



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.**

**Campagne 2012**

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR**  
**QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES**  
**ET LES BIO-INDUSTRIES**

**E3 - BIOCHIMIE – BIOLOGIE**

**SESSION 2012**

Durée : 4 heures  
Coefficient : 5

**Matériel autorisé :**

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 du 16 novembre 1999).

**Document à rendre avec la copie :**

- Annexe A page 10/10

Les trois parties du sujet sont indépendantes  
et devront être traitées sur **3 COPIES DIFFÉRENTES**.

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 Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries	Session 2012
E3 - biochimie - biologie	Code : QABIOCH
	Page : 1/10

# BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET BIO-INDUSTRIES

Session 2012

## E3 - Biochimie – Biologie

### LES PRODUITS LAITIERS

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraudes comme suit : « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de "colostrum". Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance correspond au lait de vache. Il représente une matière première très utilisée dans l'industrie agro-alimentaire. »

#### PARTIE MICROBIOLOGIE (44 points)

##### 1. COMPOSITION DU LAIT

(7 points)

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet. Protides, glucides, lipides, sels minéraux et vitamines sont présents à des concentrations satisfaisantes pour la croissance et la multiplication cellulaire. Les microorganismes existant dans l'environnement trouvent dans le lait un substrat idéal pour leur développement. La présence de facteurs de croissance permet de satisfaire de nombreuses espèces microbiennes exigeantes et difficiles à cultiver dans un milieu moins complet.

Le lait peut contenir des substances antibactériennes à l'origine d'inhibitions :

- Inhibition spécifique due aux immunoglobulines du colostrum (premier produit de la lactation), dont le taux peut atteindre  $80 \text{ g.L}^{-1}$  la première heure ;
- Inhibition non spécifique provenant de systèmes enzymatiques ou de protéines telles que :
  - la lactoperoxydase qui libère du peroxyde d'hydrogène, très actif contre les streptocoques ;
  - le lysozyme dont la concentration peut atteindre  $100 \text{ g.L}^{-1}$ .

1.1. Préciser pourquoi la définition du lait fait mention de l'absence de colostrum.

1.2. Expliquer l'effet inhibiteur du peroxyde d'hydrogène produit par la lactoperoxydase sur les streptocoques.

1.3. Donner la nature et le rôle du lysozyme ; préciser son site d'action.

1.4. Représenter un schéma légendé de la structure cible du lysozyme.

BTS Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries	Session 2012
E3 - biochimie - biologie	Code : QABIOCH
	Page : 2/10

## 2. LA MICROFLORE DU LAIT

(13 points)

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5 000 microorganismes/mL et moins de 1 coliforme/mL). Ces microorganismes sont essentiellement des saprophytes retrouvés au niveau du pis et des canaux galactophores. D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire. Il peut s'agir par exemple d'agents de mammites comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*.

2.1. Définir le terme « saprophyte ».

2.2. Citer deux microorganismes de la flore endogène normale du lait.

2.3. Préciser la conséquence possible de l'ingestion de lait contaminé par *Staphylococcus aureus*.

2.4. Les origines de la bio-contamination du lait pendant ou après récolte sont très diverses. Préciser deux sources possibles de contamination en donnant pour chacune un exemple de microorganisme.

2.5. Citer les différentes conséquences de la multiplication bactérienne dans le lait.

2.6. Le lait peut également renfermer des mycotoxines.

2.6.1. Citer le type de microorganismes responsables de la production de mycotoxines dans le lait et donner un exemple de genre.

2.6.2. Préciser deux origines possibles de la présence des mycotoxines dans le lait.

## 3. MODIFICATION DU LAIT APRÈS RÉCOLTE

(4 points)

Les méthodes de réfrigération du lait à la ferme en tank réfrigéré et de collecte en citerne influencent considérablement la nature de la flore microbienne du lait cru. Avant l'implantation de ces méthodes, la flore dominante était constituée de bactéries lactiques. La conservation du lait au froid aboutit à une sélection des microorganismes psychrotrophes. Ces microorganismes proviennent du sol, des eaux ou des fourrages.

