



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

**Ce document a été numérisé 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 E3 – UNITÉ U31
BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE**

SESSION 2014

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).

Document à rendre et àagrafer avec la copie :

- Document 1 page 5/11

**Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 11 pages, numérotées de 1/11 à 11/11.**

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2014
Nom de l'épreuve : Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT	Page : 1/11

LES ARÔMES ALIMENTAIRES

Les arômes contribuent aux propriétés organoleptiques d'une denrée alimentaire. L'analyse des arômes est donc un enjeu majeur pour l'industrie agroalimentaire puisqu'elle conditionne l'acceptabilité de l'aliment par le consommateur. En recherche et développement, l'analyse des arômes naturels a pour but d'identifier les composés aromatisants caractéristiques. L'étude des arômes synthétiques a pour principal objectif de développer des techniques d'extraction et d'analyse qui seront ensuite utilisées par le laboratoire de contrôle qualité.

1 - Voies métaboliques de biosynthèse des arômes (32 points)

Les composés aromatisants peuvent être synthétisés à partir de plusieurs voies cataboliques : celle des glucides, des lipides, des acides aminés.

1.1 - Arôme issu du catabolisme des glucides

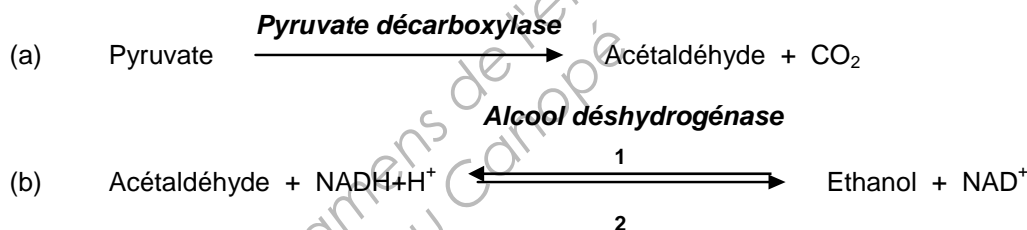
Dans les produits laitiers frais, les arômes sont issus en partie de la dégradation du lactose présent dans le lait. Son entrée dans les bactéries lactiques capables de l'assimiler provoque l'apparition d'un excès d'acide pyruvique dans la cellule.

1.1.1 - Écrire la réaction d'hydrolyse du lactose en indiquant les formules semi-développées ainsi que l'enzyme impliquée.

1.1.2 - La voie métabolique conduisant à la synthèse d'acide pyruvique est présentée dans le **document 1**. Compléter ce document en précisant le nom de la voie.

1.1.3 - Chez certaines souches bactériennes, le pyruvate synthétisé peut servir à la production d'acétaldéhyde (composé qui donne une sensation de fraîcheur au yaourt) et d'éthanol par fermentation alcoolique.

La séquence réactionnelle aboutissant à la synthèse d'acétaldéhyde (éthanal) puis d'éthanol à partir du pyruvate est la suivante :



1.1.3.1 - Calculer la variation d'enthalpie libre standard $\Delta G'_0$ de la réaction (b) et justifier le sens thermodynamiquement favorisé (1 ou 2) dans les conditions standards.

Données : $F = 96500 \text{ C}$
 $n = 2$

Potentils rédox standards à pH 7 et à 37°C :
Acétaldéhyde/éthanol = - 0,197 V.
NAD⁺/NADH = - 0,320 V.

1.1.3.2 - À partir du résultat précédent, calculer la constante d'équilibre K'_{eq} de la réaction (b) à pH 7 et à 37°C. Le résultat obtenu confirme-t-il le sens thermodynamique précédemment justifié ?

Donnée : $R = 8,32 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$.

1.1.4 - Écrire la réaction bilan du catabolisme du glucose par fermentation alcoolique.

1.1.5 - La variation d'enthalpie libre standard, $\Delta G'_0$, de la réaction de fermentation alcoolique à partir du glucose étant de - 166 kJ.mol⁻¹, calculer le rendement énergétique de la fermentation du glucose en éthanol

Donnée : Variation d'enthalpie libre standard d'hydrolyse de l'ATP en ADP :
 $\Delta G'_0 = - 30,2 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

1.2 - Arômes issus du catabolisme des lipides

Les composés les plus fréquemment à l'origine des arômes sont les acides gras ayant subi une β -oxydation. Dans certains cas, leur β -oxydation est incomplète. Elle libère des méthylcétones participant à la note aromatique des fromages.

