

**BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES
ET LES BIO-INDUSTRIES**

Session 2004

E3 – BIOCHIMIE - BIOLOGIE

Durée : 4 heures

Coefficient : 5

Calculatrice autorisée

**Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet comporte pages numérotées de 0 à 8.**

Documents à rendre avec la copie : Annexes 2 et 3.

BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

SESSION 2004

E3 – BIOCHIMIE – BIOLOGIE –U3

CALCULATRICE AUTORISÉE

Durée : 4 heures

Coefficient : 5

BIOCHIMIE (50 points)

Les œufs sont très utilisés dans l'industrie agroalimentaire pour leur valeur nutritionnelle et leurs propriétés fonctionnelles. Ils servent de matière première pour l'élaboration de nombreux ovoproduits et entrent dans la composition de nombreux produits alimentaires.

Ces préparations nécessitent une bonne connaissance des caractéristiques biochimiques de leurs constituants.

1. L'ovalbumine

L'ovalbumine est la protéine la plus abondante de l'albumen (blanc d'œuf). C'est une glycoprotéine qui renferme 4 groupements -SH libres et 2 ponts disulfure.

1.1 Donner les noms de deux acides aminés soufrés. Ecrire la formule de l'acide aminé dont le groupement R est -CH₂-SH.

1.2 Citer le niveau structural des protéines où interviennent les ponts disulfures. Préciser ce niveau à l'aide d'un schéma.

2. Extraction des protéines du blanc d'œuf

Certaines protéines de l'albumen (ovotransferrine, ovomucoïde, lysozyme) possèdent des propriétés intéressantes pour les industries agroalimentaires et pharmaceutiques. Pour séparer et extraire ces protéines différents procédés ont été développés. L'un d'entre eux utilise les différences de solubilité en présence de solutions salines.

2.1 La courbe présentant la solubilité des protéines en fonction de la force ionique du milieu est présentée en annexe 1.

2.1.1 Analyser et interpréter la courbe 1

2.1.2 A l'aide des courbes 1 et 2 déduire une méthode de séparation des protéines.

2.2 Les procédés d'extraction ne doivent pas entraîner une dénaturation trop importante des protéines. Présenter les modifications subies par les protéines au cours de la dénaturation et les conséquences qui en résultent.

2.3 Le blanc d'œuf contient une petite quantité de sucre (0,15 à 1%) qui peut être responsable d'altérations associées aux réactions de Maillard pendant le séchage et le stockage des ovoproduits. Pour supprimer ces réactions on réalise un désucrage enzymatique. Cette technique utilise la glucose oxydase et la catalase.

2.3.1 Écrire les réactions catalysées par ces enzymes ; les formules développées sont attendues.

2.3.2 Citer une autre méthode de désucrage.

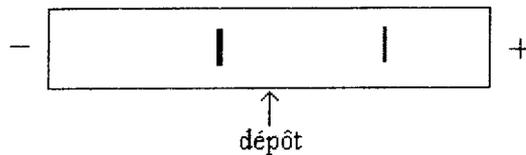
3. Contrôle de pureté et d'activité d'une protéine : le lysozyme

Le lysozyme est une protéine extraite du blanc d'œuf et utilisée pour ses propriétés antibactériennes.

3.1 Une méthode de contrôle de la purification consiste à réaliser une électrophorèse sur acétate de cellulose (cellogel) en tampon véronal pH = 9,2.

Le point isoélectrique (pHi) du lysozyme est égal à 10,5

L'électrophorégramme obtenu avec une fraction lysozyme en cours de purification est représentée ci-dessous :



Reproduire le schéma et localiser la bande correspondant au lysozyme. Justifier la réponse.
Conclure quant à la purification du lysozyme.

3.2 L'activité catalytique du lysozyme est mesurée par la diminution de l'absorbance à 450 nm d'une suspension de microcoques (*Micrococcus lysodeikticus*) due à la lyse des bactéries.

Une unité de lysozyme correspond à l'activité enzymatique qui provoque une variation de 0,001 absorbance par minute dans des conditions opératoires bien définies (pH = 6,4 – température 25°C).