3.1. Définir le terme « psychrotrophe ».

3.2. Expliciter les deux types de métabolisme fermentaire que peuvent réaliser les bactéries lactiques.

## 4. DESTRUCTION DES MICRO-ORGANISMES

(8 points)

Les agriculteurs doivent livrer le lait le moins contaminé possible. C'est au fromager d'ajouter les ferments nécessaires à sa transformation après une éventuelle pasteurisation.

Pour le nettoyage et la désinfection du matériel, le fromager dispose d'un éventail de produits chimiques qu'il doit choisir sur une liste dite "positive" de produits autorisés en raison de leur absence de toxicité. La désinfection utilise par exemple des produits chlorés, des solutions d'acides.

4.1. Expliquer en quoi consiste la pasteurisation et préciser les conséquences de ce procédé sur la flore du lait.

4.2. Comparer la pasteurisation avec la stérilisation U.H.T. (Ultra Haute Température).

4.3. Préciser le rôle du nettoyage.

BTS Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries	Session 2012
E3 - biochimie - biologie	Code : QABIOCH Page : 3/10

4.4. Donner le but de la désinfection.

4.5. Citer un désinfectant d'un des types mentionnés dans le texte.

## 5. TRANSFORMATION DU LAIT

(12 points)

Le yaourt est obtenu par fermentation du lait par des bactéries lactiques thermophiles : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*.

La production des levains lactiques met en œuvre une série de cultures successives avec augmentation progressive du volume de la culture.

Au cours d'une fabrication de levain, le nombre de microorganismes requis pour l'ensemencement n'est pas atteint. Une analyse du filtrat de la culture fait apparaître des bactériophages de lactobacilles. La particule active a une longueur totale de 212 nm et sa structure est représentée sur l'annexe 1 (page 8/10).

5.1. Définir « bactériophage ».

5.2. Reporter, sur la copie, les numéros et les légendes du schéma de l'annexe 1 (page 8/10).

5.3. Décrire le cycle de multiplication de ce bactériophage dans la culture considérée plus haut.

5.4. Un échantillon de milieu a été filtré sur membrane pour éliminer les bactéries. Dans deux boîtes de milieu M17, une goutte de culture de 24 heures de la souche sensible au phage et une goutte de la dilution de filtrat sont déposées avec des pipettes calibrées délivrant 25 gouttes par mL. L'étalement est réalisé avec un étaleur stérile. Après incubation de 6 heures à 45 °C, les plages de lyse sur les boîtes sont dénombrées :

- pour la dilution  $10^{-3}$ , les plages de lyse sont confluentes ;
- pour la dilution  $10^{-4}$ , 160 plages de lyse sont comptées.

Calculer le nombre de bactériophages contenus dans 1 mL de filtrat de culture.

Le lait est un produit complexe contenant de nombreux éléments nutritifs nécessaires au développement des jeunes mammifères.

### Les constituants du lait

Constituants principaux	Composition moyenne
Eau	86,9 %
Matières grasses	3,9 %
Protéines et composés azotés non protéiques	3,2 %
Glucides	5,1 %
Sels minéraux	0,9 %
Constituants mineurs	
Enzymes, vitamines, pigments (carotènes, xanthophylles, riboflavine)	
Cellules diverses (cellules épithéliales, leucocytes, bactéries, levures, moisissures)	
Éléments divers (dioxyde de carbone, dioxygène, diazote et autres gaz)	
Matières étrangères	

## 1. ÉTUDE DES CONSTITUANTS DU LAIT

(24 points)

Le lait est une matière première largement utilisée par les industries de transformation agro-alimentaires. C'est pourquoi il est important d'en maîtriser sa composition.

### 1.1. Les protéines du lait

Le lait contient des protéines variées.

1.1.1. Définir les différents niveaux de structure des protéines.

1.1.2. Les protéines présentent des propriétés physiques exploitables en agroalimentaire. Citer deux de ces propriétés.

### 1.2. Les lipides du lait

1.2.1. Le lait est une émulsion. Donner la définition d'une émulsion.

À partir du tableau ci-dessus présentant la composition du lait, déterminer la répartition des principaux constituants dans les différentes phases.