Il est possible de suivre l'accroissement de la production d'une méthylcétone : l'heptan-2-one en cultivant des spores de *Penicillium camembertii* dans un milieu de culture à base de lait contenant de l'acide palmitique comme substrat énergétique. Les résultats obtenus sont consignés dans le **document 2**.

1.2.1 - Analyser ce document.

1.2.2 - À partir des concentrations massiques, calculer le rendement de conversion de l'acide palmitique en heptan-2-one après 400 minutes de fermentation.

1.2.3 - Proposer une hypothèse pour expliquer la baisse de concentration en heptan-2-one après 400 minutes.

Données : $M_{\text{acide palmitique}} = 256 \text{ g.mol}^{-1}$.
 $M_{\text{heptan-2-one}} = 114 \text{ g.mol}^{-1}$.

1.3 - Arômes issus du catabolisme des acides aminés

Les acides aminés sont également des sources d'arômes importantes, particulièrement dans les produits fermentés.

1.3.1 - La voie de dégradation la plus commune chez les levures est la voie d'Ehrlich qui met en œuvre une étape de transamination conduisant à un α -cétoacide.

Citer un exemple de transamination conduisant à un α -cétoacide (indiquer le nom des substrats, produits, enzyme et coenzyme impliqués; formules chimiques non exigées).

1.3.2 - La méthionine est un précurseur de composés aromatisants importants dans certains fromages. Chez certaines bactéries, cet acide aminé est synthétisé à partir d'aspartate et implique une enzyme clé : l'aspartokinase.

La thréonine est un effecteur de cette voie de biosynthèse.

Le **document 3** représente la cinétique de l'aspartokinase en fonction de la concentration en aspartate en présence ou en absence de thréonine.

1.3.2.1 - Commenter l'allure de la courbe 1 du **document 3**.

En déduire les caractéristiques structurales et cinétiques de l'aspartokinase.

1.3.2.2 - À l'aide de la courbe 2 du **document 3**, expliquer l'effet de la thréonine sur l'aspartokinase.

2 - Analyse de composés aromatisants de l'abricot (28 points)

La qualité de l'analyse des composés aromatisants dépend fortement de la méthode d'extraction utilisée pour récupérer la totalité des composés, sans induire de réactions biochimiques ou de dégradations thermiques.

2.1 - Mise au point d'une technique de microextraction en phase solide (SPME) des composés aromatisants de l'abricot

La SPME est devenue en quelques années une technique incontournable pour permettre l'analyse des arômes. Son principe et la technique utilisée pour extraire les composés aromatisants de l'abricot sont résumés dans le **document 4**.

2.1.1 - Détermination du temps d'extraction.

Cinq temps d'extraction ont été testés : $\Delta t = 5, 15, 20, 30$ et 40 minutes.

Les résultats d'extraction obtenus pour cinq composés aromatisants de l'abricot (hexylacetate, γ -decalactone, benzaldéhyde, linalool et β -ionone) sont représentés dans le **document 5**.

Analyser ces résultats et conclure sur le temps d'extraction le plus approprié pour extraire la majorité des composés.

2.1.2 - Choix de la fibre d'extraction.

3 types de fibres ont été testés :

- PDMS : polydiméthylsiloxane
- PDMS/DVB : polydiméthylsiloxane/divinylbenzène
- CAR/PDMS : carboxen/ polydiméthylsiloxane

La concentration des 5 composés extraits par ces 3 types de fibre est représentée dans le **document 6**. Analyser les résultats et conclure quant à la fibre la plus appropriée pour l'extraction de ces composés.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2014
Nom de l'épreuve : Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT	Page : 3/11

2.2 - Analyses quantitatives de composés aromatisants d'une variété d'abricot

2.2.1 - Dosage du benzaldéhyde par chromatographie en phase gazeuse.

2.2.1.1 - Les conditions utilisées en CPG pour l'analyse quantitative de ces composants aromatiques sont présentées dans le **document 7**.

2.2.1.1.1 - Définir le terme "colonne capillaire".

2.2.1.1.2 - Quel est l'intérêt du gradient de température en CPG ?

2.2.1.2 - Le dosage du benzaldéhyde se fait par étalonnage externe.

