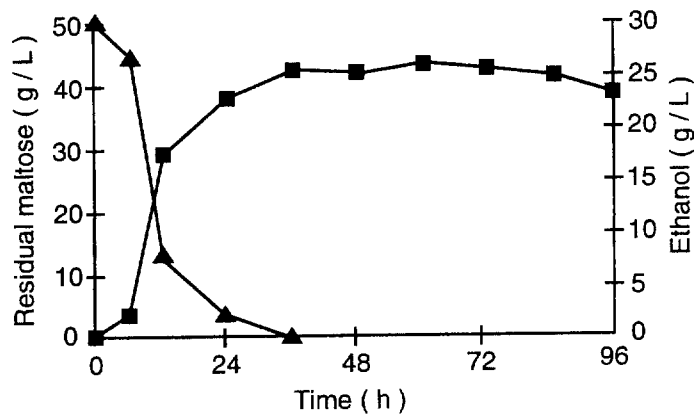
ℓ : épaisseur de la cuve = 1 cm

v : volume de l'essai

5 - Résultat

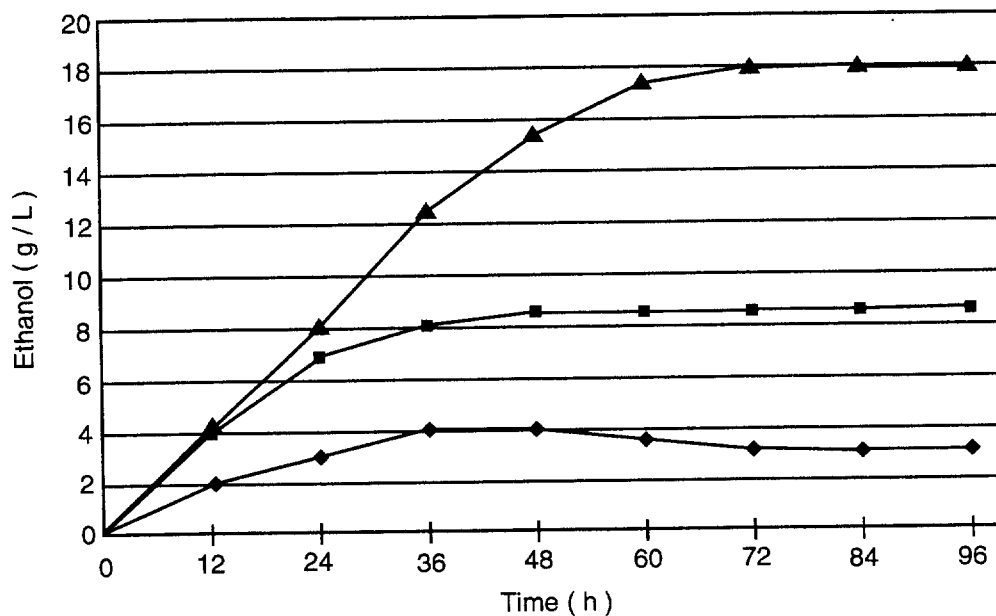
Dans les conditions décrites, on obtient : $\rho \text{ g/L} = 0,597 \cdot \Delta A$

DOCUMENT N° 3



Ethanol production by *Klebsiella oxytoca* P2 and residual maltose concentration. Fermentations were carried out in Luria broth with 50 g maltose/L at 30°C and at pH controlled at 6.0, with stirring at 100 rpm. (—■—) Ethanol (g/L) and (—▲—) residual maltose (g/L).

DOCUMENT N° 4



Ethanol production by *Klebsiella oxytoca* P2. Fermentations were done in Luria broth with 10 g (—◆—) 20 g (—■—) or 40 g (—▲—) starch/L at 30°C and pH controlled at 6,0, with stirring at 100 rpm.

Académie : _____ Session : _____

Examen ou Concours _____ Série* : _____

Spécialité/option* : _____ Repère de l'épreuve : _____

Épreuve/sous-épreuve : _____

NOM : _____
(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)

Prénoms : _____ N° du candidat

Né(e) le : _____
(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

* Uniquement s'il s'agit d'un examen.

