

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR BIOTECHNOLOGIES

SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

SESSION 2018

DURÉE DE L'ÉPREUVE : 2h

COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 12 pages, numérotées de 1 sur 12 à 12 sur 12.

L'ANNEXE 1 ET L'ANNEXE 4 SONT À RENDRE AVEC LA COPIE.

Les différentes parties des exercices sont indépendantes.

Les données numériques sont indiquées dans chaque exercice.

La correction de l'épreuve tiendra le plus grand compte de la clarté dans la conduite de la résolution et dans la rédaction de l'énoncé des lois, de la compatibilité de la précision des résultats numériques avec celle des données de l'énoncé (nombre de chiffres significatifs), du soin apporté aux représentations graphiques éventuelles et de la qualité de la langue française dans son emploi scientifique.

I. HYDROLYSE DU SACCHAROSE (19 points)

Dans certaines raffineries de sucre, le saccharose $C_{12}H_{22}O_{11}$ est extrait de la betterave. Une partie du saccharose extrait sert à produire par hydrolyse du sucre dit « inverti ».

En solution aqueuse, le saccharose subit une hydrolyse conduisant à deux isomères de formule brute $C_6H_{12}O_6$: le glucose et le fructose. Cette réaction, lente, est catalysée en milieu acide par les ions $H_3O^+_{(aq)}$ ou en milieu biochimique par une enzyme, l'invertase, sécrétée par la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Les deux molécules produites lors de la réaction d'hydrolyse du saccharose sont représentées sous forme linéaire (chaîne ouverte) dans **l'annexe 1 page 10 à rendre avec la copie**.

1. Aspect stéréochimique du glucose

1.1. Sur **l'annexe 1 page 10 à rendre avec la copie**, repérer par des astérisques (*) les atomes de carbone asymétriques de la molécule de glucose.

1.2. Indiquer le nombre de stéréo-isomères du glucose. Justifier la réponse.

1.3. Indiquer si la molécule de glucose est chirale.

1.4. Sur **l'annexe 1 page 10 à rendre avec la copie**, représenter en projection de Fischer l'énantiomère du D-glucose. Nommer cet énantiomère.

1.5. Sur **l'annexe 1 page 10 à rendre avec la copie**, dessiner la représentation de Cram de la molécule de glucose dans laquelle l'atome de carbone n°5 est de configuration absolue R. Justifier brièvement.

Données :

Élément chimique	H	C	O
Numéro atomique Z	1	6	8

2. Suivi de la réaction d'hydrolyse par polarimétrie

2.1. Le polarimètre

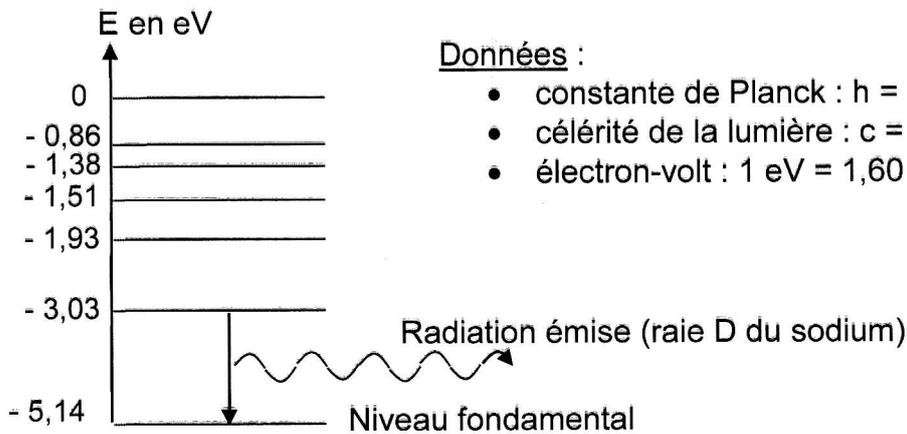
Un polarimètre permet de mesurer le pouvoir rotatoire d'une solution optiquement active. Il est constitué d'une lampe à vapeur de sodium produisant une lumière monochromatique, de deux polariseurs, d'un tube à échantillon, d'un analyseur d'intensité lumineuse, d'un dispositif de mesure d'angle et de divers éléments d'optique.

