



SERVICES CULTURE ÉDITIONS  
RESSOURCES POUR  
L'ÉDUCATION NATIONALE

**Ce document a été numérisé par le CRDP de Bordeaux pour la  
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel**

**session 2011**

# BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR BIOANALYSES ET CONTRÔLES

## ÉPREUVE E3 – UNITÉ U31 BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2011

—  
Durée : 3 heures  
Coefficient : 3  
—

### **Matériels autorisés :**

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique à condition que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Circulaire n°99-186, 16/11/1999)
- Dictionnaire anglais-français

**Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.  
Le sujet se compose de 10 pages, numérotées de 1/10 à 10/10.**

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES	Session 2011
Nom de l'épreuve : Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT
	Page : 1/10

# ÉTUDE DE LA COMPOSITION D'UN ALIMENT POUR PORCELET

Chez les porcins, le coût lié à l'alimentation correspond à une forte part ( environ 50% ) du coût de revient total de l'animal à l'abattage. Dans le cadre d'un élevage intensif, les porcelets sont nourris après sevrage, par des mélanges complexes apportant l'ensemble des éléments nutritifs nécessaires à leur développement.

La composition de ces aliments doit satisfaire certains impératifs :

- constituer un apport énergétique suffisant à une croissance rapide ;
- assurer un apport suffisant en protéines et autres matières azotées pour une augmentation importante de la masse musculaire ;
- permettre le maintien en bonne santé de l'animal.

On se propose d'étudier certains composants de ces aliments.

## **1 - Les apports carbonés (27 points)**

Ils sont constitués à environ 75 % par des céréales comme le blé et l'orge, de mélasses de canne, de pois ou encore de soja. Certains aliments sont complétés par un apport de matières grasses. L'aliment testé contient 66% de céréales dont le glucide essentiel est l'amidon.

**1.1** - Donner la composition chimique de l'amidon.

**1.2** - Donner la structure développée des molécules composant l'amidon. Préciser la nature et la configuration des liaisons chimiques rencontrées.

**1.3** - Stockage des glucides chez les animaux.

Une partie des glucides ingérés sous forme d'amidon peut être utilisée après hydrolyse pour la formation d'une autre forme de réserve glucidique : le glycogène.

**1.3.1** - Le **document 1** expose les étapes de la synthèse et de la dégradation hépatique du glycogène. Nommer les enzymes E1, E2, E3 et E4, ainsi que les intermédiaires X et Y.

**1.3.2** - Les enzymes E3 et E4 sont deux enzymes clés de deux voies métaboliques antagonistes. Nommer ces voies et donner leur rôle respectif.

**1.3.3** - L'activité de ces enzymes est régulée par modification covalente. Préciser les caractéristiques de ce mode de régulation et indiquer les formes actives des deux enzymes. En déduire l'intérêt de ce mode de régulation pour des voies métaboliques antagonistes..

**1.4** - L'aliment contient aussi de la mélasse de canne composée à environ 50 % de saccharose et de traces d'autres glucides comme du glucose. Le **document 2** présente le mode de préparation de l'échantillon et le protocole de dosage du saccharose dans cet échantillon.

**1.4.1** - Donner la dénomination officielle du saccharose.

**1.4.2** - Préparation de l'échantillon E.

**1.4.2.1** - Le réactif de Carrez est un défécant. Sur quel type de molécule ce réactif a-t-il une action ? Quelle est la conséquence de l'addition d'un tel réactif dans le milieu ?

**1.4.2.2** - Citer un autre procédé pouvant être utilisé pour obtenir le même résultat que celui observé avec le réactif de Carrez. Décrire le phénomène mis en jeu.

**1.4.3** - Analyse de la technique de dosage du saccharose utilisée (**document 2**).

**1.4.3.1** - De quel type de dosage s'agit-il ? Justifier.

**1.4.3.2** - Préciser les conditions du dosage. Calculer les concentrations massiques limites en glucose + saccharose de l'échantillon. A quoi correspondent ces deux valeurs ?

