



**LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Bordeaux
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR BIOANALYSES ET CONTRÔLES

ÉPREUVE E5 – UNITÉ U51 TECHNIQUES DE BIOCHIMIE

SESSION 2011

—
Durée : 4 heures
Coefficient : 4
—

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.

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

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 13 pages, numérotées de 1/13 à 13/13.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES	Session 2011
Nom de l'épreuve : Techniques de biochimie	Code : BAE5TB
	Page : 1/13

CONTRÔLE QUALITÉ D'UNE BOISSON ÉNERGÉTIQUE POUR SPORTIF

Contexte professionnel

On étudie le complément alimentaire *Active PRO 80 goût vanille*. Très riche en protéines, il est destiné aux sportifs de haut niveau.

Le laboratoire de contrôle souhaite effectuer un contrôle qualité du produit en vérifiant les données annoncées sur l'étiquette (**document 1, page 8/11**).

On reprend une masse m exacte de poudre *Active PRO 80* dans 200 mL d'eau distillée.
(la masse m précisée le jour de l'épreuve : $m = \dots\dots\dots$)

On obtient la solution S.

Les contrôles portent sur :

- La concentration en protéines.
- La présence des acides aminés essentiels.
- La concentration en vitamine C.

Compétences

Réaliser des analyses mettant en œuvre des appareillages optiques.

Réaliser des analyses mettant en œuvre une technique chromatographique.

Préparer et prétraiter les échantillons.

Exprimer, valider et interpréter les résultats.

Mise en œuvre

Activités professionnelles	Documents et ressources	Pages
1 Dosage colorimétrique des protéines par la méthode du biuret. (33 points)	Fiche protocole 1 Fiche sécurité Fiche spectrophotomètre (au poste de travail) Document 1 Document 2	3 12 et 13 9 11
2 Chromatographie bidimensionnelle sur couche mince. (20 points)	Fiche protocole 2 Fiche sécurité	4, 5 et 6 12 et 13
3 Dosage de la vitamine C méthode spectrophotométrique. (23 points)	Fiche protocole 3 Fiche sécurité Fiche centrifugeuse (au poste de travail) Document 1 Document 2	7 et 8 12 et 13 9 11
4 Édition des résultats	Feuille de traçabilité (à compléter et à rendre avec la copie)	10

Rapport d'analyses (4 points)

Conclure à l'aide du document 1 :

- quant à la conformité par rapport à l'étiquetage du complément alimentaire *Active PRO 80*,
- quant à la présence des acides aminés essentiels dans le complément alimentaire.

Principe

En milieu alcalin, toutes les molécules possédant au moins deux liaisons peptidiques voisines, peuvent former avec les ions Cu^{2+} contenus dans le réactif de Gornall un complexe bleu-violet dont le maximum d'absorption se situe à 540 nm.

Matériel et réactifs

- Solution notée « **S** » : 10 mL
- Solution notée « **étalon Alb** » d'albumine à 10 g.L^{-1} : 5 mL
- Eau physiologique : 20 mL
- Réactif de Gornall : 25 mL (en distributeur)
- Macrocuves de spectrophotomètre : 8
- Fiole jaugée de 10 mL
- Tubes à hémolyse : 8
- Pipette jaugée de 2 mL
- Pipette automatique P_{1000} + cônes

Protocole opératoire

Étalonnage

Dans 6 tubes à hémolyse, introduire de 0 à 0,500 mL de solution notée « **étalon Alb** ».

Compléter les tubes à 0,500 mL avec de l'eau physiologique.

Ajouter 2 mL de réactif de Gomall.

Attendre 30 minutes à l'obscurité, à température du laboratoire.

Lire l'absorbance à 540 nm contre le témoin réactif.

Faire relever toutes les absorbances par un examinateur.

Dosage de la solution S

Réaliser deux essais sur $E = 0,500 \text{ mL}$ de prise d'essai de solution S diluée au 1/5.

Réaliser la dilution en présence d'un examinateur.

Diluer la solution « **S** » au 1/5 en eau physiologique.

Compte rendu

1.1 - Présenter un tableau complet de colorimétrie.

1.2 - Compléter le tableau sur la feuille de traçabilité.

1.3 - À l'aide de l'outil informatique, tracer la courbe d'étalonnage du spectrophotomètre.

1.4 - Déterminer la concentration massique de protéines en g.L^{-1} dans la solution S.

