

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR BIOANALYSES ET CONTRÔLES

Épreuve E5 - Unité U51

Techniques de biochimie

Au cours de l'épreuve, le jury appréciera les qualités d'organisation, le respect des règles d'hygiène et de sécurité en laboratoire

Documents interdits - Calculatrice autorisée

ÉPREUVE E5. UNITÉ U51
Techniques de biochimie

CONTRÔLE QUALITÉ D'UN SUBSTITUT DE REPAS
(REPAS MINCEUR)

Un repas minceur (RM) se présente sous forme d'une boisson à la saveur vanille.

L'étiquetage du produit donne les indications suivantes pour 100 mL.

Valeur énergétique	89 kcal ou 375 kJ
Protéines	6,7 g
Glucides	9,9 g
* sucres	9 g
Lipides	2,5 g
* saturés	0,3 g
* mono insaturés	0,5 g
* poly insaturés	1,3 g
Fibres alimentaires	1,8 g
Vitamines	20 mg
Minéraux	600 mg
Extrait sec	21,5 g

Liste des ingrédients :

Produits du lait (lait écrémé, protéines de lait, lactose), eau, fructose, huile de tournesol, arômes, épaississants (cellulose, carraghénanes...), citrate de sodium, sirop de glucose déshydraté de blé, vitamines : A, C, E..., amidon de blé et de maïs.

On se propose d'effectuer les analyses suivantes :

- composition qualitative en sucres,
- teneur en sucres réducteurs,
- teneur en glucose et fructose,
- mesure de l'extrait sec.

Les données de sécurité figurent en **annexe 4**.

1 - Composition qualitative en sucres (15 points)

1.1 - Principe

Les sucres représentent une partie importante des glucides du substitut de repas. On peut les identifier par chromatographie sur couche mince à condition qu'ils soient en quantité suffisante.

1.2 - Matériel et Réactifs

- Phase stationnaire : 1 plaque de gel de silice déjà réactivée (5 cm x 7,5 cm).
- Phase mobile : méthyléthyl cétone, acide éthanoïque, méthanol (3V/1V/1V).
- Sucres témoins : glucose, fructose, saccharose, lactose.
- Repas minceur noté « **RM** » (5 mL).
- Réactif et dispositif de révélation.

1.3 - Protocole opératoire

Saturer la cuve de migration avec le solvant.

Dans un tube à hémolyse, diluer RM au 1/10^{ème} dans de l'eau déminéralisée.

Réaliser un dépôt par témoin et pour la solution RM diluée.

Placer les plaques dans la cuve de chromatographie et laisser migrer.

Laisser sécher les plaques.

Appliquer le réactif de révélation, placer quelques minutes à l'étude à 100°C.

1.4 - Compte-rendu

Compléter la feuille de résultats (**annexe 1**, à rendre avec la copie).

Identifier les sucres présents dans le repas minceur.

2 - Dosages des sucres (50 points)

Le dosage des sucres nécessite la précipitation préalable des protéines. Les analyses s'effectuent sur le filtrat réalisé.

2.1 - Précipitation des protéines

2.1.1 - Matériel et réactifs

- 1 fiole jaugée de 50 mL.
- 1 entonnoir.
- 1 filtre.
- 1 tube à hémolyse.
- Hexacyanoferrate à 15 % dans l'eau distillée en distributeur.
- Acétate de zinc à 30 % dans l'eau distillée en distributeur.

2.1.2 - Protocole opératoire

Dans une fiole jaugée de 50 mL, introduire 0,5 mL de RM.

Ajouter 2 mL d'hexacyanoferrate et 2 mL d'acétate de zinc.

Agiter puis compléter à 50 mL avec de l'eau déminéralisée.

Laisser au repos 10 minutes et filtrer. Récupérer quelques millilitres de filtrat dans un tube à hémolyse.

2.2 - Dosage colorimétrique des sucres réducteurs

2.2.1 - Principe

Le 3,5-dinitrosalicylate de Na, K (3,5-DNS) réagit avec les sucres réducteurs en donnant un produit coloré quantifiable par photométrie à 530 nm.

2.2.2 - Matériel et réactifs

- Tubes à essais.
- Pipette automatique.
- Solution étalon de sucres à 2 g.L⁻¹ notée « **sucres étalon 2 g.L⁻¹** » (10 mL).
- Réactif au 3,5-DNS en distributeur.
- Eau déminéralisée en distributeur.
- Papier d'aluminium.