**1.4.3.3** - L'échantillon E peut-il être dosé sans dilution ?

**Données** : L'aliment pour porcelet contient 2 % (m/m) de mélasse de canne. La mélasse de canne contient environ 50 % (m/m) de saccharose et des traces d'autres glucides, comme le glucose.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES	Session 2011
Nom de l'épreuve : Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT
	Page : 2/10

**1.4.3.4** - Trois enzymes interviennent au cours de ce test : l'hexokinase, la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la  $\beta$ -fructosidase.

Préciser à quelle classe appartient chacune de ces trois enzymes après avoir expliqué le principe de la classification internationale des enzymes.

**1.4.3.5** - Le calcul de la concentration massique  $c$  ( $\text{g.L}^{-1}$ ) en saccharose dans l'échantillon est réalisé à l'aide de la formule :  $c = 1,64 * \Delta A$ .

Retrouver la valeur du facteur 1,64.

**Données** :  $\Delta A = \Delta A_{\text{saccharose}} - \Delta A_{\text{glucose}}$ .

$$\Delta A_{\text{saccharose}} = (A2_{\text{essai saccharose}} - A1_{\text{essai saccharose}}) - (A2_{\text{blanc saccharose}} - A1_{\text{blanc saccharose}}).$$

$$\Delta A_{\text{glucose}} = (A2_{\text{essai glucose}} - A1_{\text{essai glucose}}) - (A2_{\text{blanc glucose}} - A1_{\text{blanc glucose}}).$$

Masse molaire du saccharose :  $342 \text{ g.mol}^{-1}$ .

**1.4.3.6** - Quel est le rôle de l'essai glucose ?

## 2 - Les apports azotés (10 points)

L'apport en protéines chez le porc est essentiel. L'origine des protéines ajoutées influence la quantité des rejets azotés.

Le pois protéagineux comme source azotée dans les aliments pour porcins présente pour avantages :

- un bon rendement de culture ;
- l'augmentation des qualités organoleptiques de la viande.

Toutefois, son incorporation massive dans les aliments est déconseillée à cause de la présence de facteurs antinutritionnels comme les inhibiteurs trypsique.

**2.1** - L'aliment est enrichi en lysine, méthionine et thréonine qui sont des acides aminés essentiels des porcins.

**2.1.1** - Qu'est ce qu'un acide aminé essentiel ? Citer 2 autres d'acides aminés essentiels chez l'homme.

**2.1.2** - Pourquoi ces acides aminés doivent-ils être ajoutés dans l'aliment ?

**2.2** - Certaines des protéines des pois protéagineux sont sensibles à la protéolyse. Celle-ci est catalysée par des protéases, par exemple la trypsine.

**2.2.1** - Écrire l'équation de la réaction catalysée par une protéase à partir de la formule d'une liaison peptidique.

**2.2.2** - Selon la localisation de la liaison hydrolysée, il existe plusieurs classes de protéases. Nommer et définir ces classes.

**2.2.3** - Le pois contient de nombreuses albumines dont certaines inhibent la trypsine.

**2.2.3.1** - Nommer et décrire les principaux types d'inhibitions enzymatiques.

**2.2.3.2** - L'action des inhibiteurs trypsiniques est levée à saturation en substrat. En déduire le type d'inhibition mis en jeu.

## 3 - Ajouts d'huiles essentielles (23 points)

L'ajout d'huiles essentielles comme le thymol remplace l'emploi d'antibiotiques dans certaines préparations alimentaires. Ces concentrés de principes actifs ont des propriétés biologiques intéressantes. Toutefois, à certaines doses ils présentent des effets néfastes (irritants, diurétiques ...).

On se propose d'élaborer une méthode de mise en évidence et de dosage du thymol par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

### 3.1 - Extraction (7,5 points)

Les étapes de l'extraction sont exposées dans le **document 3**. Cette technique fait intervenir l'utilisation d'un appareil de Soxhlet (**document 4**).

**3.1.1** - Identifier les parties A à D de l'appareil de Soxhlet.

**3.1.2** - Expliquer succinctement les étapes de cette extraction.

**3.1.3** - Le **document 3** mentionne la réalisation de 20 cycles au cours de l'extraction.

**3.1.3.1** - Que représente un cycle d'extraction ? Pourquoi en effectue-t-on plusieurs ?

**3.1.3.2** - À la fin de l'extraction, que contiennent les parties B et D de l'appareil ?

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES	Session 2011
Nom de l'épreuve : Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT
	Page : 3/10

### 3.2 - Séparation par CPG (13,5 points)

3.2.1 - Donner le principe général d'une séparation chromatographique.