1.5 - Calculer la masse de protéines pour 100 g de poudre **Active PRO 80**. Exprimer le résultat en conformité avec le document 2, page 11/13.

Données :
 $s_r = 1 \text{ mg} / 100 \text{ g}$ de poudre
 $u_c = 2 \text{ mg} / 100 \text{ g}$ de poudre

Parmi les acides aminés standards, neuf sont essentiels au bon fonctionnement de l'organisme : Leu, Thr, Lys, Trp, Phe, Val, Met, Ile et His. On souhaite vérifier leur présence dans le produit analysé.
La chromatographie sera réalisée sur un échantillon noté « C » obtenu par traitement de la solution notée « S ». Ce traitement détruit certains acides aminés.

Principe

La chromatographie bidimensionnelle permet de séparer des composés de polarité proche. On utilise pour cela deux phases mobiles successives de polarité différente.

Matériels et réactifs

- Cuve à chromatographie
 - Plaque de silice 20 x 20 cm tamponnée à pH 6,8
 - Phase mobile 1 PM1 : éthanol / méthanol / eau (40/30/30)
 - Phase mobile 2 PM2 : propanol 2 / eau (60/40)
 - Réactif de révélation à la ninhydrine avec pinceau
 - Mélange témoin MT1 : His, Phe, Val (1 mL)
 - Mélange témoin MT2 : Lys, Leu, Trp (1 mL)
 - Mélange témoin MT3 : Ile, Met, Thr (1 mL)
 - Échantillon noté « C » (1 mL)
 - Thermoventilateur
 - Étuve à 105°C
 - Capillaires : 4
- } en tubes à hémolyse

Protocole opératoire

Tracer 2 lignes de dépôt comme indiqué sur le gabarit.

Déposer l'échantillon noté « C » (une application).

Déposer les mélanges témoins notés « MT1 », « MT2 », « MT3 », sur les lignes dépôts 1 et 2 (une seule application pour chaque étalon).

Effectuer la première migration dans le solvant 1 sur une hauteur d'environ 8 cm (durée estimée 1 heure).

Sécher la plaque.

Effectuer la deuxième migration dans le solvant 2 sur une hauteur d'environ 8 cm (durée estimée 1 heure).

Sécher et révéler la plaque à la ninhydrine.

Compte rendu

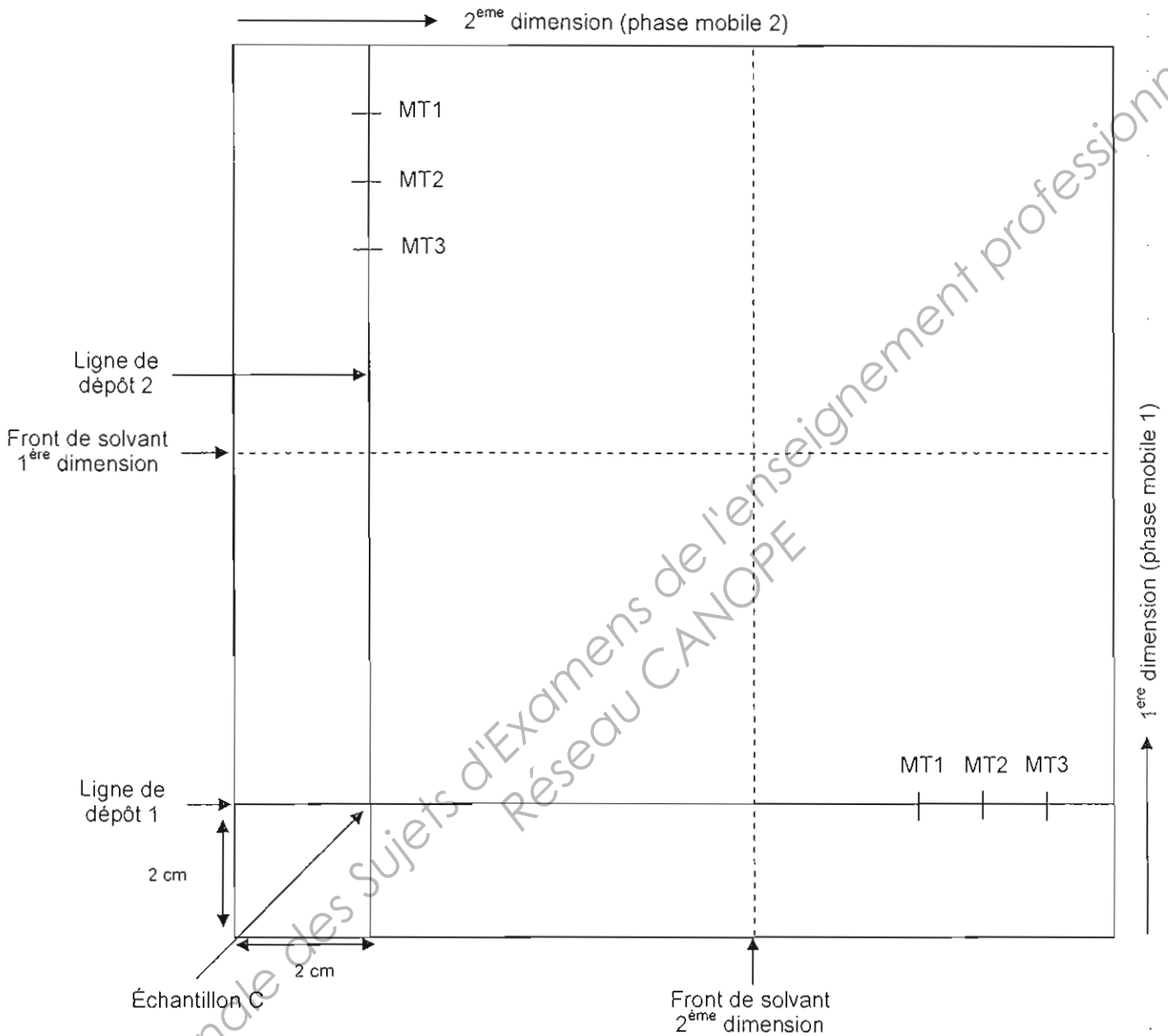
2.1 - À l'aide des résultats présentés page 6/13, identifier visuellement les acides aminés des mélanges témoins (le calcul des Rf n'est pas demandé).