Une courbe d'étalonnage a été établie en injectant successivement 4 solutions étalons de benzaldéhyde à l'aide d'une seringue SPME dans les mêmes conditions expérimentales que la solution à analyser.

Solutions étalons n°	1	2	3	4
Concentration massique en benzaldéhyde en mg.L ⁻¹	4	8	12	16
Aire des pics x 10 ⁴ (UA)	4,82	9,66	14,45	19,26

2.2.1.2.1 - Expliquer pourquoi l'étalonnage externe est possible en CPG par la technique SPME.

2.2.1.2.2 - À partir du tableau précédent et du **document 8**, déterminer la concentration massique en benzaldéhyde.

2.2.1.2.3 - La teneur en benzaldéhyde déterminée expérimentalement dans la purée d'abricot équivaut à 12,6 ppm.
Quel critère de qualité permet d'apprécier l'écart entre la valeur mesurée et la valeur de référence ?
Évaluer ce critère par un calcul et conclure.

Données :

- Valeur de référence de la teneur en benzaldéhyde pour la variété d'abricot *Rouge du Roussillon* : 12,7 ppm.
- ppm = partie par million.

2.2.2 - Dosage de la fraction glucose de composés aromatiques glycosylés par méthode enzymatique.

Certains composés aromatiques glycosylés ont pu être mis en évidence. Ils intéressent particulièrement les industries agroalimentaires car ils sont considérés comme des précurseurs potentiels d'arômes volatils intéressants, car libérables à la suite de traitements industriels. On se propose de déterminer la teneur en glucose de ces dérivés glycosylés par enzymologie. Le dosage est réalisé selon le protocole indiqué dans le **document 9**.

2.2.2.1 - De quelle méthode de dosage de substrat s'agit-il ? Justifier la réponse.

2.2.2.2 - Exprimer ΔA (§ 2.4, **document 9**) en fonction de A_1 témoin, A_1 essai, A_2 témoin et A_2 essai.

2.2.2.3 - Justifier la valeur du coefficient 0,863 (§ 2.5, **document 9**).

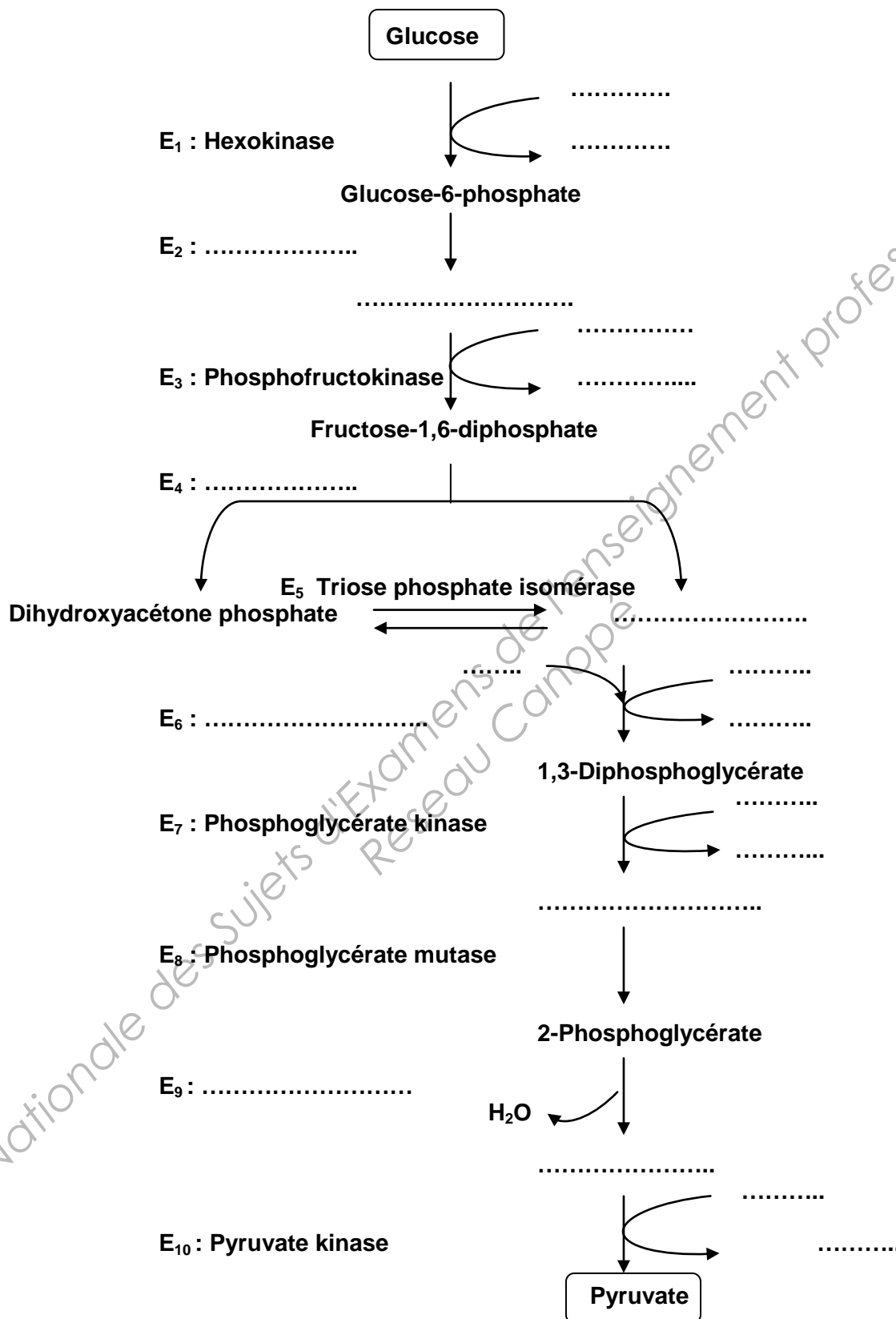
2.2.2.4 - Calculer la concentration massique en glucose dans la fraction (ρ) à partir des résultats expérimentaux suivants :

