

DENRÉES ANIMALES ET D'ORIGINE ANIMALE

La qualité des produits alimentaires d'origine animale dépend de multiples facteurs liés aux conditions d'élevage et d'abattage des animaux mais aussi aux conditions de transformation et de conservation des produits obtenus. L'importance de la maîtrise de plusieurs phénomènes biochimiques, microbiologiques et toxicologiques intervenant est essentielle pour la qualité des produits animaux. Cette étude portera sur :

- l'effet des conditions d'abattage des animaux sur la qualité du sang et de la viande,
- l'effet des micro-organismes dans les procédés de fermentation des produits carnés ainsi que les conséquences du traitement antibiotique antemortem sur ces fabrications,
- la toxicité de substances parfois retrouvées dans les produits d'origine animale.

BIOCHIMIE (40 points)

Dans les abattoirs, le sang des animaux sacrifiés est récupéré et vendu à des entreprises l'utilisant comme matière première pour la production d'aliments pour animaux. Lors de l'abattage, les animaux sont généralement à jeun de sorte que leur sang ne contient pas de lipides sous forme de lipoprotéines peu denses.

1. LES PROTÉINES SÉRIQUES (12 points)

Le sérum du sang est très riche en protéines (environ 70 g/L).

- 1.1. Définir la structure primaire d'une protéine.
- 1.2. Certains acides aminés favorisent la solubilité des protéines dans le sang. Donner deux exemples.
- 1.3. Avec deux acides aminés de votre choix correctement nommés, donner l'équation de formation d'une liaison peptidique (on ne tiendra pas compte de l'énergie nécessaire à sa formation). Les formules semi-développées seront présentées, les atomes de la liaison peptidique seront correctement mis en valeur, le nom du peptide fabriqué sera précisé.
- 1.4. Indiquer quels types de liaison interviennent dans la structure secondaire des protéines. Citer les structures géométriques qui résultent de ces liaisons.
- 1.5. Présenter les liaisons qui interviennent dans la formation des structures tertiaires.
- 1.6. Définir la structure quaternaire d'une protéine.
- 1.7. Les protéines sériques remplissent de nombreuses fonctions dans le sang. Donner trois exemples de fonction.

2. LE MÉTABOLISME DU GLUCOSE ET LE STRESS (28 points)

2.1. Production de lactate dans les muscles

À l'abattoir, il est conseillé de ne pas stresser les animaux avant leur abattage pour améliorer la qualité de la viande. En effet les animaux à jeun sous l'effet du stress produisent de l'acide lactique par voie fermentaire à partir du glycogène. Ainsi dans les muscles, les réserves de glycogène tendent à s'appauvrir tandis que le lactate s'accumule. Ce phénomène altère la qualité de la viande.

- 2.1.1. Rappeler succinctement la classification des glucides. Situer le glycogène dans cette classification. Présenter la structure du glycogène.
- 2.1.2. Donner la représentation, selon Haworth, d'une molécule de glucose et les formules semidéveloppées de l'acide pyruvique et de l'acide lactique.
- 2.1.3. Écrire l'équation bilan de la glycolyse.
- 2.1.4. Donner l'équation bilan de la fermentation lactique à partir du glucose.

2.2. Dosage de l'acide lactique dans le sang

L'acide lactique présent dans le sang peut être dosé par voie enzymatique. Cela permet de connaître l'état de stress de l'animal à l'arrivée à l'abattoir. Une étude simplifiée présentée ici permet de savoir si un repos d'une heure suffit à préparer correctement l'animal pour l'abattage.

Le principe du dosage repose sur le fait que l'hydrazine forme un complexe soluble avec l'acide pyruvique rendant ainsi la réaction totale.

Immédiatement après son prélèvement, le sang est déprotéinisé. Pour cela, un échantillon de 0,5 mL de sang est recueilli dans un tube à centrifuger contenant 1 mL d'acide perchlorique glacé.

2.2.1. Expliquer succinctement comment agit l'acide perchlorique sur les protéines du sang.

Après centrifugation le dosage est réalisé selon le protocole suivant dans des cuves de trajet optique égal à un centimètre:

	Témoin	Essais
Sol. tamponnée d'hydrazine (mL)	2	2
Surnageant de déprotéinisation (mL)		0,2
Acide perchlorique (mL)	0,2	
Sol. de coenzyme NAD (mL)	0,2	0,2
Enzyme LDH (mL)	0,2	0,2

Mélanger et placer au bain thermostaté à 25°C durant 1 heure. Lire contre l'air l'absorbance du témoin et des essais.