2.2.3 - Protocole opératoire

Conditions opératoires pour avoir des résultats reproductibles :

- la coloration doit se développer au bain marie pendant un temps précis,
- les tubes doivent être refroidis immédiatement dans un bain d'eau à 0-4°C,
- la coloration est stable pendant une heure.

Réalisation de la réaction colorée :

- 1 mL de prise d'essai.
- 1,5 mL de réactif au 3,5-DNS.
- Boucher les tubes avec du papier d'aluminium et les porter à 100°C (bain d'eau à ébullition) pendant exactement 5 minutes.
- Refroidir immédiatement dans un bain d'eau à 0-4°C.
- Après refroidissement, ajouter 7,5 mL d'eau déminéralisée en distributeur.

Gamme d'étalonnage et essais :

- À partir de la solution étalon à 2 g.L⁻¹, préparer une gamme de 6 tubes contenant de 0 à 2 mg de sucres par tube.
- Effectuer le dosage sur 1 mL de filtrat.
- Lire l'absorbance à 530 nm contre le témoin réactif.

2.2.4 - Compte-rendu

Établir le tableau de colorimétrie.

Compléter la feuille de résultats (**annexe 1**, à rendre avec la copie).

À l'aide de l'outil informatique, tracer la droite d'étalonnage $A_{530\text{ nm}} = f(\text{mg de sucres par tube})$.

Rendre un graphe renseigné.

Calculer la teneur en sucres du repas minceur.

Exprimer les résultats en conformité aux instructions de l'**annexe 2**.

Données : $s_r = 3 \text{ g.L}^{-1}$
 $u_c = 7 \text{ g.L}^{-1}$

2.3 - Dosage du glucose et du fructose par méthode enzymatique en point final**2.3.1 - Protocole opératoire (annexe 3)**

Le dosage est effectué sur le filtrat (2 essais).

Effectuer un pipetage en présence d'un examinateur.

2.3.2 - Compte-rendu

Compléter la feuille de résultats (**annexe 1**, à rendre avec la copie).

Établir les relations littérales exprimant les concentrations en g.L^{-1} en glucose et fructose de RM.
Calculer ces concentrations.

Exprimer le résultat en conformité aux instructions de l'**annexe 2**.

Conclure par rapport aux résultats de la chromatographie.

Données :

$$\Delta A_{\text{glucose}} = (A2 - A1)_{\text{essai}} - (A2 - A1)_{\text{blanc}}$$

$$\Delta A_{\text{fructose}} = (A3 - A2)_{\text{essai}} - (A3 - A2)_{\text{blanc}}$$

$$V_T = \text{volume total de la cuve}$$

$$V_e = \text{volume de l'essai}$$

$$\epsilon_{\text{NADPH à } 340 \text{ nm}} = 6300 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$$l = 1 \text{ cm}$$

$$M_{\text{glucose ou fructose}} = 180,16 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

	S_r	U_c
Glucose	$0,08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$0,15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
Fructose	$1,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$3,1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

3 - Mesure de l'extrait sec réfractométrique (10 points)**3.1 - Principe**

L'indice de réfraction d'un corps est le rapport des vitesses de la lumière dans l'air et à travers ce corps. Cet indice dépend de la constitution chimique du produit à analyser et varie en fonction de divers facteurs : concentration en matières sèches solubles, saccharose...

Cette mesure rapide donne une bonne estimation du pourcentage de l'extrait sec du produit.

3.2 - Matériel et réactifs

- Réfractomètre étalonné par de l'eau distillée à la température ambiante avec fiche de procédure d'utilisation et tableau de correction de l'indice en fonction de la température.
- Thermomètre.
- Compte-goutte.
- Repas minceur.

3.3 - Protocole opératoire

À effectuer en présence d'un examinateur.

Effectuer les vérifications préalables de l'appareil.

Recouvrir la surface du prisme avec l'échantillon préalablement homogénéisé.

Effectuer la lecture.

Recommencer l'opération avec une nouvelle prise d'essai de RM.

3.4 - Compte-rendu

Compléter la feuille de résultats.

Calculer l'extrait sec du repas minceur RM.

4 - Conclusion générale (5 points)

Dans un tableau, comparer les résultats aux mentions de l'étiquetage et conclure sur la conformité de l'information donnée au consommateur pour les ingrédients analysés.