Témoin : $A_1 = 0,107$ $A_2 = 0,111$
Essai : $A_1 = 0,122$ $A_2 = 0,595$

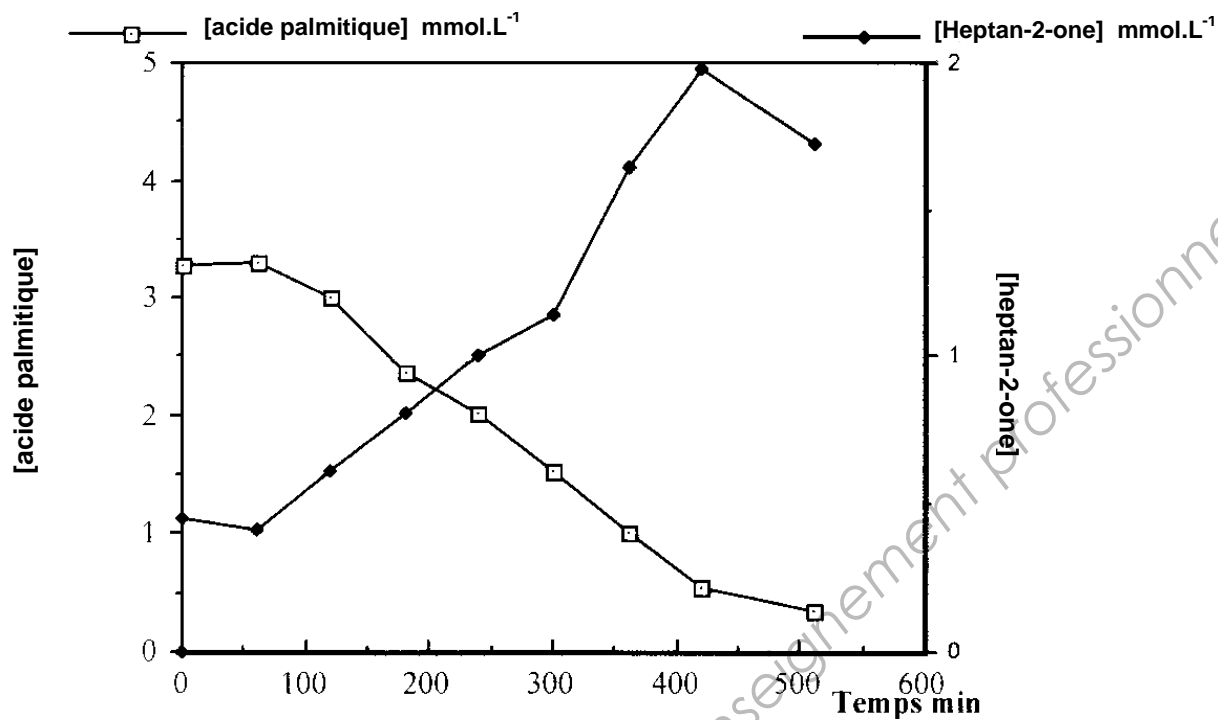
2.2.2.5 - À partir du protocole d'extraction présenté dans le **document 9**, déterminer la teneur en résidus glucose des composés aromatiques glycosylés en mg de glucose par kg d'abricot.