3.2.2 - À partir du principe précédemment énoncé, dégager les caractéristiques particulières de la CPG.

3.2.3 - Le **document 5** représente un schéma de l'appareil utilisé. Justifier :

- la présence d'une bombonne d'hélium ;
- la présence d'un four ;
- le conditionnement de la colonne en spirale.

3.2.4 - La séparation nécessite l'application d'un gradient de température. Plusieurs conditions ont été testées. Le **document 6** présente les différents essais de cette mise au point.

3.2.4.1 - L'azulène est une substance de structure proche de celle des principales huiles essentielles mais jamais retrouvée dans les extraits utilisés. Il a été ajouté en même quantité finale dans chacun des essais réalisés. Pourquoi avoir introduit de l'azulène lors de la préparation ?

3.2.4.2 - Pourquoi, lors de la mise au point du dosage, avoir ajouté dans le milieu d'autres substances chimiques que le thymol ? (benzaldéhyde, cinnéole, cinnamaldéhyde, carvacol et eugénol).

3.2.4.3 - Quel protocole apparaît utilisable par la suite pour doser le thymol ? Justifier la réponse en analysant chaque cas.

3.2.5 - Analyse quantitative.

3.2.5.1 - Indiquer la grandeur déduite du chromatogramme qui servira à l'évaluation de la quantité de substance extraite.

3.2.5.2 - On désire préparer des étalons contenant 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,5 et 1 mg de thymol par litre à partir d'une solution mère à 10 mg.L<sup>-1</sup> de ce produit. L'azulène doit être présent dans ces étalons en même concentration que dans les essais. Le diluant est le pentane. Le volume final de chaque étalon doit être de 5 mL.

À l'aide de ces informations et du **document 3**, justifier le mode de préparation de l'étalon à 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de thymol.

Donner sous forme de tableau la composition complète des 6 tubes de gamme.

3.2.5.3 - Comment appelle-t-on ce type d'étalonnage ? Quel est son rôle ?

### 3.3 - Détermination du rendement d'extraction du thymol (2 points)

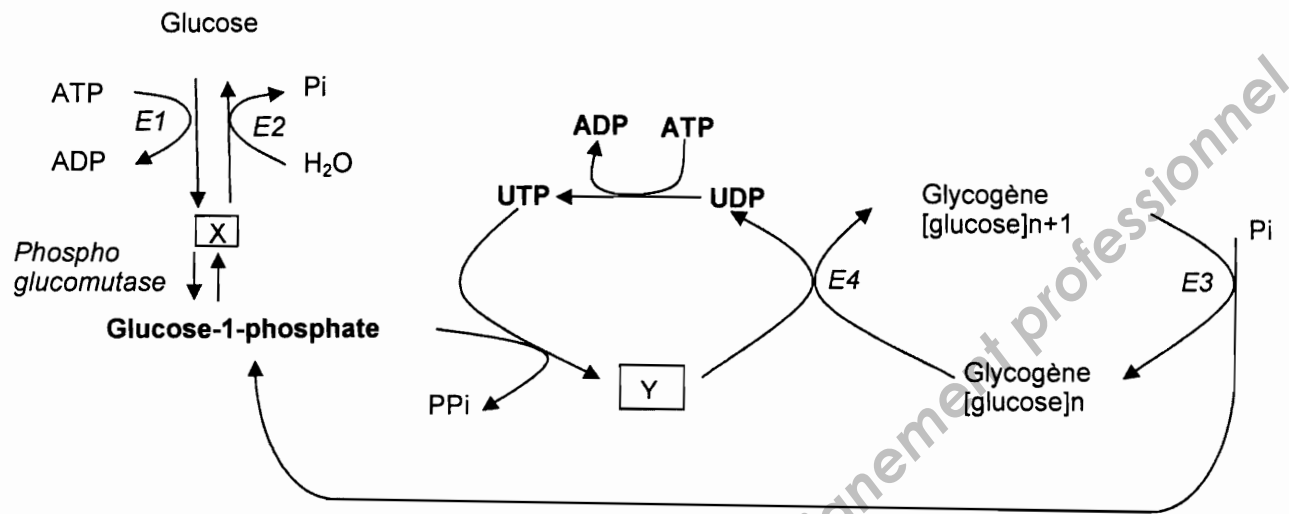
Le **document 7** expose :

- le mode de préparation de l'aliment
- les résultats obtenus au cours de la réalisation de la gamme d'étalonnage ;
- les résultats des essais réalisés sur un aliment pour porcelet.

