

Durée : 4 heures

Coefficient : 5

Calculatrice autorisée

ÉTUDE DE LA CRÈME GLACÉE

Le marché de la crème glacée continue de se développer depuis plusieurs années, en dépit de la forte concurrence. Les industriels se livrent par conséquent à une compétition importante, notamment en lançant de nouveaux produits. Les consommateurs recherchent à la fois des produits séduisants sur le plan hédonique, mais également des produits de qualité à coût modéré. Les laboratoires des industriels sont donc très sollicités, et la surveillance et le contrôle des produits constituent une part importante de leur activité.

PARTIE BIOCHIMIE (40 points)

Le contrôle des matières premières et du produit fini implique la réalisation de différents dosages.

1. ÉTUDE DES LIPIDES DU LAIT

Le tableau ci-dessous indique le pourcentage pondéral en acides gras de la crème du lait :

Nature de l'acide gras	% pondéral
C _{4:0}	3
C _{6:0}	2
C _{8:0}	1
C _{10:0}	3
C _{12:0}	3
C _{14:0}	9
C _{16:0}	24
C _{18:0}	23
C _{14:1}	1
C _{16:1} Δ ⁹	2,9
C _{18:1} Δ ⁹	20,5
C _{18:2} Δ ^{9,12}	1,1
C _{18:3} Δ ^{9, 12, 15}	0,8
C _{18:4} Δ ^{5, 8, 11, 14}	0,4

- 1.1. Donner le nom usuel et la formule semi-développée des composés affichés dans les cases mises en évidence.
- 1.2. Parmi ceux-ci, les deux composés en C18 sont les précurseurs des deux grandes familles d'acides gras appelées ω3 et ω6. Justifier cette appellation.
- 1.3. Les lipides du lait sont présents sous forme de globules graisseux dont la structure est donnée en annexe 1.
 - 1.3.1. Citer la propriété commune à ces protéines et phospholipides placés en surface des globules.
 - 1.3.2. En déduire pourquoi ces protéines et phospholipides sont placés en surface du globule.
- 1.4. Dans un globule graisseux, l'état physique des triglycérides dépend de la nature des acides gras qui les constituent. Indiquer les deux paramètres qui modifient la température de fusion d'un acide gras et préciser leur incidence.
- 1.5. Citer un acide gras solide à température ambiante et un acide gras liquide à cette même température.

2. DOSAGE ENZYMATIQUE DU CHOLESTÉROL DE LA CRÈME GLACÉE

2.1. Préparation de l'échantillon

Dans un ballon de saponification, sont introduits :

- 51,234 g de crème glacée,
- 20 mL de potasse méthanolique,
- 10 mL de propan-2-ol,
- environ 1 g de sable.

La solution obtenue est ensuite chauffée à reflux pendant 30 min.

Indiquer le rôle de cette opération sur les esters de cholestéyle.

2.2. Préparation du dosage

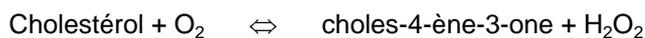
Après refroidissement, la solution est transvasée quantitativement dans une fiole jaugée de 100 mL ajustée au trait de jauge au moyen de propan-2-ol.

Après mélange puis filtration, une "solution limpide" est obtenue. Celle-ci est utilisée pour le test. La composition du coffret est la suivante :

Réactifs :	composition
	Tampon phosphate d'ammonium à 0,5 mol/L, pH 7,0
Solution de travail	Méthanol 1,6 mol/L
	Catalase 23,66 mkat/L
	Acétylacétone (pentane-2,4 dione) 0,02 mol/L
	Stabilisateurs
Réactif déclenchant	Suspension de cholestérol-oxydase à 250 μ kat/L

Justifier l'emploi d'une solution tampon.

2.3. Équations du dosage



Indiquer pour les 2 premières réactions le nom des enzymes nécessaires et préciser pour chacune d'elle la classe à laquelle elle appartient.