2.1.1. Exploiter le diagramme des niveaux d'énergie du sodium (**page 3**) pour calculer la longueur d'onde λ de la radiation émise par la lampe à vapeur de sodium (raie D du sodium).

On rappelle qu'une transition radiative d'un niveau d'énergie E_2 vers un niveau d'énergie E_1 inférieur se traduit par un rayonnement électromagnétique de fréquence ν tel que :

$$E_2 - E_1 = h \cdot \nu$$

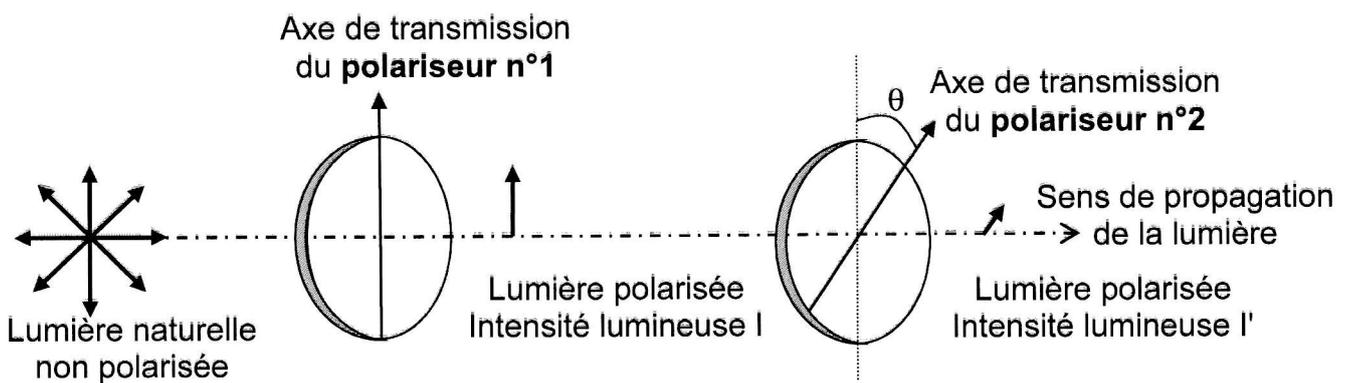
Diagramme des niveaux d'énergie du sodium :



Données :

- constante de Planck : $h = 6,63 \times 10^{-34} \text{ J.s}$
- célérité de la lumière : $c = 3,00 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$
- électron-volt : $1 \text{ eV} = 1,60 \times 10^{-19} \text{ J}$

2.1.2. Le schéma suivant représente deux polariseurs rectilignes identiques et leurs axes de transmission respectifs. Le polariseur n°2 peut tourner par rapport au polariseur n°1.



Indiquer la valeur de l'angle θ en degré dans les deux cas suivants : $I' = I$ et $I' = 0$.

2.2. Exploitation des mesures polarimétriques

L'hydrolyse du saccharose est une transformation chimique quantitative qui est traduite par l'équation de réaction :



Du fait de la réaction d'hydrolyse, le pouvoir rotatoire α d'une solution de saccharose évolue au cours du temps.

Une solution de saccharose de concentration massique initiale $C = 6,00 \times 10^{-2} \text{ g.cm}^{-3}$ est hydrolysée, en milieu tamponné à $\text{pH} = 3,5$ et à la température de 20°C .

L'évolution du pouvoir rotatoire de la solution est suivie à l'aide d'un polarimètre dont le tube à échantillon est de longueur $L = 1,00 \text{ dm}$.

La courbe correspondante est donnée dans l'**annexe 2 page 11**.

La quantité d'eau, qui est aussi le solvant, consommée par la réaction d'hydrolyse est négligeable : le volume du mélange sera considéré comme constant.

Données : loi de Biot pour un seul soluté : $\alpha = [\alpha] \cdot L \cdot C$

avec :

$[\alpha]$: pouvoir rotatoire spécifique en $^{\circ} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^3$

L : longueur du trajet optique en dm

C : concentration massique en $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Dans le cas d'un mélange de plusieurs solutés, les pouvoirs rotatoires s'additionnent.