Donnée : $uc = 5 \text{ mg.kg}^{-1}$.

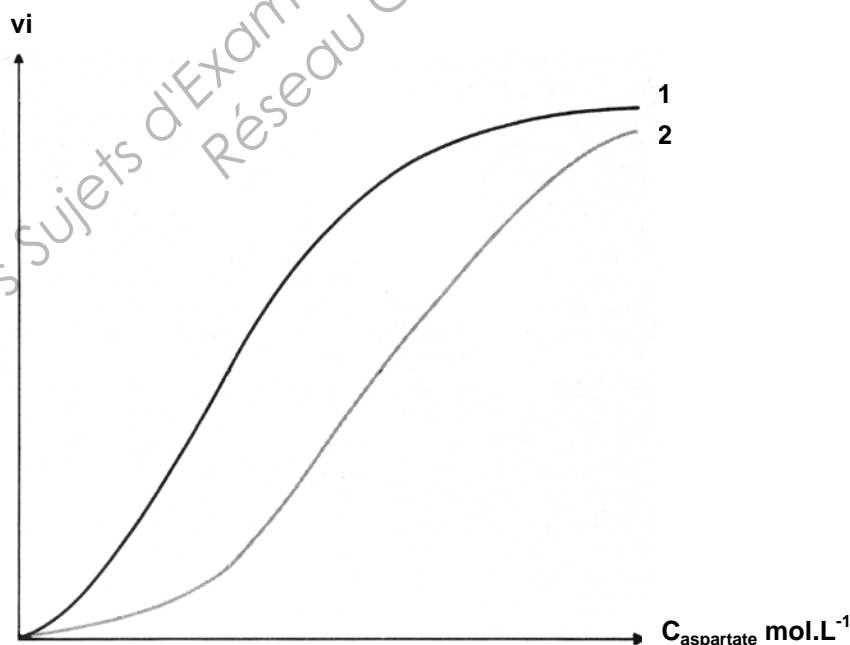
DOCUMENT 1 : VOIE DE DÉGRADATION DU GLUCOSE
À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE



DOCUMENT 2 : PRODUCTION d'HEPTAN-2-ONE À PARTIR D'ACIDE PALMITIQUE PAR *PENICILLIUM CAMEMBERTII*



DOCUMENT 3 : CINÉTIQUE DE L'ASPARTOKINASE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN ASPARTATE EN PRÉSENCE OU EN ABSENCE DE THRÉONINE

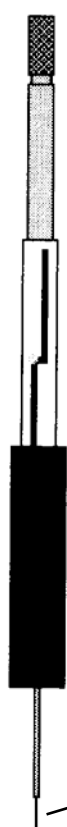


Courbe 1 : en absence de thréonine

Courbe 2 : à une concentration en thréonine = $0,5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹

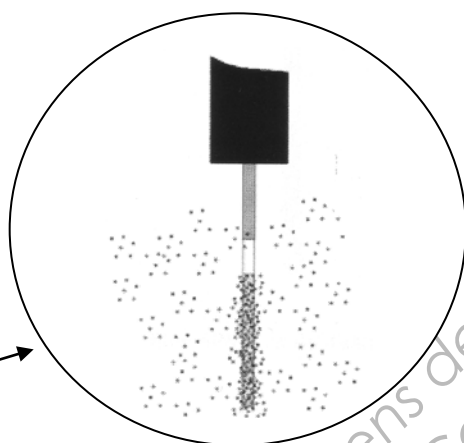
DOCUMENT 4 : MICRO-EXTRACTION EN PHASE SOLIDE (SPME) DES COMPOSANTS AROMATIQUES DE L'ABRICOT