2.4. Mode opératoire et expression des résultats

Les cuves sont préparées comme indiqué dans le tableau ci-dessous:

	Témoin	Essai
Solution de travail (mL)	2,00	2,00
Propan-2-ol (μ L)	150	
"Solution limpide" (μ L)		150
Bien mélanger.		
Réactif déclenchant (μ L)	20	20

Après homogénéisation, les cuves sont incubées environ 60 min au bain thermostaté entre 37 et 40°C.

Après refroidissement, l'absorbance de l'essai est lue à 405 nm contre le témoin.

2.4.1. Calculer l'activité en nkat de la cholestérol oxydase dans la cuve de mesure.

2.4.2. Déterminer la concentration molaire en cholestérol de la "solution limpide" sachant que la variation d'absorbance de l'échantillon contre le témoin $\Delta A = 0,609$.

2.4.3. En déduire la masse de cholestérol pour 100 g de crème glacée.

Données

$$\epsilon_{\text{lutidine}} \text{ à } 405 \text{ nm} = 741 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$M_{\text{cholestérol}} = 386,73 \text{ g/mol}$$

$$\text{Trajet optique de la cuve} = 1 \text{ cm}$$

3. IMPORTANCE ÉNERGÉTIQUE

- 3.1. La dégradation de l'acide palmitique (C_{16:0}) est étudiée dans des conditions d'aérobiose. Cette dégradation débute par une étape d'activation. Écrire l'équation correspondante.
- 3.2. Rappeler le rôle de la L-carnitine dans la dégradation des acides gras.
- 3.3. À l'aide de l'annexe 2, écrire les étapes 1 à 4 du premier tour de la β-oxydation pour l'acide palmitique.
- 3.4. En déduire l'équation bilan de la transformation du palmitoyl coenzyme A (16 carbones) en myristoyl coenzyme A (14 carbones).
- 3.5. Calculer le nombre de cycles de β-oxydation nécessaires pour obtenir la dégradation totale de l'acide palmitique en acétyl CoA. En déduire le bilan de la dégradation totale de l'acide palmitique en acétyl Coenzyme A.
- 3.6. Conclure succinctement sur l'importance énergétique de l'acide palmitique.

PARTIE MICROBIOLOGIE (40 points)

Constituée d'une base nutritive riche, la crème glacée est un milieu de développement facile pour les microorganismes en cas de contamination microbienne. Il convient donc d'assurer un contrôle rigoureux des conditions de production, et notamment de s'assurer de l'absence de contaminants bactériens pathogènes, tels que *Listeria monocytogenes*.

Le genre *Listeria* rassemble des bacilles Gram +, mobiles à 22°C grâce à une ciliature péritriche, catalase +, oxydase -.

Listeria monocytogenes est l'espèce pathogène chez l'homme provoquant des avortements chez la femme enceinte, des méningites gravissimes chez l'immunodéprimé ou le nourrisson.

1. STRUCTURE DES BACTÉRIES

- 1.1. À l'aide de la description ci-dessus, réaliser un schéma annoté d'une coupe de cette bactérie telle qu'elle serait observée en microscopie électronique à transmission.
- 1.2. Présenter la structure du peptidoglycane, composant principal de la paroi de *Listeria monocytogenes*. Aucune formule chimique détaillée n'est demandée.
- 1.3. Les flagelles sont le support de déterminants antigéniques permettant de réaliser une identification immunologique de la bactérie.
 - 1.3.1. Indiquer la nature biochimique des flagelles bactériens.
 - 1.3.2. Décrire succinctement le principe de la technique utilisée pour cette détermination.