Repère : BCFTU

SESSION 2005

Durée : 4 H

Page : 8/15

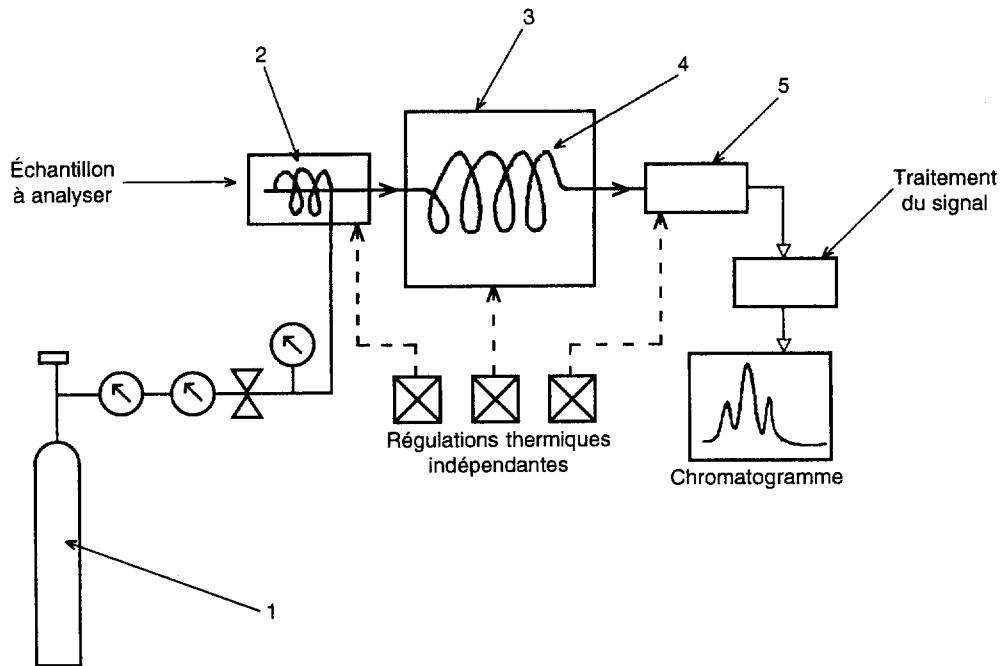
Coefficient : 4

DOCUMENT N° 5 :

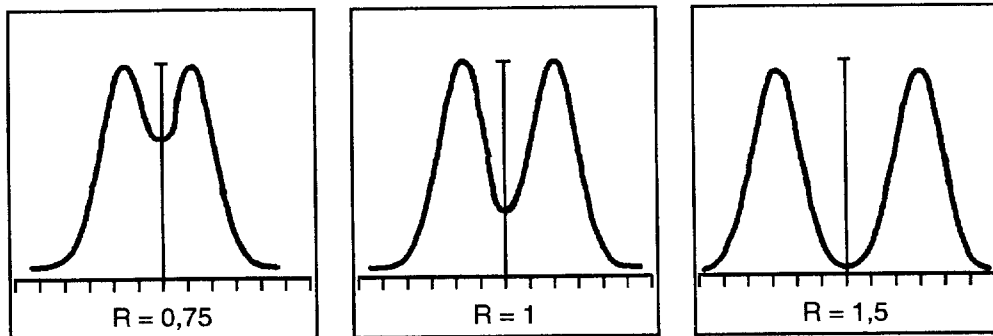
À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

PRODUCTION D'ÉTHANOL À PARTIR DE L'AMIDON

| Concentration initiale en amidon (g/L) | Temps (h) | Concentration en éthanol (g/L) | Rendement de conversion g d'éthanol/g d'amidon initialement présent | Productivité volumétrique : g d'éthanol.L ⁻¹ .h ⁻¹ |
|----------------------------------------|-----------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| 10 | 36 | 4 | 0,4 | |
| 20 | 48 | 8,5 | | |
| 20 | 72 | 8,5 | | |
| 40 | 60 | | | |
| 40 | 84 | | | |

DOCUMENT N° 6**DOCUMENT N° 7**

(a)



(b)

Détecteur thermoionique (NPD)

Ce détecteur est très sensible pour les composés organiques azotés ou phosphorés. Il utilise un mode de collecte des ions différent de celui du détecteur FID. Il comporte, dans l'axe de la flamme air-hydrogène, un petit cylindre en céramique dopée avec un sel alcalin (rubidium ou césium). Les composés contenant **N** ou **P** sont plus fortement ionisés que les autres molécules présentes. Le diazote de l'air est inactif. Le mode d'ionisation des composés élués est différent suivant les modèles. On utilise une flamme moins chaude que pour un FID ou un chauffage électrique pour créer le "plasma alcalin" nécessaire au bon fonctionnement de ce système.