La mesure est effectuée sur la fraction de lysozyme contenant 0,8 g /L de protéines

La variation d'absorbance observée en 2 minutes avec 0,1 mL de cette fraction est de 0,780.

Calculer sa concentration d'activité catalytique. En déduire l'activité spécifique des protéines qu'elle contient.

4. Les lipides du jaune d'œuf

Les lipides du jaune d'œuf se présentent soit sous forme associée à des protéines (lipoprotéines de type LDL), soit sous forme libre.

4.1 Citer les différents types de lipoprotéines présentes dans le jaune d'œuf.

4.2 Le schéma en annexe 2 représente la structure d'une lipoprotéine de type LDL.

Identifier les constituants 1,2, 3,4 et 5 . Justifier leur localisation.

4.3 Les lécithines sont des phosphoglycérolipides du jaune d'œuf très utilisées pour leur pouvoir émulsifiant.

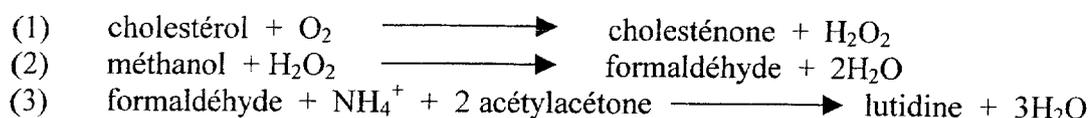
Représenter la structure moléculaire d'une lécithine (phosphatidyl choline) et justifier le pouvoir émulsifiant.

Formule de la choline : $\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}^+(\text{-CH}_3)_3$

5. Dosage du cholestérol

Différentes méthodes d'extraction ont été développées pour réduire la teneur en cholestérol de certains ovoproduits. Un dosage de cholestérol est effectué sur une poudre de jaune d'œuf ainsi traitée.

Équations de réaction :



La lutidine est un composé jaune qui absorbe dans le visible à 405 nm. L'intensité de la coloration mesurée à 405 nm est proportionnelle à la concentration en cholestérol.

Les réactions sont catalysées par une cholestérol-oxydase et par une catalase.

Mode opératoire :

Introduire dans les tubes	Témoin	Essai
Mélange réactionnel (tampon, catalase, acétylacétone)	2,5 mL	2,5 mL
Essai (poudre diluée)	0,2 mL	0,2 mL
Solution de cholestérol-oxydase	-	0,02 mL

Bien mélanger. Incuber 60 minutes au bain marie à 37°C. Laisser refroidir.

Lire l'absorbance de l'essai contre le témoin : A

Coefficient d'absorbance molaire de la lutidine à 405 nm $\varepsilon = 740 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$

Cuve de 10^{-2} m d'épaisseur

Calcul :

La solution à doser a été préparée à partir de 1g de poudre d'œuf diluée dans 50 mL d'un mélange méthanol-isobutanol.

La différence d'absorbance entre l'essai et le témoin $A = 0,185$.

5.1 Établir la relation littérale donnant la concentration molaire volumique de la solution à doser.

5.2 Calculer la concentration massique volumique en cholestérol dans la solution à doser (masse molaire du cholestérol = $386,6 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$).

5.3 En déduire la quantité de cholestérol en pourcentage pondéral contenue dans la poudre de jaune d'œuf.

MICROBIOLOGIE (43 POINTS)

L'œuf possède de bonnes facultés de conservation naturelle, mais dès qu'il est cassé pour la préparation d'ovoproduits, il devient une denrée périssable. Il peut aussi contenir des micro-organismes pathogènes. Les ovoproduits devront donc subir des traitements assainissants et des contrôles rigoureux.

1. La microflore de l'œuf

1.1 Localiser cette microflore. Expliquer son origine.

Citer les facteurs pouvant favoriser la pénétration des bactéries dans l'œuf.

1.2 Lors du cassage, la coule obtenue est le plus souvent contaminée par des bacilles Gram négatif. Ceci s'explique en partie par la présence d'une protéine du blanc d'œuf, le lysozyme, qui s'oppose à la prolifération des bactéries Gram positif.