Espèces chimiques optiquement actives	Pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]$ à 20 °C pour la raie D du sodium (en $^{\circ} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^3$)	Masse molaire (en $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)
Saccharose	+ 66,5	342
Glucose	+ 52,7	180
Fructose	- 92,2	180

2.2.1. Retrouver, par un calcul, la valeur mesurée du pouvoir rotatoire (α_0) de la solution à l'instant $t = 0$ h (lancement des mesures).

2.2.2. Déterminer la concentration molaire initiale de saccharose en $\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$. En déduire les concentrations massiques en glucose et fructose présents dans le milieu à la fin de l'hydrolyse, que l'on considèrera comme totale.

2.2.3. Calculer la valeur attendue α_F du pouvoir rotatoire de la solution à la fin de l'hydrolyse. Comparer au résultat lu sur la courbe de **l'annexe 2 page 11**. En déduire que la réaction étudiée est bien totale.

2.2.4. Justifier l'appellation « inversion » du saccharose donnée habituellement à cette réaction.

2.2.5. Dans l'industrie sucrière, l'hydrolyse enzymatique du saccharose en présence de l'enzyme invertase nécessite moins d'une heure dans les mêmes conditions de concentration, de pH et de température. Commenter brièvement cette information.

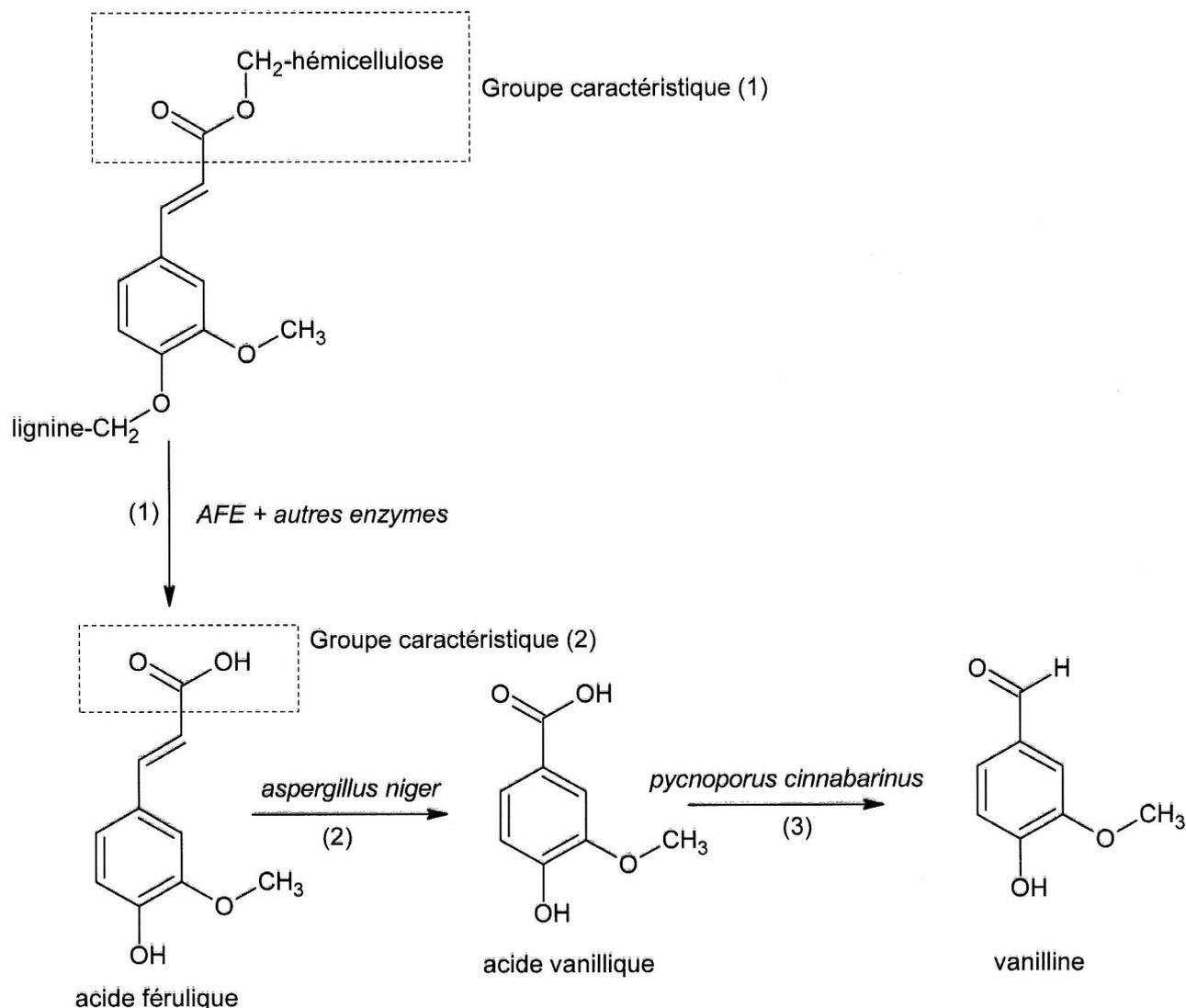
II. SYNTHÈSES DE LA VANILLINE (15 points)