2. CARACTÉRISTIQUES CULTURALES

- 2.1. Des milieux de culture synthétiques peuvent être utilisés pour étudier les exigences de *Listeria monocytogenes*. Indiquer la différence entre un milieu de culture synthétique et empirique.
- 2.2. *Listeria monocytogenes* a été mise en culture dans divers milieux de composition définie étuvés à 37°C. La composition et les résultats obtenus sont fournis en annexe 3.
 - 2.2.1. Indiquer quelle est la principale source de carbone dans le milieu D. Sachant qu'en son absence il n'y aurait pas de culture de *Listeria monocytogenes*, en déduire le type trophique de cette bactérie vis-à-vis du carbone. Justifier la réponse.
 - 2.2.2. Analyser et interpréter l'ensemble des résultats expérimentaux proposés en annexe 3. Qualifier *Listeria monocytogenes* par rapport à l'exigence ainsi mise en évidence. Justifier la réponse.
- 2.3. Le dénombrement de *Listeria monocytogenes* de la crème glacée commence par une étape d'isolement sélectif sur milieu PALCAM dont les constituants principaux sont donnés dans l'annexe 4.
Listeria monocytogenes est une bactérie mannitol-, esculinase +.
À l'aide de l'annexe 4, indiquer l'aspect des colonies suspectes en justifiant avec précisions la réponse.

3. POUVOIR PATHOGÈNE

La survenue d'une toxi-infection à *Listeria monocytogenes* dépend de plusieurs facteurs : virulence particulière de certaines souches, contamination par un inoculum massif, état immunitaire de l'hôte.

- 3.1. Définir le terme « toxi-infection ».
- 3.2. L'infection débute par l'adhésion de la bactérie aux cellules épithéliales intestinales. La bactérie pénètre alors dans la cellule intestinale, s'y multiplie, passe dans le sang pour atteindre le système nerveux central

provoquant encéphalite et méningite. Citer deux structures bactériennes pouvant être responsables de l'adhésion.

3.3. Les personnes atteintes de listériose sont le plus souvent traitées par une association de pénicilline G et de gentamycine, antibiotiques permettant une bactéricidie.

3.3.1. Définir le terme « antibiotique ».

3.3.2. Expliquer l'effet bactéricide de la pénicilline.

4. CROISSANCE

4.1. L'annexe 5 montre la croissance de la bactérie dans un lait artificiellement contaminé à 4°C.

4.1.1 Commenter et analyser les différentes phases de cette courbe.

4.1.2. Définir et déterminer graphiquement le taux de croissance népérien.

4.1.3. En déduire le temps de génération après l'avoir défini.

4.1.4. En tenant compte du temps de génération trouvé à 4°C et en utilisant les données de l'annexe 6, qualifier cette bactérie et justifier la réponse.

4.2. Envisager les conséquences pour la restauration collective en liaison froide.

PARTIE TOXICOLOGIE (20 points)

La DGCCRF (Direction générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes) a mis en place un plan de surveillance de la contamination des fruits secs et des fruits à coques par les aflatoxines. Les résultats des analyses effectuées montrent que les pistaches sont les plus fréquemment et les plus fortement contaminées. Or ces fruits peuvent représenter un constituant important pour certaines crèmes glacées.

Pour établir le dossier toxicologique, une étude de toxicité a été réalisée sur un panel de rats.

1. MÉTABOLISATION

Les aflatoxines sont métabolisées par diverses enzymes microsomiales et sont éliminées sous forme de glucurono- et sulfo-conjugués par voie urinaire ou biliaire.

1.1. Décrire succinctement les deux étapes qui constituent la voie microsomiale.

1.2. Lors de la métabolisation des aflatoxines, certains dérivés époxydés hautement réactifs peuvent apparaître. Nommer ce phénomène et l'expliquer brièvement.

1.3. Fortement électrophiles, les aflatoxines époxydes réagissent avec les groupements nucléophiles de l'ADN en s'intercalant entre les bases.

Définir la mutagenèse et expliquer pourquoi ce type de toxicité est suspecté.

2. CARACTÉRISATION DES DANGERS

L'aflatoxine la plus dangereuse est l'aflatoxine B₁ (AFB₁).

La DSE (DSENO ou NOAEL) est établie chez le rat à 0,61 µg.kg⁻¹.j⁻¹

2.1. Définir la DSE.

2.2. Étant donné le type de toxicité de l'AFB₁, le Comité Supérieur d'Hygiène Publique de France considère qu'il n'existe pas de seuil en-dessous duquel le risque toxique n'existe pas.