1 - Principe

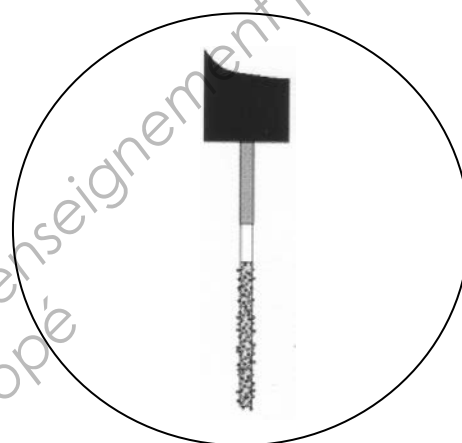


Le support est une fibre en silice fondue, placée à l'intérieur d'une aiguille creuse amovible. Sur cette fibre est greffée une phase stationnaire. La fibre est plongée dans la solution analysée. Les composés aromatiques vont s'adsorber sur la phase stationnaire selon leur polarité respective. Après un temps de contact suffisant et des conditions expérimentales bien définies, il s'établit un équilibre de partage entre la phase solide constituée par la fibre et la phase liquide de la solution analysée. La quantité d'analyte adsorbée est alors fonction de sa concentration dans la solution analysée.

La fibre est ensuite rétractée dans l'aiguille et retirée de l'échantillon pour être directement placée dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse. Les analytes sont alors thermiquement désorbés et vaporisés pour être transportés vers la colonne par le gaz vecteur.



en cours d'extraction



en fin d'extraction

2 - Mode opératoire

Peser et mixer $m = 50$ g d'abricots pour obtenir une purée d'abricot soit $V_{\text{purée}} = 48$ mL.

Placer la purée d'abricot dans un flacon, puis refermer hermétiquement le flacon à l'aide d'un septum en téflon.

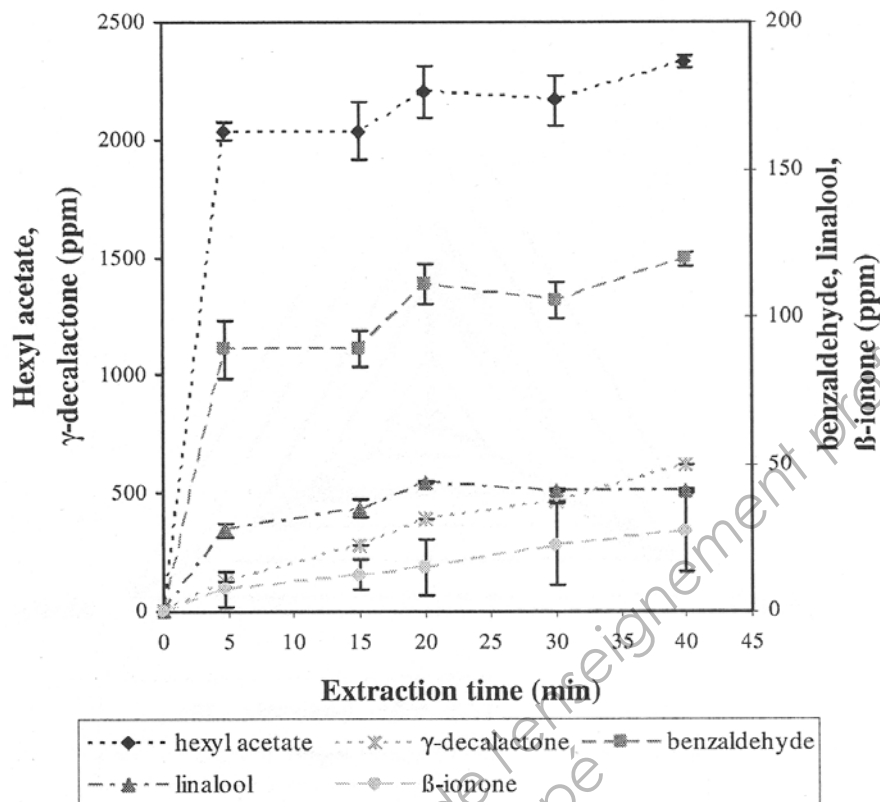
Percer le septum à l'aide de l'aiguille SPME pour mettre en contact la phase stationnaire avec l'échantillon.

Laisser l'adsorption des analytes se réaliser à 40°C pendant un certain temps Δt .

Retirer l'aiguille de l'échantillon.