DANS CE CADRE

NE RIEN ÉCRIRE

Académie :	Session :
Examen ou Concours	Série* :
Spécialité/option* :	Repère de l'épreuve :
Épreuve/sous-épreuve :	
NOM :	
<i>(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)</i>	
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 : BAE5TB/2

SESSION 2008

Durée : 3 H30

Page : 4/8

Coefficient : 4

ANNEXE 1

Feuille de résultats à rendre avec la copie

Poste n°

1 - Chromatographie sur couche mince

	glucose	fructose	saccharose	lactose
Couleur- aspect				
Rf				

	Repas minceur
Couleur- aspect	
Rf	

2 - Colorimétrie

Tubes	0	1	2	3	4	5	essai	essai
mg sucres								
Abs à 530 nm								

3 - Dosage enzymatique du glucose et du fructose en point final

	blanc	Essai 1	Essai 2
A1			
A2			
A3			

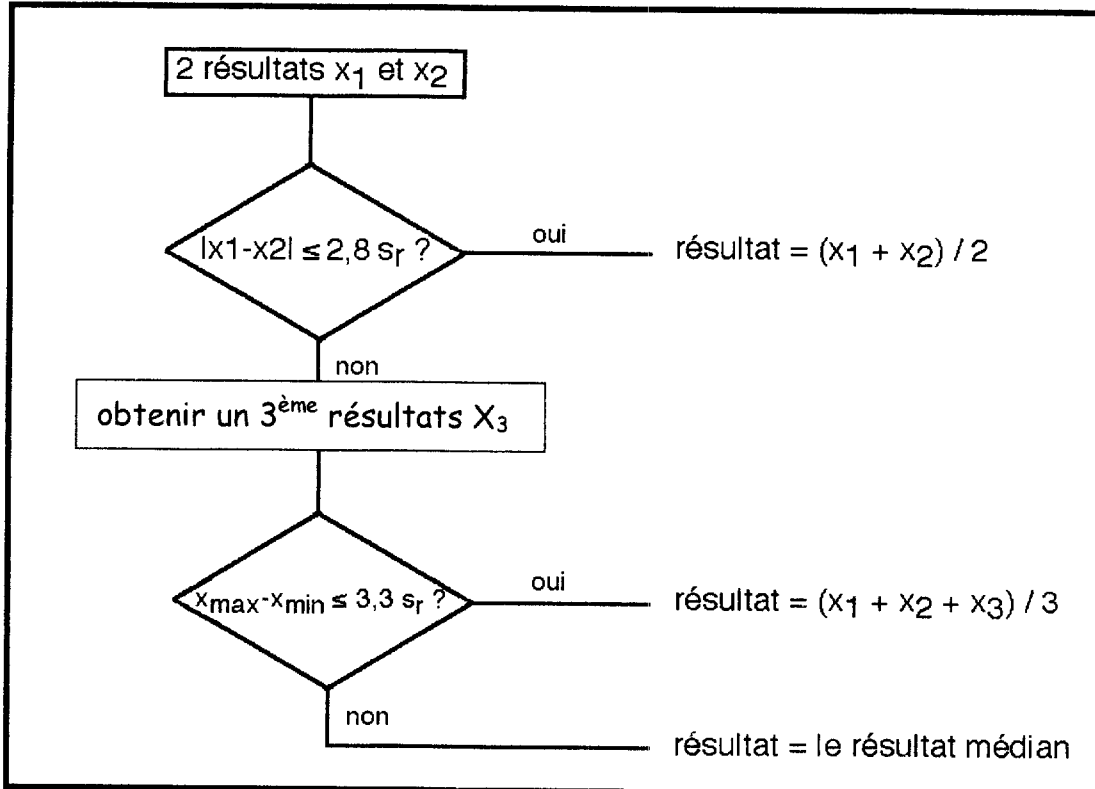
4 - Mesure de l'extrait sec réfractométrique

	Essai 1	Essai 2
Température en °C =		
Valeur lue en %		
Valeur corrigée en %		

ANNEXE 2

EXPRESSION DES RÉSULTATS NUMÉRIQUES

- Logigramme de traitement des données expérimentales



- Expression du résultat

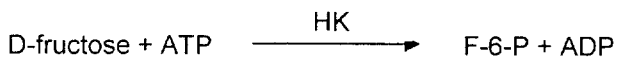
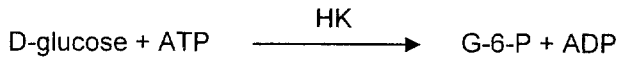
Le nombre de chiffres significatifs pour exprimer le résultat final établi sera en adéquation avec l'expression numérique de l'écart-type de répétabilité (s_r).