1.2.1 Citer le principal constituant de la paroi des bactéries Gram positif. Schématiser sa structure.

1.2.2 Le lysozyme agit sur ce constituant. Indiquer sur le schéma précédent son site d'action. Préciser les conséquences de son action sur la cellule.

2. La lutte contre les biocontaminations

Le produit issu du cassage des œufs, appelé coule d'œuf par les industriels, est très sensible aux contaminations du milieu ambiant. Il doit donc subir une pasteurisation avant transformation ou utilisation comme ingrédient. Pour fixer le barème de pasteurisation on étudie la cinétique de destruction de la flore totale dans la coule par pasteurisation à 60°C.

2.1 Les résultats expérimentaux sont donnés dans le tableau présenté en annexe 3.

2.1.1. Tracer la courbe $\log N = f(t)$

2.1.2. Définir le temps de réduction décimale et le déterminer graphiquement.

2.1.3. La charge bactérienne initiale de la coule d'œuf étant de 10^3 cellules/g, discuter du choix d'un temps de pasteurisation de 30 s. à 60°C. La charge résiduelle doit être inférieure à 10^2 cellules/g. Proposer éventuellement une solution adéquate, en respectant si possible les propriétés organoleptiques du produit.

2.2 Certaines bactéries sont particulièrement résistantes à la chaleur car elles sont capables de sporuler .

2.2.1 Citer deux exemples de bactéries sporulées.

2.2.2 Présenter (éventuellement à l'aide d'un schéma) les éléments de la spore qui lui confèrent sa thermorésistance.

2.3 La propreté des surfaces est un élément important de la maîtrise de la sécurité des produits fabriqués. Le nettoyage qui permet d'éliminer les souillures des surfaces de travail est généralement complété par une désinfection.

Donner deux exemples de molécules actives de désinfectants en précisant leurs modes d'action sur les micro-organismes

Citer une technique de contrôle de l'efficacité de la désinfection.

3. Les *Salmonella*

Les œufs sont souvent à l'origine de toxi-infections alimentaires à *Salmonella*.

3.1 Expliquer la présence de *Salmonella* dans les œufs.

3.2 Préciser les symptômes causés par ce type de contamination.

3.3 Décrire les mécanismes physiopathologiques de ce germe.

3.4 L'identification précise d'une *Salmonella* nécessite, après le contrôle des caractères biochimiques, une étude antigénique. Les antigènes recherchés sont les antigènes Vi, O, H.

3.4.1 Associer les structures bactériennes correspondant à ces antigènes.

3.4.2 Les antigènes O font partie du lipopolysaccharide (LPS).

Indiquer les différentes parties du LPS en notant celle qui porte cette spécificité
Préciser ses caractéristiques physico-chimiques et physiopathologiques.

TOXICOLOGIE (7 points)

1. Le blanc d'œuf contient une protéine, l'ovomucoïde, dont une propriété est mise en évidence par l'expérience suivante :

Trypsine + gélatine (gélifiée) → liquéfaction de la gélatine

Trypsine + gélatine (gélifiée) + blanc d'œuf → pas de liquéfaction de la gélatine