2.2 - Identifier sur le chromatogramme les acides aminés présents dans l'échantillon noté « C ».

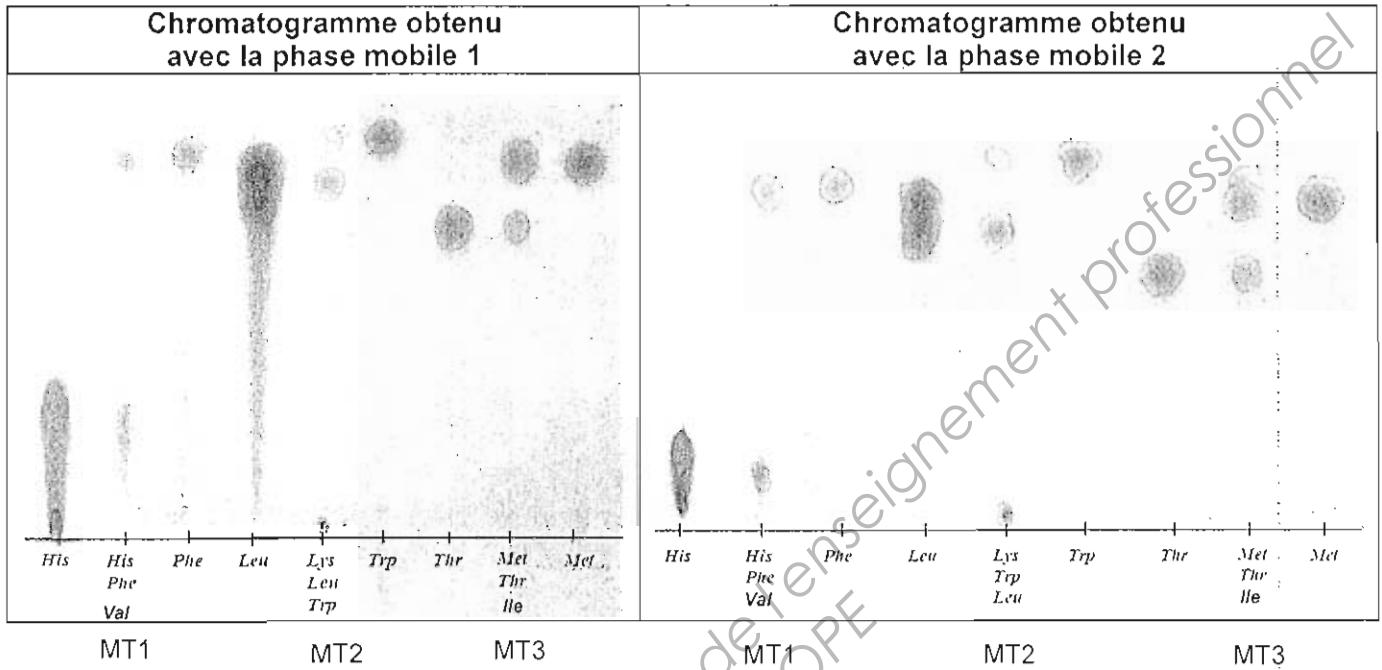
2.3 - Conclusion.