Une DJT de 0,15 ng.kg⁻¹.j⁻¹ a cependant été établie.

Définir la DJT et expliquer en quoi elle diffère de la DJA.

2.3. Calculer la concentration plasmatique chez un homme qui absorbe l'équivalent de la DJT.

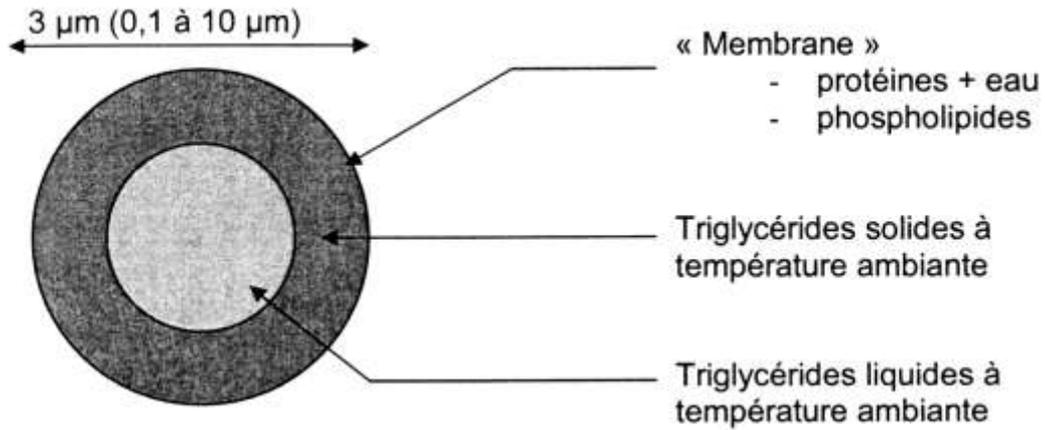
Données

- l'absorption intestinale est totale et l'on ne tient pas compte de la métabolisation hépatique;
- le plasma représente 3 % de la masse corporelle, sa masse volumique est de 1,1 kg.L⁻¹;
- toute l'aflatoxine transite par le compartiment plasmatique.