Dans l'expression du résultat comporte :

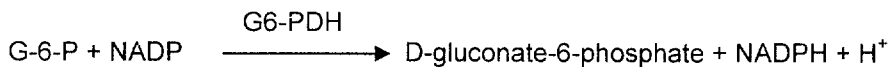
- La valeur de s_r ;
- le nombre de résultats expérimentaux utilisés pour le calcul du résultat final établi ;
- le traitement mathématique à l'origine du résultat (moyenne arithmétique ou médiane) ;
- l'incertitude élargie calculée à l'aide de l'incertitude composée (u_c) et d'un facteur d'élargissement 2 qui donne un niveau de confiance d'environ 95 % ;
- le résultat final encadré : $X \pm$ incertitude élargie (unité précisée).

ANNEXE 3**FICHE TECHNIQUE DOSAGE DU GLUCOSE FRUCTOSE - MÉTHODE UV****1 - Principe**

Le D-glucose et le D-fructose sont phosphorylés en D-glucose-6-phosphate (G-6-P) et D-fructose-6-phosphate (F-6-P) par l'enzyme hexokinase (HK) et l'adénosine-5'- tri phosphate (ATP) avec formation d'adenosine-5'-diphosphate(ADP).

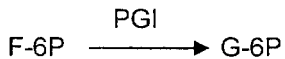


En présence de l'enzyme (G6PDH), G-6-P est oxydée par le NADP en D-gluconate-6-phosphate avec formation de NADPH.



La réaction est stœchiométrique. NADPH est mesuré par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

Le F-6-P est converti en G-6-P par la phospho - glucose isomerase (PGI) :



Le G-6P est à son tour transformé par la G6-PDH pour produire à nouveau du NADPH.

2 - Réactifs

- solution 1 : tampon imidazole pH 7.6 ; sulfate de magnésium
- Solution 2 : NADP ; ATP
- Suspension 3 : HK ; G6-PDH
- Suspension 4 : PGI

3 - Matériel





















- 3 cuves pour photométrie UV
- P₁₀₀₀ et P₁₀₀ et cônes adaptés
- Para film ou bouchons

4 - Protocole opératoire






- Lecture à 340 nm.
- Trajet lumineux : 1 cm.
- Température : 20 - 25° C.
- Lire contre l'air sans cuve dans le trajet lumineux.
- Introduire dans des cuves à essais :

	blanc	essai
eau déminéralisée	2.100 mL	2.000 mL
Filtrat	-	0.100 mL
Solution 1	0.100mL	0.100 mL
Solution 2	0.100 mL	0.100 mL
Mélanger. Lire l'absorbance des solutions (A1) après 3 minutes environ et déclencher la réaction par addition de :		
Suspension 3	0.020 mL	0.020 mL
Mélanger, attendre la fin de la réaction (environ 5 minutes) et lire l'absorbance des solutions (A2). Vérifier après 2 minutes la stabilité de l'absorbance.		
Suspension 4	0.02 mL	0.02 mL
Mélanger, attendre la fin de la réaction (environ 10 minutes) et lire l'absorbance des solutions (A3).		

ANNEXE 4**DONNÉES DE SÉCURITÉ**

	Symboles des risques	Phrases des risques	Limites		Concentration de travail	
Solvant (méthyléthylcétone/Acide acétique/méthanol)	  	R 11-20-22-35-36-66-67 S 9-16-26-30-45-46-64	Conc ≥ 25%	R 11-20-22-35-36-66-67	 	100%
			15% ≤ conc < 25%	R 11-35-36-66-67		
			10% ≤ conc < 15%	R 11-35	 	
			5% ≤ conc < 10%	R 11-34	 	
			1% ≤ conc < 5%	R 36/38		
			Conc < 1%	R		
révélateur	 	R 11-35 S 7-11-26-30-36/37/39-45	Conc ≥ 10%	R 11-35	 	100%
			5% < conc < 10%	R 11-34	 	
			Conc = 5%	R 11-41	 	
			1% ≤ conc < 5%	R 36/38		
			conc < 1%	R		

ANNEXE 4 (suite)
DONNÉES DE SÉCURITÉ

	Symboles des risques	Phrases des risques	Limites			Concentration de travail
Ferricyanure de potassium		R S				15%
Acétate de zinc		R 22-50/53 S 24/25-61	Conc \geq 25%	R 22-50/53		30%
			$2,5\% \leq \text{conc} < 25\%$	R 51/53		
			$0,25\% \leq \text{conc} < 2,5\%$	R 52/53		
			conc < 0,25%	R		
DNS		R 36/38 S 26	Conc \geq 20%	R 36/38		100%
			Conc <20%	R		