1.2.2. Le lait contient des triglycérides. Schématiser le triglycéride suivant :

1-palmityl-2,3-diolelylglycérol, sachant que l'acide palmitique est un acide gras saturé à 16 atomes de carbone et que l'acide oléique est un acide gras monoinsaturé C<sub>18:1</sub> n-9.

1.2.3. Le lait contient également des phospholipides. L'un d'entre eux est la phosphatidylcholine présentée en annexe A (page 10/10). Préciser sur l'annexe A (page 10/10) les différents pôles remarquables de ce phospholipide.

### 1.3. Les glucides du lait

Le lactose est le principal glucide présent dans le lait.

1.3.1. Donner la formule développée du lactose, sachant que son nom scientifique est  $\beta$ -D galactopyranosyl (1  $\rightarrow$  4) D glucopyranose.

1.3.2. De nombreux êtres humains présentent une intolérance au lait car ils ne possèdent pas l'enzyme permettant la digestion du lactose. Citer le nom de cette enzyme. Présenter la réaction d'hydrolyse du lactose (formules chimiques exigées).

## 2. ÉTUDE DE LA PASTEURISATION DU LAIT

(12 points)

Le lait cru contient des bactéries dont certaines peuvent être pathogènes pour l'homme (*Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus* ...). Un traitement thermique plus ou moins poussé est mis en œuvre pour éliminer la totalité des bactéries (lait stérilisé et U.H.T.) ou seulement les bactéries pathogènes (lait pasteurisé).

La phosphatase alcaline est une enzyme thermolabile (E.C. 3.1.3.1), phosphohydrolase de monoesters ortho-phosphoriques, endogène à tous les produits laitiers, y compris au lait cru. Sa température d'inactivation dépasse légèrement celle qui détruit les micro-organismes pathogènes les plus résistants susceptibles d'être trouvés dans le lait cru. C'est pourquoi la méthode officielle de détermination de l'activité de la phosphatase alcaline permet de vérifier si la pasteurisation a été suffisante.

La norme considère que le lait est pasteurisé lorsque la quantité de phénol libérée est inférieure à 4 µg de phénol par heure et par millilitre de lait.

La méthode de dosage d'enzyme utilisée est dite « en deux points ».

Cette méthode utilise les conditions opératoires physico-chimiques suivantes :

- le temps de réaction est de 1 heure précisément ;
- le pH du milieu réactionnel est de 10 ;
- la température d'incubation de l'enzyme est de 37 °C ;
- le substrat est pré-incubé à 37 °C avant contact avec l'enzyme ;
- la concentration en substrat est supérieure à 10 fois le  $K_M$  (constante de Michaelis).

2.1. Indiquer les conditions nécessaires au dosage de l'enzyme. Justifier.

2.2. Donner le principe de la méthode de dosage d'enzyme dite « en deux points ».

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse du phénylphosphate disodique (substrat) à pH 10 avec libération de phénol selon l'équation fournie en annexe 2 (page 9/10).

Le phénol, en présence de BQC (dichloroquinone chloroimine) donne un composé bleu dosable par spectrophotométrie à 610 nm. Dans les conditions du dosage, la coloration obtenue est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline.

Le dosage de l'activité de la phosphatase alcaline et le résultat obtenu sont présentés en annexe 2 (page 9/10).

2.3. Exprimer la concentration d'activité catalytique de la phosphatase alcaline en µg de phénol apparu par mL de lait et par heure. Effectuer l'application numérique.

2.4. Conclure sur l'efficacité du traitement thermique effectué.

**1. CONTAMINATION DU LAIT PAR DES DIOXINES****(6 points)**

La mozzarella habituellement consommée est produite à partir du lait de vache. Cependant, dans le cadre de l'AOC « Mozzarella di bufala campana », celle-ci est fabriquée à partir de lait de bufflonne en Campanie (près de Naples). Suite à une modification du plan d'analyse de certains produits alimentaires en Belgique, il a récemment été mis en évidence une contamination à la dioxine dans ce produit laitier. Dans ce contexte, une révision des seuils d'alerte a été convenue ; pour la matrice « lait », plus d'informations sont nécessaires sur le mode de production (intensif / extensif) et sur le degré de contact avec l'environnement. En ce qui concerne la mozzarella ayant l'AOC, les laits les plus contaminés proviennent d'élevages proches d'incinérateurs urbains.