Les résultats suivants sont obtenus :

	Absorbance à 340 nm
Essai à l'arrivée à l'abattoir	0,522
Essai après une heure de repos	0,126
Témoin	0,006

Valeur de référence 6 à 16 mg d'acide lactique /100 mL de sérum

Données ϵ du coenzyme réduit à 340 nm : $6,3 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} = 630 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$

Masse molaire acide lactique = $90 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

2.2.2. Expliquer pourquoi il est nécessaire de tamponner la solution d'hydrazine et de travailler à 25°C.

2.2.3. Présenter succinctement les deux méthodes de dosage de substrat. Donner le nom de la méthode employée en justifiant la réponse.

2.2.4. Écrire la réaction principale du dosage. Expliquer l'augmentation d'absorbance.

2.2.5. Calculer d'abord les concentrations en acide lactique en mmole par litre dans les deux surnageants de déprotéinisation (essai à l'arrivée à l'abattoir et essai après une heure de repos).

2.2.6. Calculer ensuite les concentrations en acide lactique en mg pour 100 mL de sang lors de l'arrivée à l'abattoir et après une heure de repos.

2.2.7. Conclure sur l'intérêt de l'heure de repos avant abattage.

TOXICOLOGIE (20 points)

L'entreprise reçoit un lot de sang de bovins. Les analyses révèlent des concentrations en ochratoxine égale à $5,8 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Le qualicien doit décider de l'acceptation du lot ou de son rejet.

L'ochratoxine (OTA) est une mycotoxine produite par des moisissures du genre *Aspergillus* et *Penicillium*. Elle contamine l'alimentation des animaux d'élevage par l'intermédiaire des céréales et des farines et celle de l'homme par le biais de la chaîne alimentaire. La production de la toxine se fait habituellement durant le stockage.

D'après les données toxicologiques, l'OTA est néphrotoxique et cancérigène chez les rongeurs et potentiellement chez l'homme.

1. L'INTOXICATION (8 points)

1.1. Donner les grandes phases de l'intoxication. Préciser pour chaque phase les événements qui peuvent s'y produire.

1.2. L'ochratoxine peut subir des modifications dans certaines cellules, en particulier dans celles du foie et des reins. Rappeler ce que peuvent entraîner ces modifications sur le caractère toxique des substances toxiques. A l'aide de l'annexe 1, justifier en quoi les modifications de l'ochratoxine peuvent expliquer le caractère cancérigène de l'ochratoxine.

2. TOXICITÉ DE L'OCHRATOXINE (6 points)

- 2.1. D'après les données des tableaux en annexes 2 et 3, donner une estimation du caractère toxique de l'ochratoxine par voie orale.
- 2.2. Rappeler dans quelle condition expérimentale est déterminée la DL50 d'une substance.

3. TENEURS MAXIMALES ADMISSIBLES (6 points)

Des teneurs maximales de résidus (LMR) admissibles ont été déterminées par l'administration européenne pour des denrées alimentaires destinées à l'alimentation humaine (annexes 4 et 5).

- 3.1. Rappeler les éléments pris en compte dans l'établissement des limites maximales de résidus admissibles. Justifier les différences de teneur choisies pour les différents aliments.
- 3.2. Le sang de bovin est utilisé pour la fabrication d'aliments déshydratés pour chien. Les chiens étant particulièrement sensibles à l'ochratoxine (annexe 2), il convient de vérifier que les lots ne dépassent pas la LMR. Celle-ci a été fixée à 5 µg/kg.

Vérifier la conformité de ces aliments déshydratés pour chiens sachant qu'ils sont composés de :

- 75 % de céréales brutes,
- 10 % de sang de bovins,
- 15 % de matières grasses exemptes d'ochratoxine.

Donnée : masse volumique du sang = 1,1 kg.L⁻¹

MICROBIOLOGIE (40 points)

La qualité intrinsèque des viandes utilisées en salaison conditionne la réussite des procédés de transformation particuliers à ce secteur. En effet, la production de saucissons secs requiert le développement de ferments microbiens associé au séchage pour transformer et conserver les viandes. Après un rappel des mécanismes d'action des principaux facteurs intervenant dans les procédés de fermentation, la conséquence de la présence d'antibiotique dans les viandes sera étudiée.

1. PRINCIPE DE CONSERVATION PAR FERMENTATION (12 points)

La fermentation est un procédé très ancien permettant de conserver des aliments périssables ; les bactéries lactiques sont mises en jeu dans la plupart des cas.

- 1.1. Nommer trois genres bactériens habituellement répertoriés comme bactéries lactiques ; pour chaque genre, préciser s'il est Gram négatif ou Gram positif.

Les bactéries lactiques acidifient le milieu en transformant les glucides ajoutés en acide lactique.