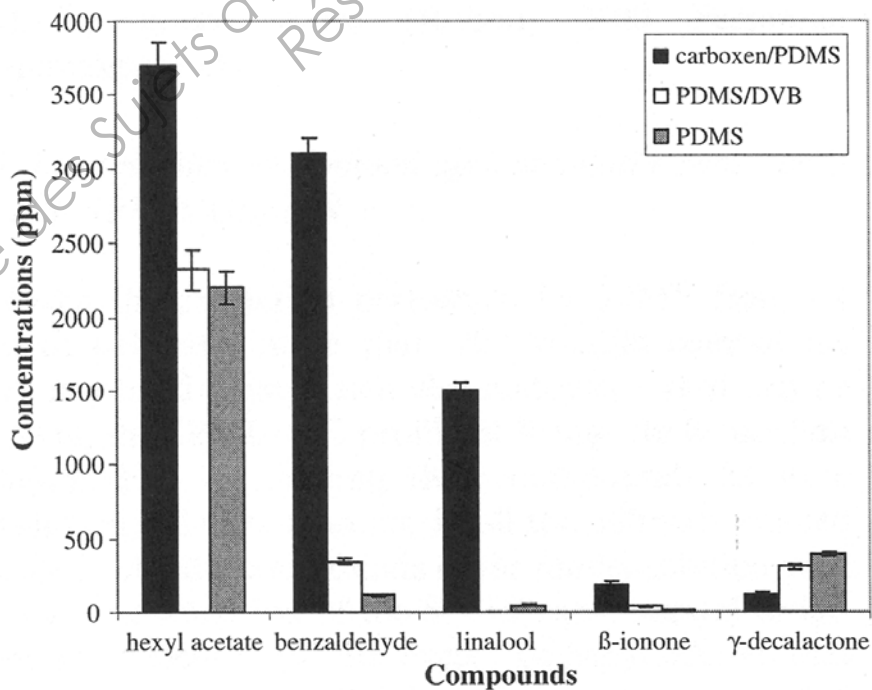
Désorber les analytes en plaçant l'aiguille pendant 4 minutes dans l'injecteur du chromatographe chauffé à 250°C .

DOCUMENT 5 : EXTRACTION DE CINQ COMPOSÉS AROMATISANTS DE L'ABRICOT



S. Guillot et al Food Chemistry 96 (2006) 147-155

DOCUMENT 6 : ÉTUDE DU TYPE DE FIBRES D'EXTRACTION



S. Guillot et al Food Chemistry 96 (2006) 147-155

DOCUMENT 7 : CONDITIONS UTILISÉES EN CPG POUR L'ANALYSE QUANTITATIVE DES COMPOSANTS AROMATIQUES

Injection : injecteur à vaporisation directe dit à septum

Colonne : capillaire en silice fondue

- Caractéristiques :
 - film de type DB-WAX ; épaisseur 0,25 μm
 - longueur colonne : 30 m ; diamètre interne : 0,25 mm
- Conditions d'utilisation :
 - température initiale 60 $^{\circ}\text{C}$
 - température finale 250 $^{\circ}\text{C}$
 - gradient de température : 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$
- Gaz vecteur : Hélium à 1,5 mL $\cdot\text{min}^{-1}$

Détecteur : ionisation de flamme (FID)

DOCUMENT 8 : IDENTIFICATION PAR CPG DES COMPOSÉS AROMATISANTS DE L'ABRICOT « ROUGE DU ROUSSILLON »

Composés	RI	Aire des pics x 10 ⁴ (UA)
Ethyl acetate	872	23,72
Butyl acetate	990	25,31
Hexanal	1022	25,03
Limonène	1178	8,58
E-hexen-2-al	1223	21,95
p-Cymene	1246	30,53
Hexyl acetate	1308	14,20
6-methyl-5hepten-2-one	1336	13,82
1-hexanol	1345	14,51
Acetic acid	1446	3,05
1-octen-3-ol	1448	1,54
Menthone	1486	1,57
2-ethyl-1-hexanol	1492	3,86
Benzaldéhyde	1500	15,80
Linalool	1540	6,12
β -cyclocitral	1598	2,52
Pugelone	1600	2,00
Z_citral	1666	4,53
E-citral	1718	3,81
Geranyl acetone	1798	3,15
Benzyl alcohol	1866	2,12
β -ionone	1914	0,59
g-decalactone	2106	1,95