- 1.1. Donner l'origine de la production des dioxines expliquant leur présence à proximité des incinérateurs.
- 1.2. Préciser le mode de contamination des bufflonnes par ce toxique.
- 1.3. Dire quelle propriété physique de ce toxique peut expliquer leur présence dans le lait.
- 1.4. Envisager le(s) devenir(s) de la dioxine suite à une exposition.

**2. TOXICITÉ DES DIOXINES****(7 points)**

Les dioxines présentent plus de deux cents isomères. Du fait de cette multitude d'isomères, un facteur de pondération permet de tenir compte des toxicités relatives par rapport à la substance la plus toxique : la 2,3,7,8-TCDD. Le résultat est ensuite formulé en teneur en équivalent toxique : TEQ.

Les valeurs des teneurs en équivalent toxique (TEQ) sont basées sur :

- des informations concernant le pouvoir cancérigène chez les animaux ;
- à défaut, des informations concernant les autres effets néfastes ;
- des données de toxicité aiguë ;
- des tests in vitro ou in vivo.

- 2.1. Définir une substance « cancérigène ».
- 2.2. Donner un autre type d'effet néfaste qui peut être rencontré à long terme.
- 2.3. Définir la toxicité aiguë.
- 2.4. Citer un exemple de test in vitro utilisé en toxicologie.

**3. EXPOSITION À LA DIOXINE****(7 points)**

Pour la matrice « lait », le critère retenu par l'OMS est de 1 à 4 pg TEQ/kg de poids corporel et par jour. Le Comité supérieur d'hygiène publique a pour sa part fixé la DJTP (Dose Journalière tolérable Provisoire) à  $1 \text{ pg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ . Les États-Unis ont quant à eux adopté une DJT de  $0,006 \text{ pg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ .

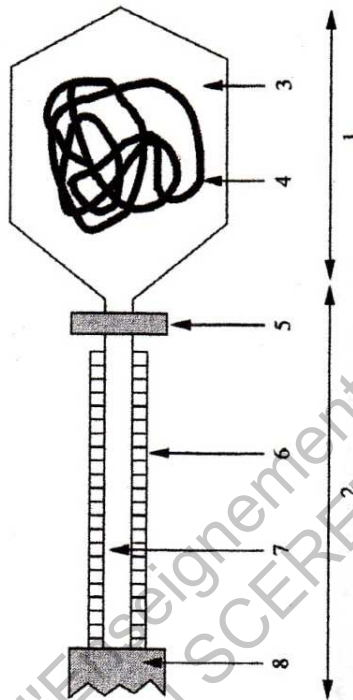
- 3.1. Définir le terme DJT puis expliquer avec précision son mode d'obtention.
- 3.2. Calculer la dose hebdomadaire tolérable pour un homme pesant 70 kg en tenant compte des recommandations du conseil supérieur de l'hygiène.
- 3.3. Les résultats des plans de surveillance dans les aliments réalisés en France ont permis de calculer à partir des consommations alimentaires des français une exposition moyenne de  $1,3 \text{ pg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ .  
Conclure.

BTS Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries	Session 2012
E3 - biochimie - biologie	Code : QABIOCH Page : 7/10