1. Synthèse de la vanilline par bioconversion de la pulpe de betterave

De plus en plus, l'industrie sucrière essaie de valoriser les résidus de pulpe de betterave, par bioconversion, afin d'obtenir des produits à haute valeur ajoutée tels que la vanilline.

Les parois cellulaires des végétaux comme la betterave contiennent des biopolymères : des celluloses, des hémicelluloses et beaucoup de lignines. Les hémicelluloses et les lignines sont raccordées entre elles par l'intermédiaire de l'acide férulique. Un traitement des résidus de pulpe de betterave consiste en l'utilisation de micro-organismes sécrétant l'enzyme *acide férulique esterase* (AFE), qui par action synergique avec d'autres enzymes, libère l'acide férulique. Par voie biotechnologique, l'acide férulique ainsi extrait est ensuite transformé en vanilline.

Le schéma global et simplifié du processus est le suivant :



1.1. Dans l'étape (1), on observe une modification du groupement caractéristique (1) en groupement caractéristique (2).

Nommer ces deux groupements caractéristiques.

1.2. Caractériser la réaction chimique de l'étape (3) en utilisant l'un des termes suivants : addition, élimination, oxydation, réduction.

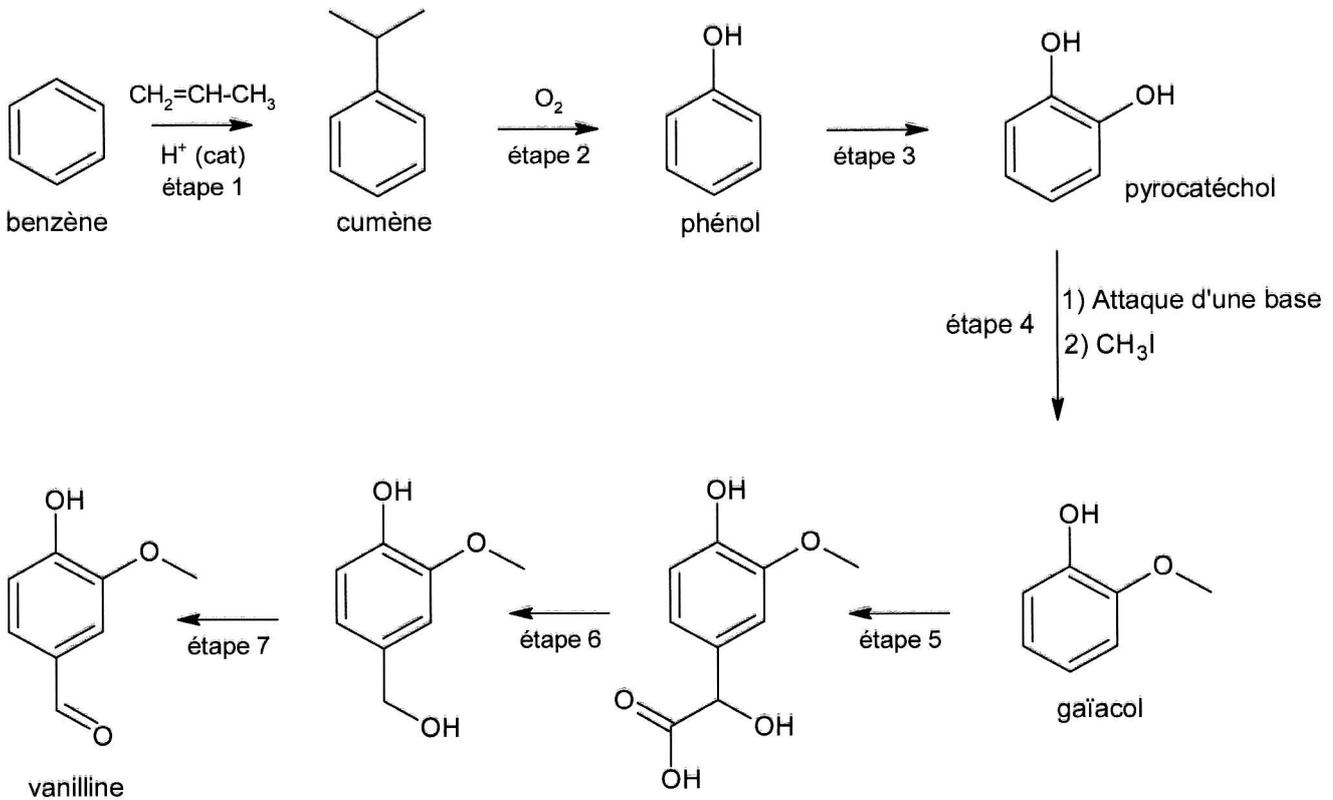
1.3. Un contrôle qualité par spectrométrie de masse donne le spectre du produit obtenu dans le bioréacteur (**annexe 3 page 11**). Montrer, en identifiant le pic de l'ion moléculaire (pic parent), que le produit peut bien être de la vanilline $C_8H_8O_3$.

Données :