DOCUMENT N° 8 :
DOSAGE DES ANTIGERMINATIFS DANS LES POMMES DE TERRE

Extraction par l'acétone

- Peser **40 g** de pommes de terre entières, lavées puis broyées. Ajouter 80 mL d'acétone puis **2 mL d'atrazine à 16 µg par mL** de dichlorométhane. Recouvrir ; agiter 30 minutes. Filtrer sur Büchner. Recueillir le filtrat.
- Reprendre le résidu par 50 mL d'acétone. Procéder de façon analogue. L'ensemble des filtrats constitue le filtrat F₁.
- Concentrer le filtrat F₁ à 75 mL environ par évaporation. Ajouter 150 mL d'eau déminéralisée (solution A₁).

Extraction liquide-liquide par le dichlorométhane

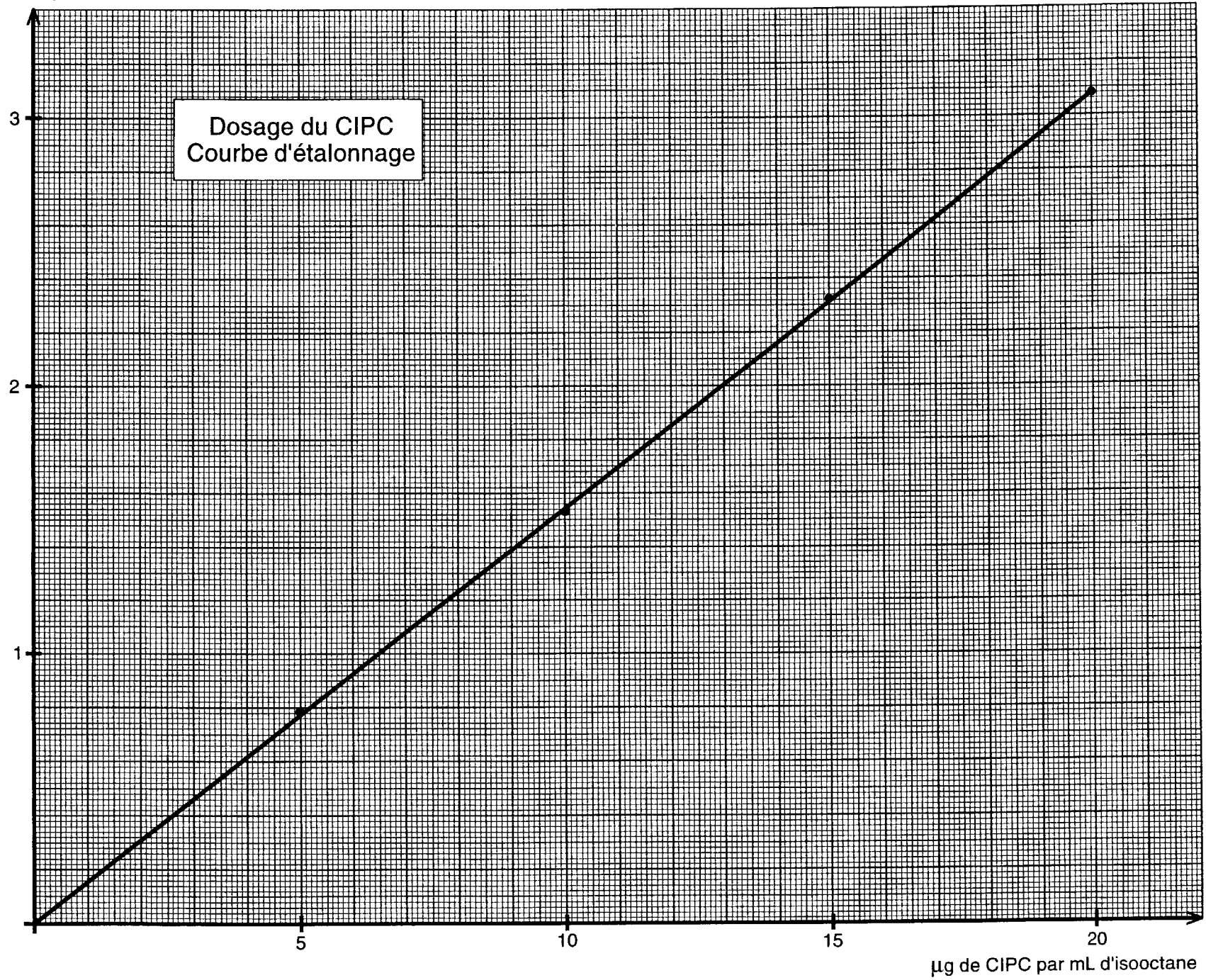
- Ajouter à la solution A₁ 20 mL de solution saturée en chlorure de sodium et 60 mL de dichlorométhane. Transvaser dans une ampoule à décanter et agiter. Laisser décanter. Recueillir la phase inférieure constituée par le dichlorométhane, la filtrer sur un filtre avec du sulfate de sodium. Recueillir dans une fiole d'Erlenmeyer rodée de 250 mL.
- Refaire une extraction avec 60 mL de dichlorométhane ; filtrer et recueillir dans la même fiole. L'ensemble des filtrats constitue le filtrat F₂.