Laisser le chromatogramme sur la pailasse.

Gabarit



Résultats obtenus pour les étalons



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau CANOPE

Le DCPIP (2,6 de solution de dichlorophénol indophénol) oxydé est rose en milieu acide, bleu en milieu basique ou neutre. Il est incolore sous sa forme réduite.

À pH4, le DCPIP :

- est réduit instantanément par la vitamine C (réaction mole à mole),
- se réduit spontanément mais lentement.

En suivant au cours du temps la diminution de l'absorbance à 520 nm, il est possible de déterminer par extrapolation graphique l'absorbance au temps zéro. Cette valeur d'absorbance est reliée à la quantité de Vitamine C dans l'échantillon.

Le DCPIP et la Vitamine C réagissent mole à mole.

Matériel et réactifs

- Solution notée « S »
- Acide trichloracétique 20 % noté « TCA » : 2 mL
- DCPIP 100 mg.L⁻¹ : 3 mL
- Acide métaphosphorique 20 g.L⁻¹ : 3 mL
- Solution étalon de Vitamine C à exactement 30 mg/L notée « Vit C »
- 1 tube eppendorf + mini-centrifugeuse
- 4 microcuves + portoir
- Eau distillée
- P₁₀₀₀ + cônes
- Chronomètre
- Spectrophotomètre
- Eau distillée bouillie et refroidie

Protocole opératoire

Défécation de la solution S

Introduire dans un tube eppendorf :

- E = 1 mL de solution S
- 0,50 mL d'acide trichloracétique 20 %

Centrifuger 1 minute à 14 000 rpm.

On obtient le surnageant S'.

Blanc

On réalisera le zéro du spectrophotomètre à 520 nm sur 0,50 mL d'acide métaphosphorique + 1 mL d'eau distillée bouillie et refroidie.

Témoin de la réduction spontanée du DCPIP

Introduire dans une microcuve :

- 0,50 mL d'acide métaphosphorique
- 0,50 mL eau distillée bouillie et refroidie

À t = 0, ajouter 0,50 mL de DCPIP, mélanger rapidement et lire les absorbances toutes les 15 secondes pendant 5 minutes (la 1^{ère} mesure sera faite à t = 30 secondes) . .

Étalon

Opérer comme pour le témoin en remplaçant l'eau distillée bouillie et refroidie par 0,50 mL de solution étalon de Vit C.

Essai vitamine C

Réaliser 1 essai en suivant le protocole décrit pour le témoin en remplaçant l'eau distillée bouillie et refroidie par 0,5 mL de surnageant S'.

Résultats

- 3.1 - Réaliser les 3 représentations graphiques $A_{520} = f(t)$ sur une même feuille de papier millimétré. Extrapoler la partie linéaire de chaque courbe afin de déterminer les 3 absorbances au temps $t = 0$.
- 3.2 - Compléter le tableau sur la feuille de traçabilité.
- 3.3 - Calculer la masse de vitamine C contenue dans la cuve essai selon la formule suivante :

$$m_{\text{vit C essai}} \approx \frac{m_{\text{vit C étalon}} \cdot \Delta A_{\text{essai}}}{\Delta A_{\text{étalon}}}$$

avec $m_{\text{vit C étalon}}$: masse de Vit C dans la cuve étalon en mg.

- 3.4 - En déduire la masse de vitamine C contenue dans 100 g de poudre. Exprimer le résultat en conformité avec le document 2, page 11/13.