## ANNEXE 1

### STRUCTURE DE LA PARTICULE ACTIVE

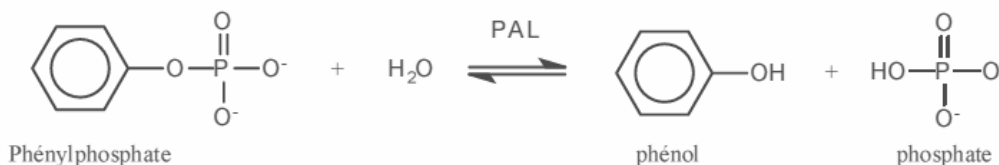


Base Nationale de l'Enseignement Professionnel  
Réseau SCEREN

## ANNEXE 2

### DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DE L'ACTIVITÉ PHOSPHATASE ALCALINE DU LAIT

#### 1. HYDROLYSE DU PHÉNYLPHOSPHATE PAR LA PHOSPHATASE ALCALINE



#### 2. MODE OPÉRATOIRE DU DOSAGE DE L'ACTIVITÉ PHOSPHATASE ALCALINE

##### 2.1. Préparation de la gamme d'étalonnage

Préparer une gamme étalon de phénol de 0 à 15 µg par tube sous 5 mL d'eau désionisée. Ajouter 1 mL de sulfate de cuivre pour stabiliser la couleur puis 4 mL de métaborax. Ajouter 40 µL de réactif de Gibbs. Boucher les tubes. Homogénéiser. Laisser développer la coloration 30 min à l'obscurité et lire l'absorbance à 610 nm.

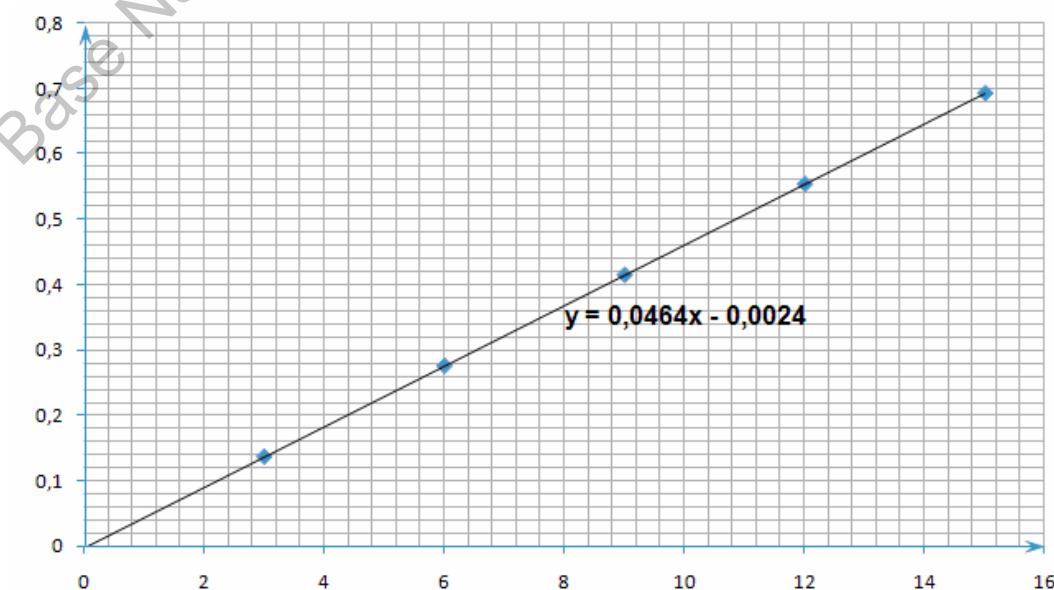
##### 2.2. Préparation de l'essai et du témoin

Essai et témoin sont préparés à partir de 1 mL de lait. Le témoin est porté à 100 °C pendant quelques minutes, puis traité comme l'essai. Ajouter 10,0 mL de solution de substrat à chacun des tubes essai et témoin. Placer les 2 tubes 1 h à 37 °C puis porter les 2 tubes à ébullition pendant 2 min. Ajouter 1 mL de réactif déféquant dans les 2 tubes. Centrifuger. À 5 mL de surnageant ajouter 5 mL de solution de métaborax puis 40 µL de réactif de Gibbs. Laisser la coloration se développer pendant 30 min à l'obscurité. Lire l'absorbance à 610 nm.

## RÉSULTATS

### DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE DU LAIT PAR LA MÉTHODE DE SANDERS ET SAGER

A à 610 nm Courbe A = f(m<sub>phénol</sub>)



Résultats :

A<sub>essai</sub> = 0,164

A<sub>témoin</sub> = 0,001

Masse phénol  
(µg dans le tube)

## ANNEXE A

À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

### REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA PHOSPHATIDYLCHOLINE