Reprise par l'isooctane

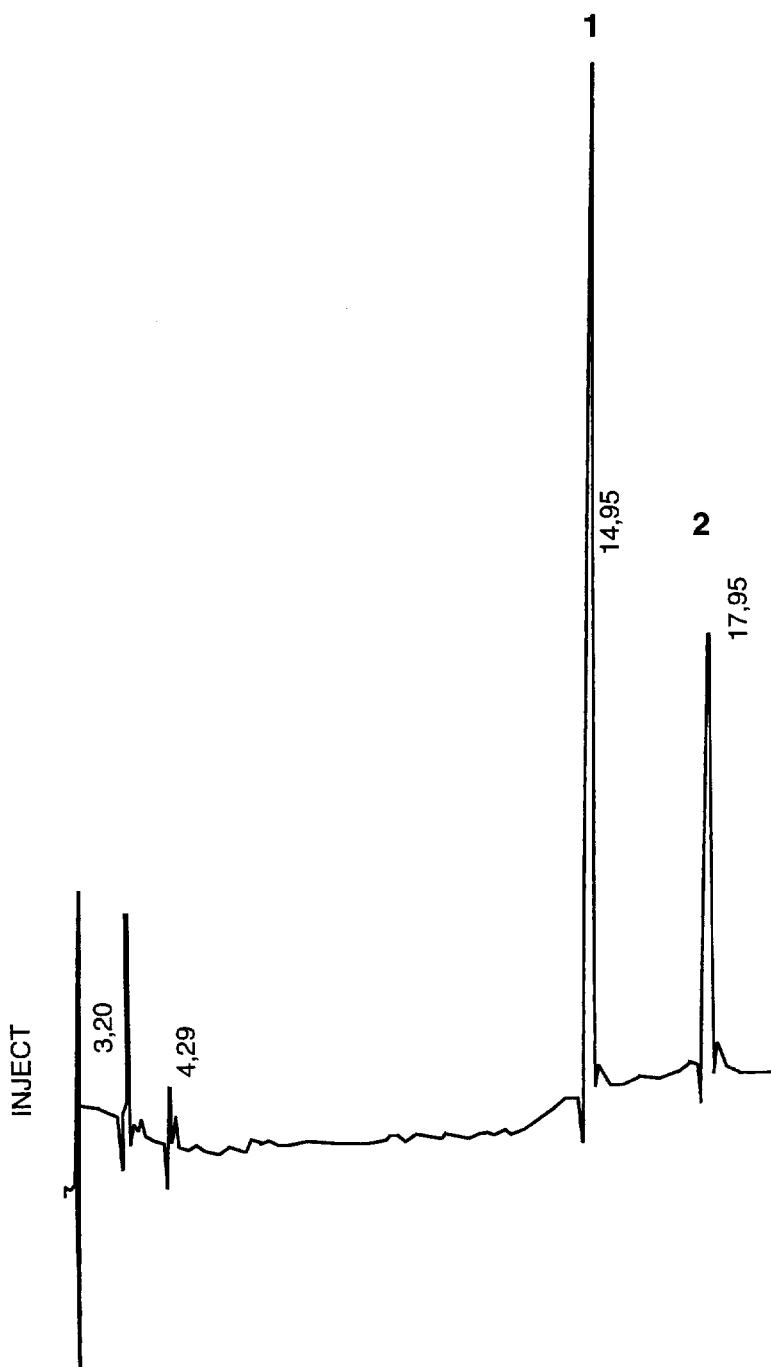
- Évaporer presque totalement le filtrat F₂.
- Reprendre le reliquat de F₂ par de l'isooctane et transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 10 mL. **Compléter à 10 mL (solution S).**
- La solution S (après filtration sur filtre 0,5 µm) est injectée dans le chromatographe.