Données :

$\Delta A_{\text{essai}} = A_{\text{témoins}} - A_s$

$\Delta A_{\text{étalon}} = A_{\text{témoins}} - A_{\text{étalon}}$

$u_c = 3 \text{ mg}/100 \text{ g de poudre}$

DOCUMENT 1

Caractéristiques du produit		Valeurs pour 100 g
<u>Valeurs Nutritionnelles</u>	Energie (/100g)	366 kcal
	Energie (/100g)	1553 kJ
	Protéine (/100g)	80 g
	Glucides (/100g)	9.6 g
	Lipides (/100g)	0.8 g
<u>Vitamines et Minéraux</u>	Acide Folique	0.2 mg
	Acide Panthénique	6 mg
	Vitamine B1	1.4 mg
	Vitamine B12	0.001 mg
	Vitamine B2	1.8 mg
	Vitamine B6	2 mg
	Vitamine C	80 mg
	Calcium	1100 mg
	Vitamine E	10 mg
	Magnésium	125 mg
	Iliacine	12 mg
	Phosphore	670 mg
	Sodium	40 mg
<u>Acides Aminés</u>	Acide L. Aspartique	7500 mg
	Acide L. Glutamique	22000 mg
	L. Alanine	3200 mg
	L. Arginine	3800 mg
	L. Cystine	500 mg
	L. Glycine	2000 mg
	L. Histidine	3200 mg
	L. Isoleucine	5900 mg
	L. Leucine	10200 mg
	L. Lysine	8400 mg
	L. Methionine	3000 mg
	L. Phenylalanine	5.4 g
	L. Proline	10200 mg
	L. Serine	6300 mg
	L. Threonine	4800 mg
	L. Tryptophane	1400 mg
	L. Tyrosine	5700 mg
L. Valine	7400 mg	

FEUILLE DE TRAÇABILITÉ

(à compléter et à rendre avec la copie)

NOM DE L'OPÉRATEUR

Date :

Poste n°

Dosage des protéines par méthode colorimétrique du Biuret

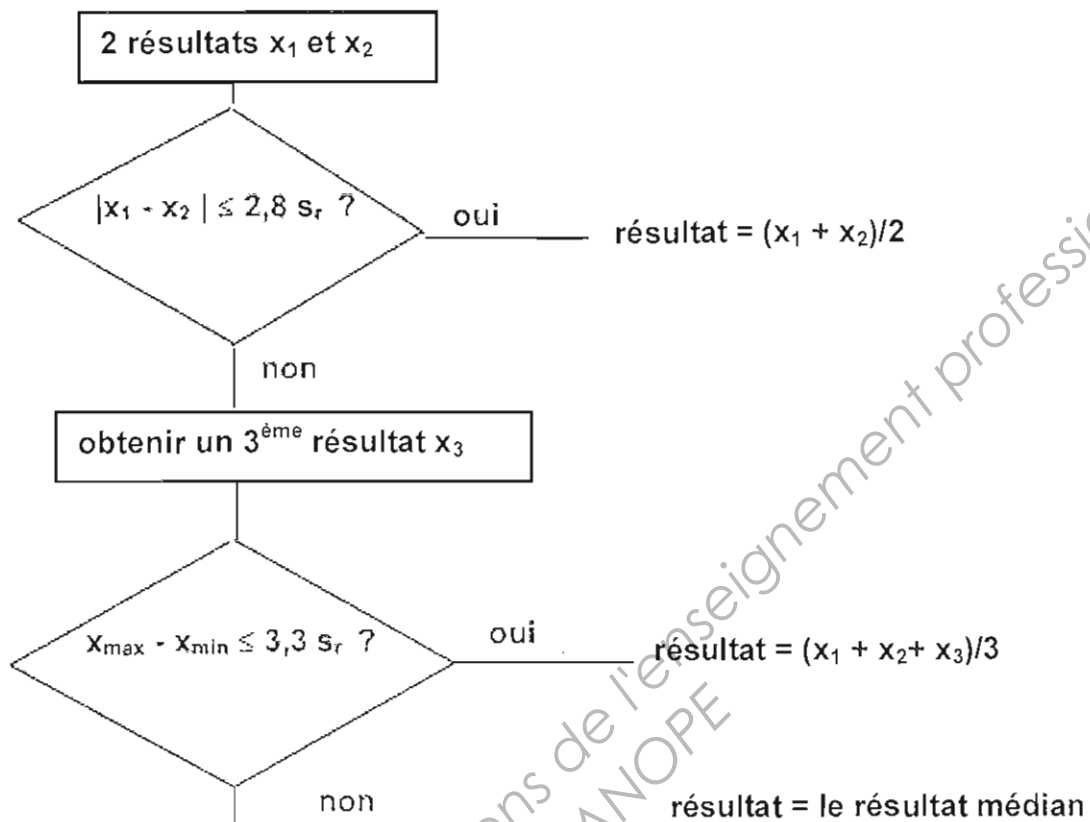
	0	1	2	3	4	5	E1	E2
masse d'albumine (mg / tube)								
A_{540}								

Dosage de la vitamine C par le DCPIP

	Témoin	Étalon	S'
A_{540} à t = 0	$A_{\text{témoin}} =$	$A_{\text{étalon}} =$	$A_{S'} =$

DOCUMENT 2

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).