En déduire la teneur en thymol de l'aliment en g/kg.

Calculer le rendement de l'extraction.

## DOCUMENT 1 : ÉTAPES DU MÉTABOLISME DU GLYCOGÈNE



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel  
réseau SCEREN

# DOCUMENT 2 : PROTOCOLE DE DOSAGE DU SACCHAROSE

## Préparation de l'échantillon

Peser 5g d'aliment. Réduire en fine poudre et introduire dans une fiole jaugée de 100 mL. Ajouter environ 70 mL d'eau et chauffer au bain thermostaté à 60-65°C pendant 20 minutes. Refroidir. Ensuite, ajouter avec précautions 5 mL de solution I de Carrez (hexacyanoferrate de potassium 31,3 g/L) et 5 mL de solution de Carrez II ( sulfate de Zinc à 250 mmol.L<sup>-1</sup> ). Ajuster à pH compris entre 7,5 et 8,5. Mélanger après l'addition de chaque réactif et ajuster au trait de jauge avec de l'eau distillée. Mélanger.

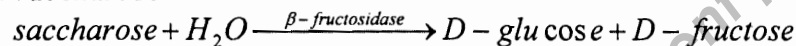
Pour séparer les matières grasses, placer au réfrigérateur pendant au moins 20 minutes. Filtrer la solution froide au travers d'un filtre préalablement humidifié avec la solution. Ecarter les premiers millilitres de filtrat. Le filtrat clair ainsi obtenu est appelé « échantillon E ».

## Dosage du saccharose

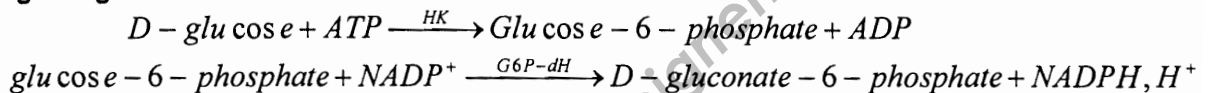
### Principe

La concentration en glucose est déterminée avant et après hydrolyse.

#### **Hydrolyse du saccharose**



#### **Dosage du glucose**



### Composition des réactifs

<b>Solution 1</b>	<b>Suspension 2</b>	<b>Solution 3</b>
- tampon triéthanolamine pH 7,6 - NADP 110 mg - ATP 260 mg - sulfate de magnésium	- Hexokinase ( HK ) 320 U - Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-dH) 160 U	- tampon citrate pH 4,6 - β-fructosidase 720 U

### Mode opératoire

$\lambda=340 \text{ nm}$  ; cuve de 1 cm ; température : 20-25°C ; mesure contre l'air ;  $\epsilon_{\text{NADH}} = 630 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$   
solution essai de 4 µg à 150 µg de glucose + saccharose par cuve.

	Blanc saccharose	Essai saccharose	Blanc glucose	Essai glucose
Solution 3	0,200 mL	0,200 mL	-	-
Echantillon E	-	0,100 mL	-	0,100 mL
Mélanger. Incuber 15 minutes à 20-25°C ou 5 minutes à 37°C. Ajouter				
Solution 1	1,000 mL	1,000 mL	1,000 mL	1,000 mL
Eau distillée	1,800 mL	1,700 mL	2,000 mL	1,900 mL
Mélanger. Lire les absorbances de ces solutions après environ 3 minutes ( <b>A1</b> ).				
Déclencher la réaction par addition de :				
Suspension 2	0,020 mL	0,020 mL	0,020 mL	0,020 mL
Mélanger. Attendre que la réaction soit complète ( approx. 10-15 minutes ) et lire les absorbances des solutions ( <b>A2</b> ).				
Si la réaction n'est pas arrêtée après 15 minutes, continuer à lire les absorbances à 2 minutes d'intervalles jusqu'à ce que l'absorbance se stabilise.				