DOCUMENT N° 9 : COURBE D'ÉTALONNAGE (CHROMATOGRAPHIE)

$$\frac{\text{Aire du pic CIPC}}{\text{Aire du pic Atrazine}}$$



DOCUMENT N° 10



| Temps de rétention (RT) [min] | Aire (area) |
|-------------------------------|-------------|
| 3,20 | 7281 |
| 4,29 | 2529 |
| 14,95 | 72598 |
| 17,95 | 42721 |

DOCUMENT N° 11 :
PRÉPARATION DES ANTICORPS MONOCLONAUX - RÉSUMÉ DES
DIFFÉRENTES ÉTAPES

- 1 - Injection du virus chez la souris.
- 2 - Prélèvement de la rate de l'animal et préparation d'une suspension lymphocytaire.
- 3 - Mise en contact avec des cellules tumorales en présence de polyéthylène glycol.
- 4 - Culture des cellules du mélange précédant en milieu HAT (hypoxanthine aminoptérine thymidine).
- 5 - Répartition des cellules en plaques de culture et détection des cupules positives.
- 6 - Clonage.
- 7 - Détection des clones positifs et nouveau clonage.
- 8 - Multiplication des clones sélectionnés en flacons de culture et récupération des anticorps.

DOCUMENT N° 12**KIT DE DÉTECTION DU VIRUS Y DE LA POMME DE TERRE**

Méthode immunoenzymatique de détection du virus Y dans des extraits de pomme de terre.

Cat. n° I 2396 - 05

Pour 25 tests

Réalisation du test

Les tests effectués avec les échantillons doivent être réalisés en double. De plus il faut prévoir des puits pour les contrôles positif et négatif.

Ne jamais mélanger l'anticorps pour sensibilisation et l'anticorps de détection. Éviter les contaminations croisées des puits !

Avant utilisation tous les réactifs doivent être placés à température ambiante (18-25°C). Le test doit aussi être réalisé à température ambiante (18-25°C).

Durée du test : une journée comprenant une nuit d'incubation.

1. Sensibilisation

Déposer 0,25 mL de solution d'anticorps de sensibilisation (anticorps de lapin anti-PVY) dans les puits d'une plaque de microtitration. Recouvrir la plaque (couvercle hermétique ou feuille autocollante) et incuber pendant 2 heures à 37°C.

2. Saturation

Vider les puits par aspiration et tapoter la plaque sur du papier absorbant, propre et sec. Introduire 0,25 mL de solution de saturation (albumine bovine) dans tous les puits sensibilisés et incuber pendant 30 min à 37°C.

3. Lavage

Vider les puits par aspiration puis tapoter la plaque sur papier absorbant. Laver les puits 3 fois avec le tampon de lavage puis éliminer complètement le tampon de lavage.

4. Dépôt des échantillons et contrôles

Déposer 0,2 mL des échantillons dans chacun des puits correspondants. Déposer 0,2 mL de la solution de contrôle positive et de la solution de contrôle négative dans les puits de contrôle correspondants. Recouvrir la plaque et incuber une nuit à + 4°C.

5. Lavage

Voir paragraphe 3.