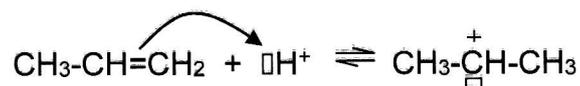
Élément chimique	H	C	O
Masse molaire en $g.mol^{-1}$	1,00	12,0	16,0

2. Synthèse de la vanilline par voie chimique

La vanilline peut être obtenue à partir du benzène par la séquence réactionnelle suivante :



2.1. La réaction se produisant dans l'étape 1 est une substitution électrophile. Il se forme dans un premier temps un carbocation $\text{CH}_3-\overset{+}{\text{C}}\text{H}-\text{CH}_3$ selon la première étape du mécanisme réactionnel ci-dessous :



Écrire la fin du mécanisme réactionnel conduisant au cumène en utilisant le formalisme des flèches courbes.

2.2. L'étape 2 consomme du dioxygène et produit également de la propanone. Écrire une équation de réaction ajustée en utilisant une représentation topologique pour les molécules organiques.

2.3. Lors de l'étape 3, un isomère du pyrocatechol pourrait se former. Expliquer pourquoi. Donner sa représentation topologique.

2.4. Identifier la fonction chimique modifiée lors de l'étape 7. Pour cette étape un oxydant a été utilisé en défaut.

Donner ce qui aurait été obtenu si l'oxydant avait été utilisé en excès.

Citer un oxydant possible.

III. DOSAGES DU GLUCOSE (16 points)

Il existe différentes techniques de dosage du glucose en solution aqueuse. La méthode de Bertrand est une technique de dosage de certains sucres, dont le glucose. Elle nécessite l'emploi de la liqueur de Fehling, solution très basique ($\text{pH} > 13$) contenant des ions Cu^{2+} complexés par des ions tartrate.