### DOCUMENT 3 : ÉTAPE DE L'EXTRACTION DU THYMOL

Broyer 50g d'aliment pour obtenir une poudre fine.

Introduire 20g exactement de poudre dans une cartouche de Soxhlet.

Ajouter environ 200 mL de pentane dans l'appareil.

Réaliser 20 cycles d'extraction.

Transvaser dans une fiole jaugée de 200 mL.

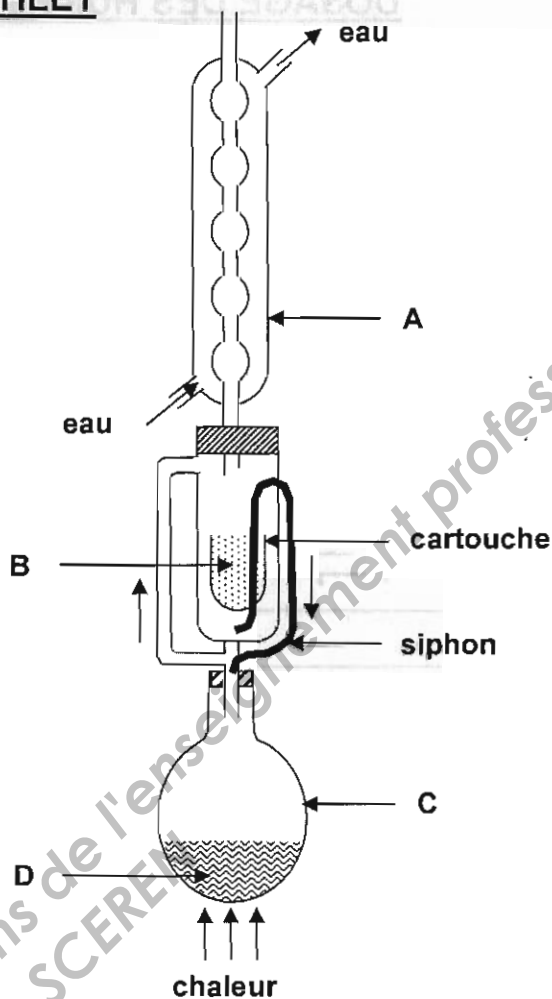
Ajouter 2 mL d'une solution d'azulène à 50 µg/mL.

Compléter au trait de jauge.

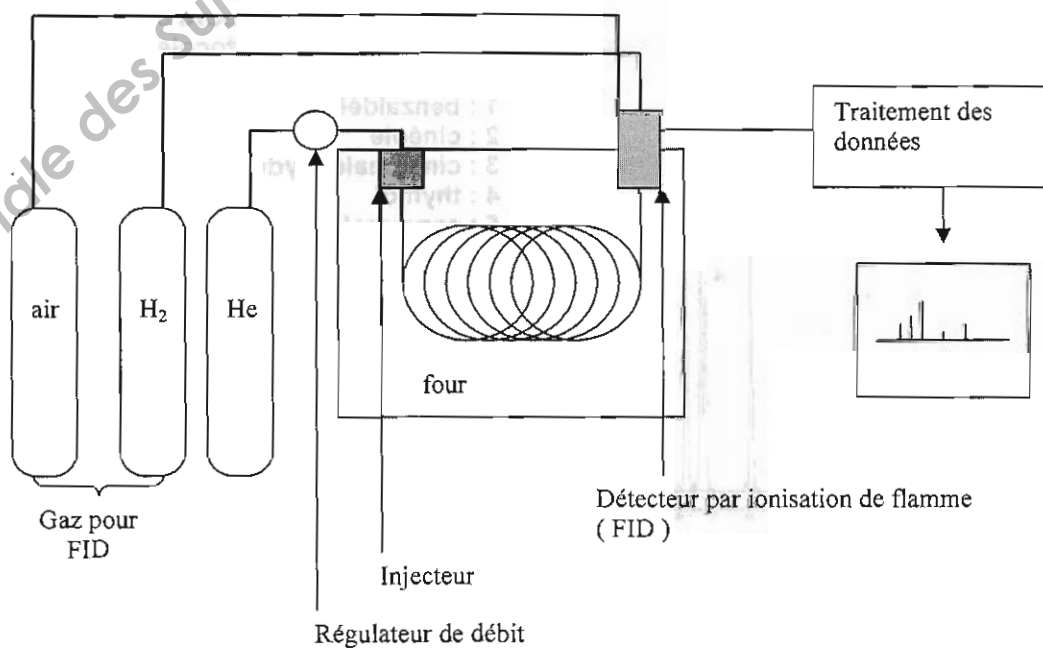
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel  
réseau SCEREN