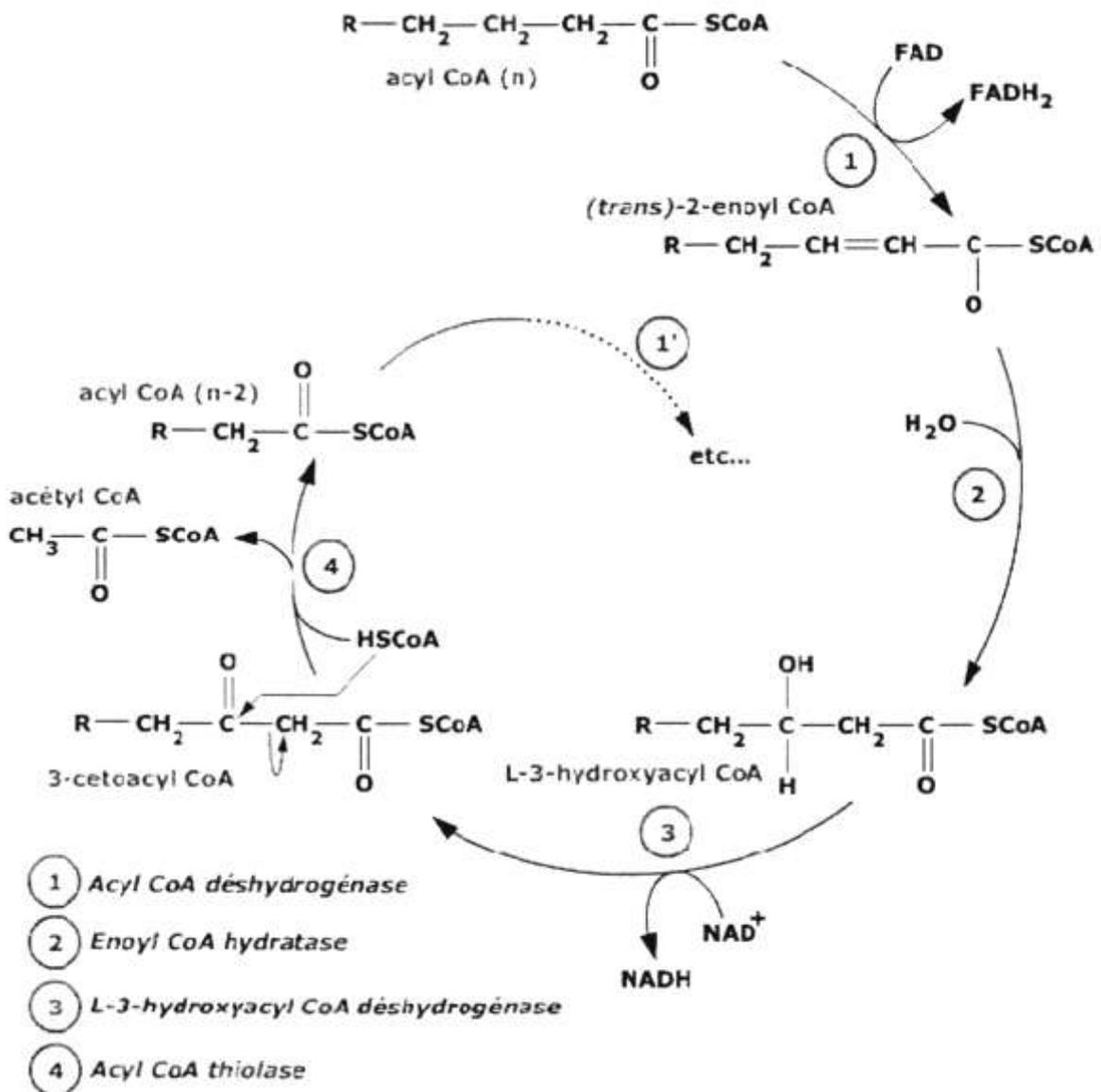
2.4. La consommation moyenne de pistaches est estimée à 10 g par jour et la masse corporelle moyenne à 60 kg.

Définir la limite maximale de résidus (LMR) et la calculer dans ce cas.