1. Rôle des ions tartrate dans la liqueur de Fehling

La composition de la liqueur de Fehling est donnée dans le tableau suivant :

Pour un litre de solution aqueuse :		
Espèce chimique	Formule	Masse en g
Sulfate de cuivre pentahydraté	$\text{CuSO}_4,5 \text{ H}_2\text{O}$	20
Hydroxyde de sodium	NaOH	75
Tartrate mixte de sodium et de potassium	$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4\text{NaK}$	100
Eau	H_2O	Quantité suffisante pour 1 L

Données : Masse molaire
à 25 °C :

$$M(\text{CuSO}_4,5\text{H}_2\text{O}) = 249,6 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\text{pK}_s(\text{Cu}(\text{OH})_2) = 19,7$$

$$\text{produit ionique de l'eau } K_E = 1,0 \times 10^{-14}$$

On considère une solution aqueuse (S) de même concentration massique en sulfate de cuivre pentahydraté que la liqueur de Fehling, ce qui correspond à une concentration molaire en ions cuivre (II) $[\text{Cu}^{2+}_{(\text{aq})}] = 8,0 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

1.1. Donner l'expression littérale du produit de solubilité K_s de l'hydroxyde de cuivre (II) $\text{Cu}(\text{OH})_2_{(\text{s})}$.

1.2. Montrer que le pH de début de précipitation de l'hydroxyde de cuivre (II) $\text{Cu}(\text{OH})_2_{(\text{s})}$, dans la solution (S) précédente, vaut $\text{pH} = 4,7$.

1.3. En déduire, sans calcul supplémentaire, le rôle des ions tartrate dans la liqueur de Fehling.

2. Dosage chimique du glucose par la méthode de Bertrand

Le mode opératoire est le suivant :

- Étape 1 : dans un erlenmeyer, faire réagir une prise d'essai d'un volume $V = 20,0 \text{ mL}$ de solution aqueuse de glucose $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (sérum sanguin par exemple) avec un volume de 40 mL de liqueur de Fehling, à ébullition pendant une durée de 3 min. Une partie des ions Cu^{2+} (complexés par les ions tartrate) se transforme en oxyde de cuivre (I) $\text{Cu}_2\text{O}_{(\text{s})}$ de couleur rouge, stable en milieu fortement basique.

- Étape 2 : refroidir le mélange réactionnel en le plaçant dans un bain-marie d'eau froide.
- Étape 3 : récupérer l'oxyde de cuivre (I) $\text{Cu}_2\text{O}_{(s)}$ par filtration sur un entonnoir en verre fritté (poreux), en évitant de laisser le solide au contact de l'air. Laver le précipité à l'eau.
- Étape 4 : dissoudre l'oxyde de cuivre (I) $\text{Cu}_2\text{O}_{(s)}$ récupéré dans une solution aqueuse d'ions $\text{Fe}^{3+}_{(aq)}$ en excès : une partie des ions $\text{Fe}^{3+}_{(aq)}$ se transforme en ions $\text{Fe}^{2+}_{(aq)}$.
- Étape 5 : acidifier le milieu par addition d'un volume de 10 mL d'acide sulfurique concentré et doser les ions $\text{Fe}^{2+}_{(aq)}$ formés dans l'étape 4 par les ions permanganate $\text{MnO}_4^-_{(aq)}$.

Cette technique permet, par exemple, de doser le glucose dissous dans le sang.

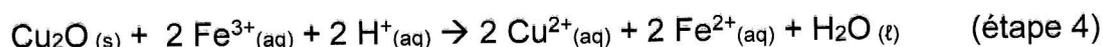
La réaction d'oxydation du glucose par les ions $\text{Cu}^{2+}_{(aq)}$ apportés par la liqueur de Fehling se traduit, en milieu basique, par l'équation :



Du fait d'une réaction chimique concurrente, la quantité de matière de glucose consommée et la quantité d'oxyde de cuivre (I) formée **ne sont pas égales**.

C'est pourquoi il faut utiliser une courbe de correspondance (courbe de Bertrand) donnée en **annexe 4 page 12 à rendre avec la copie** pour exploiter cette étape du mode opératoire.

La réaction d'oxydoréduction entre l'oxyde de cuivre (I) et les ions $\text{Fe}^{3+}_{(aq)}$ se traduit, en milieu acide, par l'équation de réaction :



Le dosage des ions $\text{Fe}^{2+}_{(aq)}$ ainsi formés a nécessité un volume $V_E = 8,55 \text{ mL}$ de solution aqueuse d'ions permanganate $\text{MnO}_4^-_{(aq)}$ de concentration $C = 0,0205 \text{ mol.L}^{-1}$.