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).

$$(*)s_r = \frac{Cv \cdot \bar{x}}{100}$$

FICHE SÉCURITÉ

PRODUITS PURS

Réactifs & Pictogrammes & Mentions d'avertissement	Mentions de danger	Conseils de prudence
<p><u>Éthanol</u></p>  <p>Danger</p>	<p>H 225 : Liquide et vapeurs très inflammables.</p>	<p>P 210 : Tenir à l'écart de la chaleur/ des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. Ne pas fumer.</p>
<p><u>Méthanol</u></p>  <p>Danger</p>	<p>H 225 : Liquide et vapeurs très inflammables. H 331 : Toxique par inhalation. H 311 : Toxique par contact cutané. H 301 : Toxique par ingestion. H 370 : Risque avéré d'effets graves pour les organes.</p>	<p>P 210 : Tenir à l'écart de la chaleur/ des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. Ne pas fumer. P 280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P 302 + P 352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon. P 305 + P 351+ P 338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P 309 + P 311 : EN CAS D'EXPOSITION OU D'UN MALAISE : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.</p>
<p><u>Alcool isopropylique Propanol 2</u></p>  <p>Danger</p>	<p>H 225 : Liquide et vapeurs très inflammables. H 319 : Provoque une sévère irritation des yeux. H 336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges.</p>	<p>P 210 : Tenir à l'écart de la chaleur/ des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. Ne pas fumer. P 233 : Maintenir le récipient fermé de manière étanche. P 305 + P 351 + P 338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.</p>
<p><u>Acide trichloroacétique 20 %</u></p>  <p>Danger</p>	<p>H 314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H 335 : Peut irriter les voies respiratoires. H 410 : Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.</p>	<p>P 273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P 280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P 301 + P 330 + P 331: EN CAS D'INGESTION : Rincer la bouche. NE PAS faire vomir. P 305 + P 351 + P 338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P 309 + P 311 : EN CAS D'EXPOSITION OU D'UN MALAISE : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.</p>

FICHE SÉCURITÉ (suite)

MÉLANGES

Réactifs & Pictogrammes	Phrases de risque	Conseils de prudence
Réactif de Gornall 	R 22 : Nocif en cas d'ingestion R 36/38 : Irritant pour les yeux et la peau R 50/53 : Très toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique R 34 : Provoque des brûlures	S 22 : Ne pas respirer les poussières. S 60 : Éliminer le produit et son récipient comme déchet dangereux. S 61 : Éviter le rejet dans l'environnement. S 26 : En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. S 36/37/39 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. S 45 : En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin.
Solvant 	R 11 : Facilement inflammable R 22 : nocif en cas d'ingestion R 37/38 : Irritant pour les voies respiratoires et la peau. R 41 : Risque de lésions oculaires graves R 67 : L'inhalation de vapeur peut provoquer somnolence et vertiges. R 10 : Inflammable R 35 : Provoque de graves brûlures	S 7 : Conserver le récipient dans un endroit bien ventilé. S 16 : Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles. Ne pas fumer S 23 : Ne pas respirer les gaz / vapeurs / fumées / aérosols. S 26 : En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. S 36/37/39 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage S 45 : En cas d'accident ou de malaise: consulter immédiatement un médecin.
Réactif à la ninhydrine 	R 11 : Facilement inflammable R 36 : Irritant pour les yeux. R 66 : L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau. R 67 : L'inhalation de vapeurs peut provoquer somnolence et vertige	S 7 : Conserver le récipient dans un endroit bien ventilé. S 16 : Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles. Ne pas fumer S 26 : En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
Acide métaphosphorique à 20 g.L⁻¹ 	R 36/38 : Irritant pour les yeux et la peau	S 26 : En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. S 28 : Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec ... (produit approprié à indiquer par le fabricant) S 64 : En cas d'ingestion, rincer la bouche avec de l'eau (seulement si la personne est consciente)