S.Guillot et al Food Chemistry 96 (2006) 147-155

Donnée : RI : Retention index : indice de rétention linéaire des composés calculés à partir d'une série de n-alcane (C8 à C32)

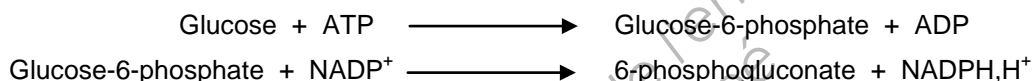
DOCUMENT 9 : EXTRACTION ET DOSAGE ENZYMATIQUE DU GLUCOSE

1 - Extraction des composés aromatiques glycosylés de l'abricot

- Mixer **50 g** d'abricots lavés et dénoyautés en présence d'eau distillée.
- Incuber 90 minutes à 25°C en présence d'un mélange de cellulase (5 g/L), pectinol (2 g/L) et polyvinylpyrrolidone (0,2 g/L) et centrifuger à 10 000g pendant 30 minutes.
- Récupérer le surnageant.
- Résolubiliser le précipité dans un volume d'eau distillée (1 :1, m/v) et centrifuger la solution dans les mêmes conditions.
- Pooler les 2 surnageants : soit $V_{\text{surnageant}} = 200 \text{ mL}$.
- Faire passer **100 mL** de surnageant dans une colonne contenant une résine adsorbante non polaire de type XAD-2 à un débit de $1,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.
- Rincer par 50 mL d'eau distillée
- Éluer dans un 1^{er} temps les composés volatiles libre par 50 mL de pentane-dichlorométhane (2 : 1, v/v).
- Rincer par 50 mL d'eau distillée.
- Éluer dans un second temps les composés aromatiques glycosylés par 50 mL de méthanol pur. Filtrer l'éluat obtenu et évaporer le méthanol sous vide à 45 °C.
Le **résidu sec** obtenu correspond à la fraction aromatique glycosylée.
- Cette fraction aromatique glycosylée est soumise à une hydrolyse acide par H_2SO_4 à 2,25 mol/L à 100 °C pendant 1 h, puis neutralisée pour le dosage enzymatique : soit $V_{\text{fraction}} = 10 \text{ mL}$.

2 - Dosage enzymatique du glucose de la fraction par spectrophotométrie (méthode UV)

2.1 - Principe du dosage



La formation de NADPH, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm est proportionnelle à la quantité de glucose.

2.2 - Composition des solutions

Solution 1	Solution 2
- tampon triéthanolamine pH 7,6 - NADP ⁺ 110 mg - ATP 260 mg - Sulfate de magnésium - Stabilisateurs	- Hexokinase environ 320 U - Glucose-6-phosphate déshydrogénase environ 160 U

2.3 - Mode opératoire

Longueur d'onde : 340 nm
Trajet optique = 1 cm
Température 20-25 °C
Mesure contre l'air

Introduire dans les cuves	Témoin	Essai
Solution 1	1,00 mL	1,00 mL
Solution essai	-	0,10 mL
Eau bidistillée	2,00 mL	1,90 mL
Mélanger, lire les absorbances A_1 des solutions après 2 minutes environ Déclencher la réaction par addition de :		
Suspension 2	0,02 mL	0,02 mL
Mélanger, attendre la fin de la réaction (environ 15 minutes) et lire les absorbances A_2 des solutions		

DOCUMENT 9 : EXTRACTION ET DOSAGE ENZYMATIQUE DU GLUCOSE (SUITE)

2.4 - Calculs

Formule générale (équation aux grandeurs) pour le calcul de la concentration massique en glucose de la solution essai :

$$\rho = \frac{V \times M}{\epsilon \times l \times v} \times \Delta A$$

ρ = concentration massique de la substance à doser dans la solution essai en g.L⁻¹

V : volume du test

v : volume de la solution essai

M : masse molaire de la substance à doser

ϵ : coefficient d'absorbance linéique molaire du NADPH à 340 nm = 6,3 L.mmol⁻¹.cm⁻¹

l : longueur du trajet optique = 1 cm

2.5 - Résultats

Dans les conditions décrites, on obtient $\rho = 0,863 \cdot \Delta A$

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

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES	Session 2014
Nom de l'épreuve : Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT
	Page : 11/11