- 1.2. Chez les bactéries lactiques cette transformation peut s'effectuer soit par voie homofermentaire (homolactique), soit par voie hétérofermentaire (hétérolactique). Définir chaque voie.
- 1.3. Préciser dans quelle condition physico-chimique se réalise le métabolisme fermentatif chez ces bactéries. Justifier.

L'accumulation de l'acide lactique abaisse le pH du milieu.

- 1.4. Montrer sur un graphique l'évolution du taux de croissance des bactéries lactiques en fonction du pH.
- 1.5. Expliquer pourquoi l'acidité permet la conservation des produits fermentés.
- 1.6. Les bactéries lactiques exercent aussi leur activité antimicrobienne par d'autres mécanismes. Donner un exemple argumenté.
- 1.7. Après étuvage, les produits carnés fermentés sont séchés. Expliquer pourquoi le séchage participe à la conservation des produits fermentés.

2. IMPORTANCE DE LA QUALITÉ DES VIANDES TRANSFORMÉES (28 points)

Les animaux ayant subi un traitement antibiotique ne doivent pas être abattus avant plusieurs semaines afin de ne pas retrouver d'antibiotiques dans leur viande.

En effet, la présence d'antibiotiques pourrait inhiber les procédés de fermentation des produits carnés et présenter un risque toxique pour le consommateur.

2.1. Mode d'action des antibiotiques (20 points)

2.1.1. Donner la définition d'un antibiotique. La comparer à celle d'un désinfectant en dégageant les points communs et les différences.

2.1.2. Faire un schéma légendé d'une bactérie en différenciant les éléments constants et les éléments inconstants.

2.1.3. Citer deux antibiotiques (agissant sur des cibles différentes) et décrire succinctement le mode d'action de chacun d'eux.

2.1.4. Tracer sur la copie l'allure de la courbe de croissance $\ln N = f(t)$ d'une culture bactérienne en milieu non renouvelé, en absence d'antibiotique. Délimiter les différentes phases de la croissance sur la courbe et donner leur signification physiologique.

2.1.5. Sur le graphique construit en 2.1.4., représenter l'allure de la courbe de croissance d'une culture bactérienne lorsqu'on introduit en cours de phase exponentielle :

- une concentration bactériostatique d'antibiotique,
- une concentration bactéricide d'antibiotique.

Justifier l'allure des courbes proposées.

2.2. Conséquence de l'activité antimicrobienne des antibiotiques sur les ferments carnés (8 points)

Pour mieux comprendre les conséquences de la présence d'antibiotiques dans les viandes destinées aux industries de salaison, l'expérience suivante est réalisée: à une mûlée additionnée de concentrations différentes d'antibiotique, des ferments spécifiques sont ajoutés. L'ensemble est étuvé pendant 24 h en respectant au mieux les conditions de fermentation industrielle.

Le mode opératoire et les résultats de l'étude sont présentés ci-dessous :

Sacs	1	2	3	4	5	6	7	Témoin 1	Témoin 2
(1) Mûlée en g	100	100	100	100	100	100	100	100	100
(2) $C_{\text{antibiotique}}$ ($\mu\text{g.g}^{-1}$ mûlée)	10	5	2,5	1,25	0,62	0,31	0,15	0	10
(3) Ferment (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	0
Malaxage 10 minutes. Incubation 24 h à 25°C. Mesure du pH dans chaque sac à l'aide d'une électrode à pH									
pH	5,8	5,8	5,8	5,7	5,3	5,1	5,0	5,0	5,8

(1) : Préparation carnée pour saucisson à base de viande maigre, de gras de porc, de sel nitraté, de lactose et d'épices

(2) : Pénicilline

(3) : Ferment complexe (Bactéries lactiques, *Micrococcus*, *Staphylococcus*)

2.2.1. Sur papier millimétré, tracer la courbe $\text{pH} = f(\text{concentration en antibiotique en } \mu\text{g.g}^{-1} \text{ de mûlée})$. Situer les témoins sur la courbe.

Échelle : pH : 0,1 unité = 2 cm ; $C_{\text{antibiotique}}$: $1 \mu\text{g.g}^{-1} = 1 \text{ cm}$.

2.2.2. En se référant aux deux témoins, ajouter au graphique l'échelle des % d'acidification.

Données : le témoin 1 correspond à 100 % d'acidification.

le témoin 2 correspond à 0 % d'acidification.