1.1 Interpréter ces résultats.

1.2 Préciser pourquoi l'ovomucoïde est considéré comme un toxique. Donner la catégorie à laquelle on le rattache.

1.3 Citer deux exemple de substances analogues à l'ovomucoïde.

2. Suite à une contamination d'un élevage par des *Salmonella*, une antibiothérapie massive a été déclenchée.

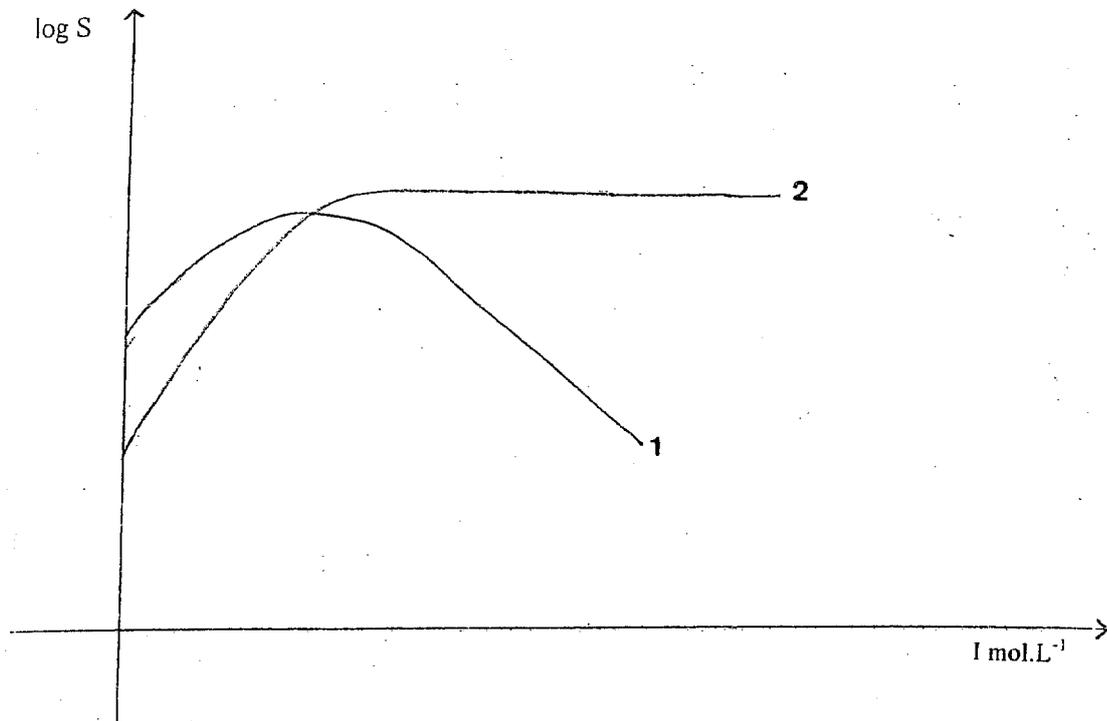
A l'analyse des œufs, les vétérinaires trouvent des antibiotiques à des concentrations supérieures au seuil de détection de leur méthode et inférieure à la limite maximale en résidu (LMR)

2.1 Définir la LMR

2.2 Conclure quant à la possibilité de commercialisation des œufs.

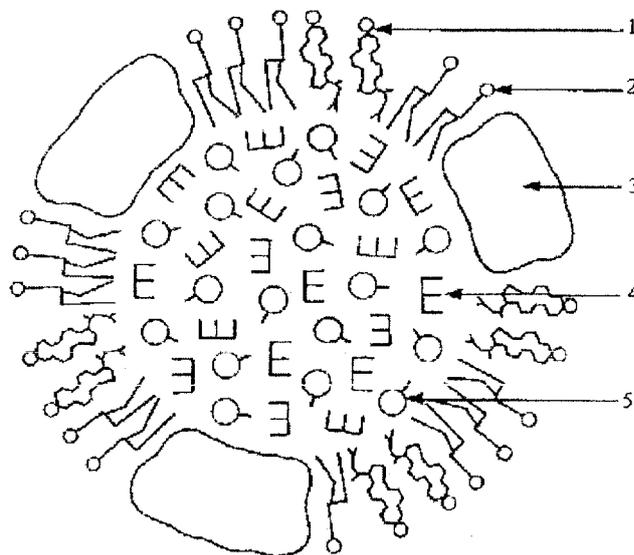
ANNEXE 1

Solubilité de deux protéines en fonction de la force ionique
 $\log S = f(I)$



ANNEXE 2

Structure schématique d'une lipoprotéine.



ANNEXE 3

**Cinétique de destruction bactérienne :
Résultats expérimentaux**

Temps (min)	N (germes/g)
0	$6,5 \cdot 10^4$
1	$3,1 \cdot 10^4$
2	$1,4 \cdot 10^4$
3	$6,9 \cdot 10^3$
4	$3,3 \cdot 10^3$
5	$1,5 \cdot 10^3$