6. Dépôt de l'anticorps de détection

Déposer 0,2 mL de solution d'anticorps monoclonal anti-PVY couplé à la biotine dans les puits correspondants. Recouvrir la plaque et incuber pendant 2 h à 37°C.

7. Lavage

Voir paragraphe 3.

8. Dépôt de streptavidine-phosphatase

Déposer 0,2 mL de solution de streptavidine liée à la phosphatase alcaline dans chacun des puits correspondants. Recouvrir la plaque et incuber pendant 1 h à 37°C.

9. Lavage

Voir paragraphe 3.

10. Réaction avec le substrat

Déposer 0,2 mL de solution de 4-nitrophénylphosphate dans chacun des puits correspondants et incuber pendant 1 h à 18-25°C.

11. Lecture

Réaliser une lecture visuelle ou mesurer l'absorbance des puits au lecteur de plaque à 405 nm, en réglant le zéro avec la solution de substrat.

DOCUMENT N° 13 :**MILIEUX POUR CULTURE IN VITRO DE LA POMME DE TERRE**

| MILIEUX UTILISES (mg/L) | PDT ₁ | PDT ₂ | PDT ₃ |
|-------------------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| KNO ₃ | 625 | 625 | 625 |
| MgSO ₄ , 7H ₂ O | 125 | 125 | 125 |
| KH ₂ PO ₄ | 125 | 125 | 125 |
| Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O | 500 | 500 | 500 |
| Bacto-tryptone | 1000 | — | — |
| Saccharose | 20000 | 20000 | 30000 |
| Gélose | 10000 | 10000 | 10000 |
| pH | 5,6 | 5,6 | 5,6 |
| Acide Naphtalène Acétique (auxine) | 0 | 0,93 | 0 |
| 6-Benzyl-Aminopurine (cytokinine) | 0 | 0 | 9 |

DOCUMENT N°14**ISOLEMENT DES BACTERIES DU GENRE PECTOBACTERIUM**

Isolation of the two above mentioned *Pectobacterium* species is readily made on the selective-diagnostic CVP medium*. The bacteria form characteristic deep cup-like cavities or pits which are different from those formed by the pectolytic pseudomonas, which are shallower and wider.

Isolation from an active infection

- 1** - Wash the diseased organ (rotting tuber or stem) under running water to remove excess soil but avoid breaking the skin.
- 2.-** Break or cut open the skin and remove a small amount of tissue (ca. 0,1 g) from the rotting front of the lesion using a sterile scalpel.
- 3.-** Cut and tease the tissue in sterile water (ca. 0,2 mL) in a plastic Petri dish. Leave for ca. 5 min to allow the bacteria to diffuse out of the tissue.
- 4.-** Streak, with a sterile inoculating needle with a loop at the end, a loopful of the liquid from 3 on to a CVP plate previously dried to remove excess surface moisture to obtain isolated colonies. Streaks should be made in four right angle directions, flaming and cooling the loop after each directional streak.
- 5.-** Incubate the CVP plate upside down at 27 °C for 48 h.
- 6.-** Select at least two well spaced colonies/cavities per CVP plate and re-streak the bacteria on to a fresh CVP plate. Incubate as in 4 and 5.
- 7.-** Select two colonies (cavities), streak each on Luria broth agar (LBA) plate previously dried gently in a ventilated incubator or in a laminar flow cabinet long enough to remove excess surface moisture and incubate at 27 °C for about 2 wk to ensure that only *Pectobacterium* colonies are present. *Pectobacterium* form round convex creamy-translucent colonies on LBA.

*** Crystal Violet Pectate (CVP) medium (Hyman *et al.*, 2002)**

| | |
|--------------------------------------------------------------|---------|
| Tryptone (Oxoid L42) | 1.0 g |
| Tri-sodium citrate | 5.0 g |
| NaNO ₃ | 2.0 g |
| CaCl ₂ .2H ₂ O (10 % aqueous solution) | 10.2 mL |
| Crystal violet (0.075 % aqueous solution) | 2.0 mL |
| NaOH (5 mol. l ⁻¹) | 2.6 mL |
| Agar (BDH Agar Powder) | 4.0 g |
| Sodium polypectate (Slendid type 440) | 18.0 g |
| Distilled water | 1000 mL |