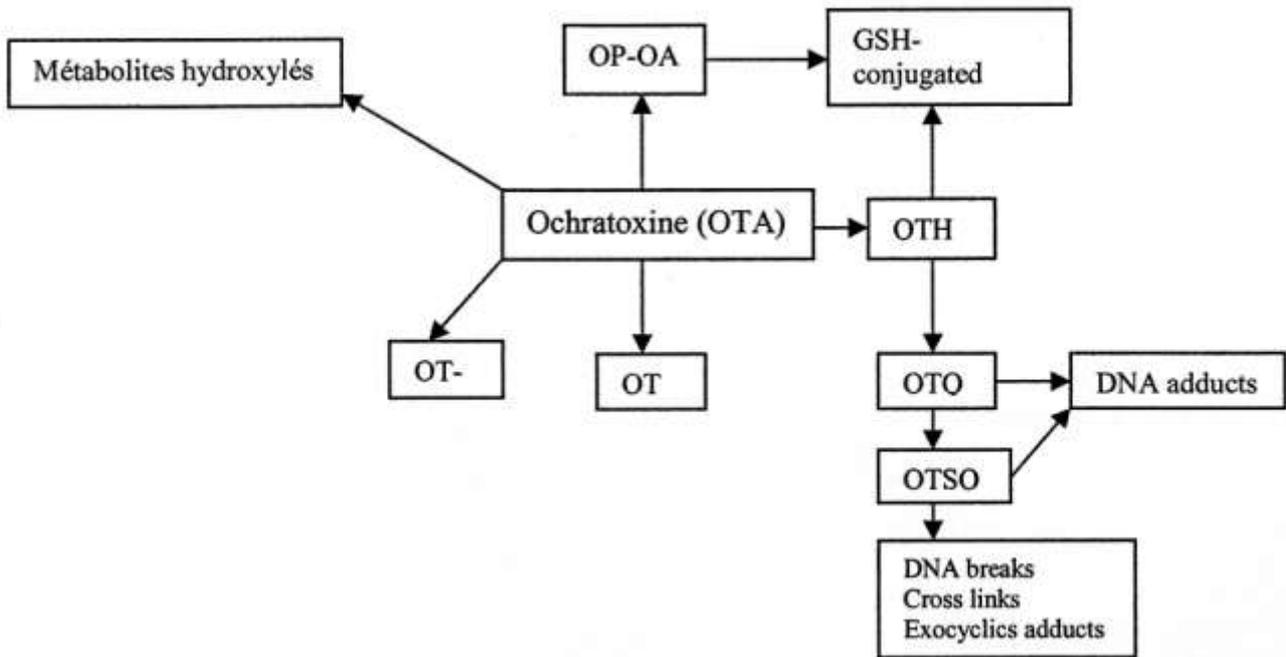
2.2.3. Déterminer graphiquement:

- la concentration en pénicilline (en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de mûlée) qui permet d'obtenir 50% d'acidification;
- la concentration en pénicilline (en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de mûlée) qui inhibe 20% de l'acidification.

2.2.4. En déduire la concentration maximale de pénicilline (en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de mûlée) qui permet d'avoir 100 % d'acidification, c'est à dire une fermentation normale.

ANNEXE 1

Modifications tissulaires de l'ochratoxine, effets connus et supposés des métabolites sur les cibles de l'organisme. (Les adduits (adducts) sont des liaisons covalentes des métabolites avec leurs cibles biologiques).



ANNEXE 2

Animal	DL50 (mg/kg de poids)	Voie d'administration
Souris Swiss (mâle)	51-68	Orale
Souris femelle	22	Intrapéritonéale
Rat (mâle-femelle)	28 et 21,4	Orale
Rat (mâle-femelle)	12,6 et 14,3	Intrapéritonéale
Rat (nouveau-né)	3,9	Orale
Caille japonaise	16,5	Orale
Cobaye (mâle-femelle)	9,1 et 8,1	Orale
Poulet	3,3	Orale
Dinde	5,9	Orale
Truite arc-en-ciel	4,7	Intrapéritonéale
Porc	1	Orale
Chien	0,2	Orale

ANNEXE 3 :

Classes de toxicité : Échelle de Gosselin, Smith et Hodge

Dose orale probablement mortelle	Classe de toxicité
Moins de 5 mg/kg	Super toxique
De 5 à 50 mg/kg	Extrêmement toxique
De 50 à 500 mg/kg	Très toxique
De 500 à 5 000 mg/kg	Modérément toxique
De 5 000 à 15 000 mg/kg	Légèrement toxique
Plus de 15 000 mg/kg	Très peu toxique

ANNEXE 4 : Teneurs maximales de résidus (LMR) admissibles d'après le règlement Européen 2002

Céréales brutes	5 µg/kg
Produits dérivés de céréales	3 µg/kg
Raisin sec	10 µg/kg
Café	5 µg/kg
Vin et jus de raisin	2 µg/kg

ANNEXE 5 : Contribution de chaque denrée alimentaire dans l'exposition moyenne de la population européenne à VOTA

Céréales	50%
Vin	13%
Café	10%
Épices	8%
Bière	5%
Cacao	4%
Fruits secs	3%
Viande	1%
Autres denrées	6%