ANNEXE 1 : STRUCTURE D'UN GLOBULE GRAISSEUX



ANNEXE 2 : Schéma de la bêtaoxydation



ANNEXE 3 : ÉTUDE DE LA CULTURE DE *LISTERIA* DANS DIVERS MILIEUX

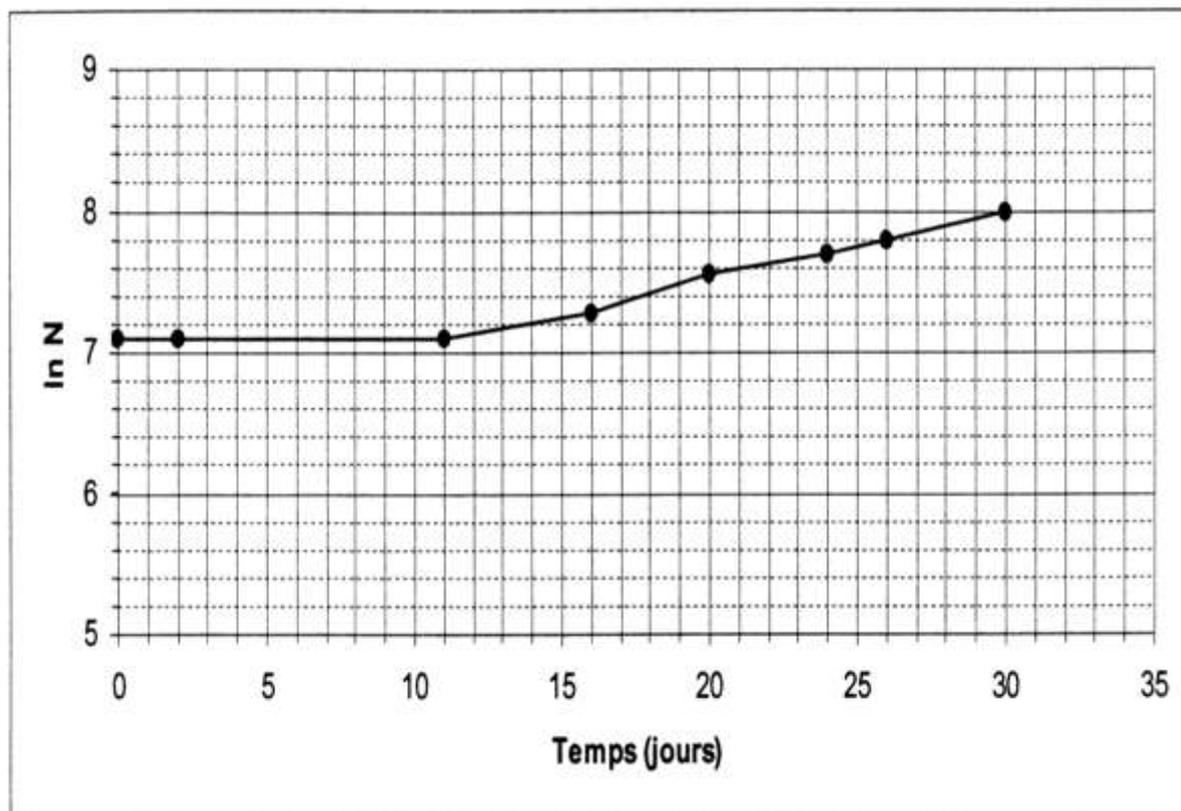
	Milieu A	Milieu B	Milieu C	Milieu D
Composition du milieu	KH ₂ PO ₄ : 6,6 g Na ₂ HPO ₄ : 31 g MgSO ₄ : 0,4 g Citrate de Fer III : 0,1 g Glucose: 10 g Eau désionisée: 1 L	KHyPO ₄ : 6,6 g Na ₂ HPO ₄ : 31 g MgSO ₄ : 0,4 g Citrate de Fer III : 0,1g Glucose: 10 g Leucine: 0,1 g Isoleucine: 0,1 g Valine: 0,1 g Méthionine: 0,19 Arginine : 0,1 g Cystéine: 0,1 g Glutamine : 0,6 g Eau désionisée: 1 L	KH ₂ PO ₄ : 6,6 g Na ₂ HPO ₄ : 31 g MgSO ₄ : 0,4 g Citrate de Fer III : 0,1g Glucose: 10 g Riboflavine: 0,5 mg Thiamine : 1 mg Biotine: 0,5 mg Eau désionisée : 1 L	KH ₂ PO ₄ : 6,6 g Na ₂ HPO ₄ : 31 g MgSO ₄ : 0,4 g Citrate de Fer III : 0,1g Glucose: 10 g Leucine: 0,1 g Isoleucine: 0,1 g Valine: 0,1 g Méthionine : 0,1 g Arginine : 0,1 g Cystéine: 0,1 g Giutamine : 0,6 g Riboflavine: 0,5 mg Thiamine :1 mg Biotine : 0,5 mg Eau désionisée: 1 L
Culture	-	-	-	+

- :absence de culture + : présence de culture

ANNEXE 4 : COMPOSITION DU MILIEU PALCAM

Mélange de peptones	Esculine
Amidon de maïs	Rouge de phénol
Mannitol	Chlorure de sodium
Citrate de fer III	Chlorure de lithium
Chlorhydrate d'acriflavine	Agar
Sulfate de polymyxine B	

ANNEXE 5 : ÉTUDE DE LA CROISSANCE DE *LISTERIA* DANS UN LAIT À 4°C



ANNEXE 6 : TEMPS DE GÉNÉRATION DE *LISTERIA* DANS LE LAIT À DIFFÉRENTES TEMPÉRATURES

Temps de génération (j)	(valeur déterminée en 4.1.3.)	13,1	5,8	1,9	0,7	5,8
Température (°C)	4	8	13	21	37	40