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2011
Nom de l'épreuve : Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT	Page : 7/10

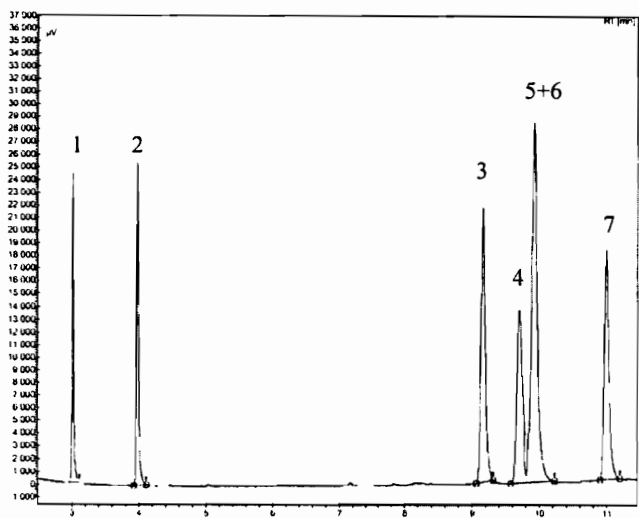
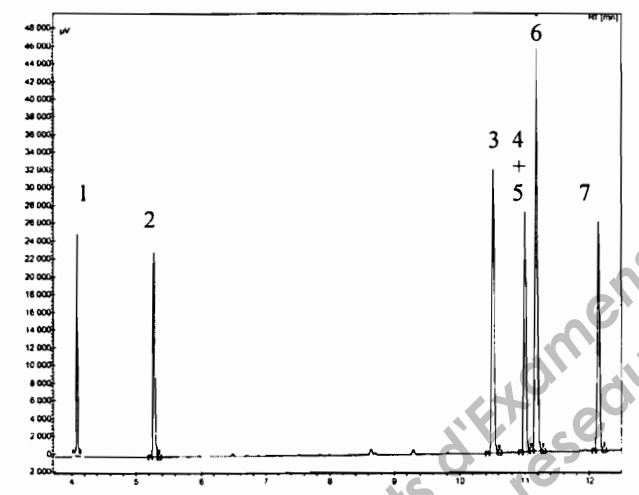
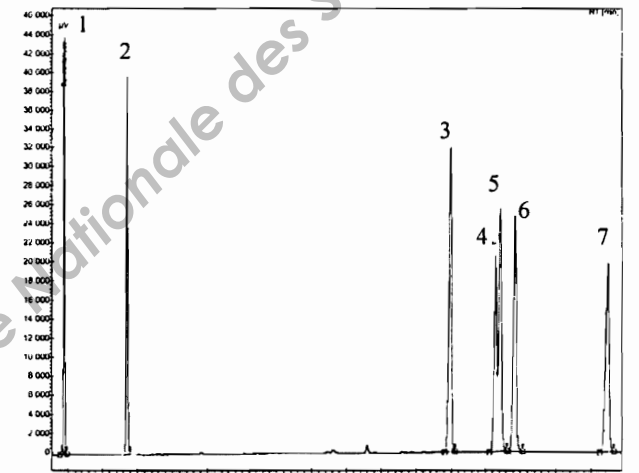




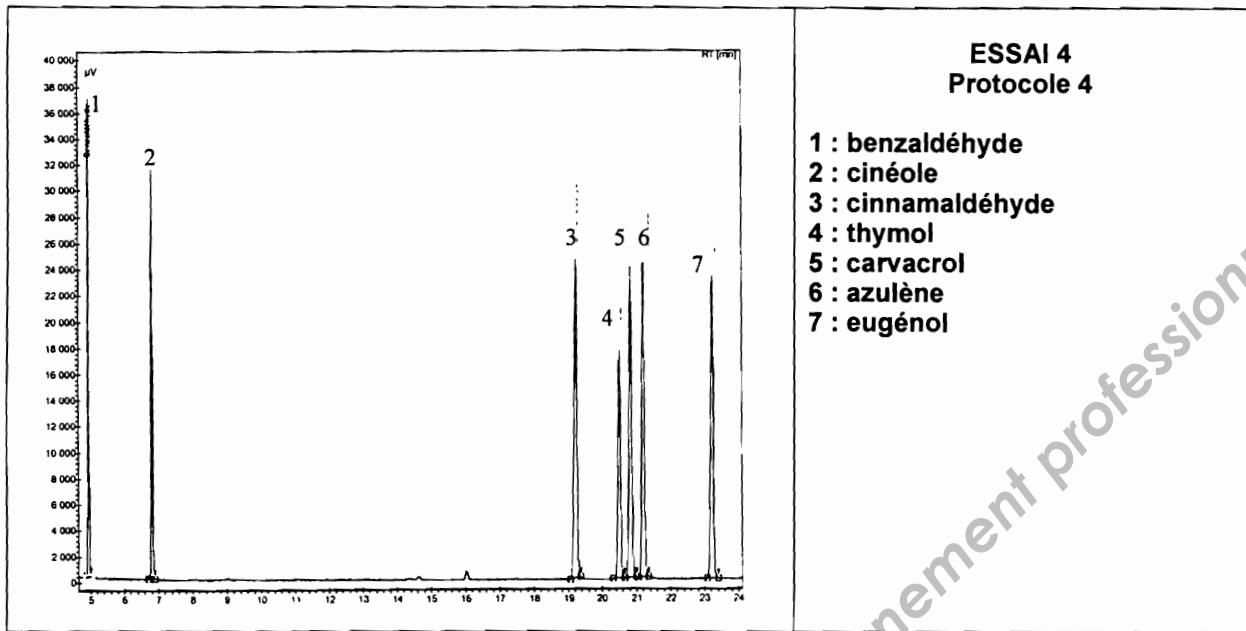
DOCUMENT 5 : SCHEMA SIMPLIFIE D'UN APPAREIL DE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE



# DOCUMENT 6 : MISE AU POINT D'UNE MÉTHODE DE SÉPARATION ET DE DOSAGE DES HUILES ESSENTIELLES

	<p style="text-align: center;"><b>ESSAI 1</b> Protocole 1</p> <p>1 : benzaldéhyde 2 : cinéole 3 : cinnamaldéhyde 4 : thymol 5 : carvacrol 6 : azulène 7 : eugénol</p>
	<p style="text-align: center;"><b>ESSAI 2</b> Protocole 2</p> <p>1 : benzaldéhyde 2 : cinéole 3 : cinnamaldéhyde 4 : thymol 5 : carvacrol 6 : azulène 7 : eugénol</p>
	<p style="text-align: center;"><b>ESSAI 3</b> Protocole 3</p> <p>1 : benzaldéhyde 2 : cinéole 3 : cinnamaldéhyde 4 : thymol 5 : carvacrol 6 : azulène 7 : eugénol</p>

## DOCUMENT 6 : SUITE



## DOCUMENT 7 : RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

### Préparation de l'aliment

On utilise un aliment sec pour porcelet ne contenant pas de thymol  
Ajouter à 50,0 g d'aliment 4 mL d'étalon thymol à 100 mg/L.  
Mixer l'échantillon.  
Procéder comme décrit dans le *document 4*.

### Gamme d'étalonnage

Étalon	1	2	3	4	5
Concentration en thymol mg/L	1	0,5	0,2	0,1	0
Aires corrigées	0,0915	0,0445	0,0165	0,0056	0,000

### Traitement de l'essai

Essai	1	2
Masse pesée ( g )	20,01	20,00
Aire corrigée	0,0694	0,0690