2.1. Cette réaction implique les couples $\text{MnO}_4^-_{(aq)} / \text{Mn}^{2+}_{(aq)}$ et $\text{Fe}^{3+}_{(aq)} / \text{Fe}^{2+}_{(aq)}$.

Écrire les deux demi-équations associées à chacun de ces couples, puis l'équation de la réaction d'oxydoréduction entre les ions $\text{Fe}^{2+}_{(aq)}$ et les ions permanganate $\text{MnO}_4^-_{(aq)}$ en milieu acide.

2.2. Calculer la quantité de matière $n(\text{Fe}^{2+}_{(aq)})$ dosée. Justifier la réponse.

2.3. La masse d'ions $\text{Cu}^{2+}_{(aq)}$ qui a réagi avec le glucose vaut 55,6 mg.

À l'aide de la courbe de Bertrand donnée dans l'**annexe 4 page 12 à rendre avec la copie**, déterminer la masse de glucose contenue dans l'échantillon étudié, puis déterminer la concentration massique de la solution de glucose dosée. Commenter la valeur trouvée sachant qu'une glycémie normale à jeun est comprise entre $0,70 \text{ g.L}^{-1}$ et $1,10 \text{ g.L}^{-1}$.

3. Dosage spectrophotométrique du glucose par voie enzymatique

Cette technique de dosage, spécifique au glucose, se fait en deux étapes. Le glucose aqueux $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ est d'abord oxydé par le dioxygène de l'air, à température ambiante, en présence de l'enzyme glucose-oxydase (GOD) pour former de l'acide gluconique $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$ et de l'eau oxygénée H_2O_2 . Puis, l'eau oxygénée H_2O_2 formée réagit avec le phénol et la 4-aminoantipyrine, à température ambiante, en présence de l'enzyme peroxydase (POD) pour former une quinonéimine (espèce chimique colorée dont le maximum d'absorption se situe entre 500 nm et 510 nm).

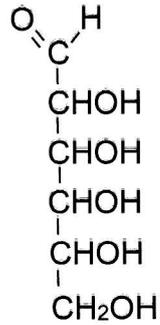
BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2018
Sciences physiques et chimiques	BOE1SC	Page : 8/12

Le mode opératoire consiste à prélever 10 μL de l'échantillon à analyser, à y rajouter, sous hotte ventilée, 1 mL des réactifs en kit (contenant phénol, 4 - aminoantipyrine, tampon phosphate et les enzymes GOD, POD, dans les proportions optimales), à laisser agir 15 min à température ambiante et enfin à mesurer l'absorbance du mélange avec un spectrophotomètre pour en déduire la concentration molaire en glucose.

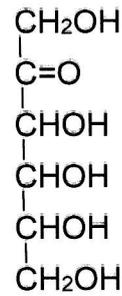
Question :

En laboratoire d'analyse, cette méthode est privilégiée par rapport à la méthode de Bertrand. Justifier cette affirmation en analysant les facteurs suivants : durée, sécurité et sélectivité du dosage.

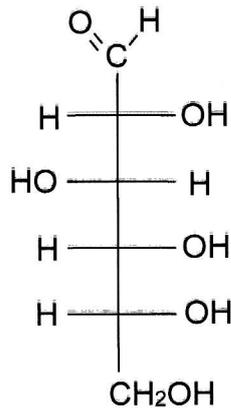
ANNEXE 1 À RENDRE AVEC LA COPIE



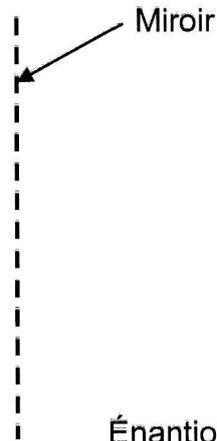
Glucose



Fructose



Représentation de Fischer
du D-glucose

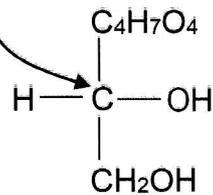


Énantiomère du D-glucose :

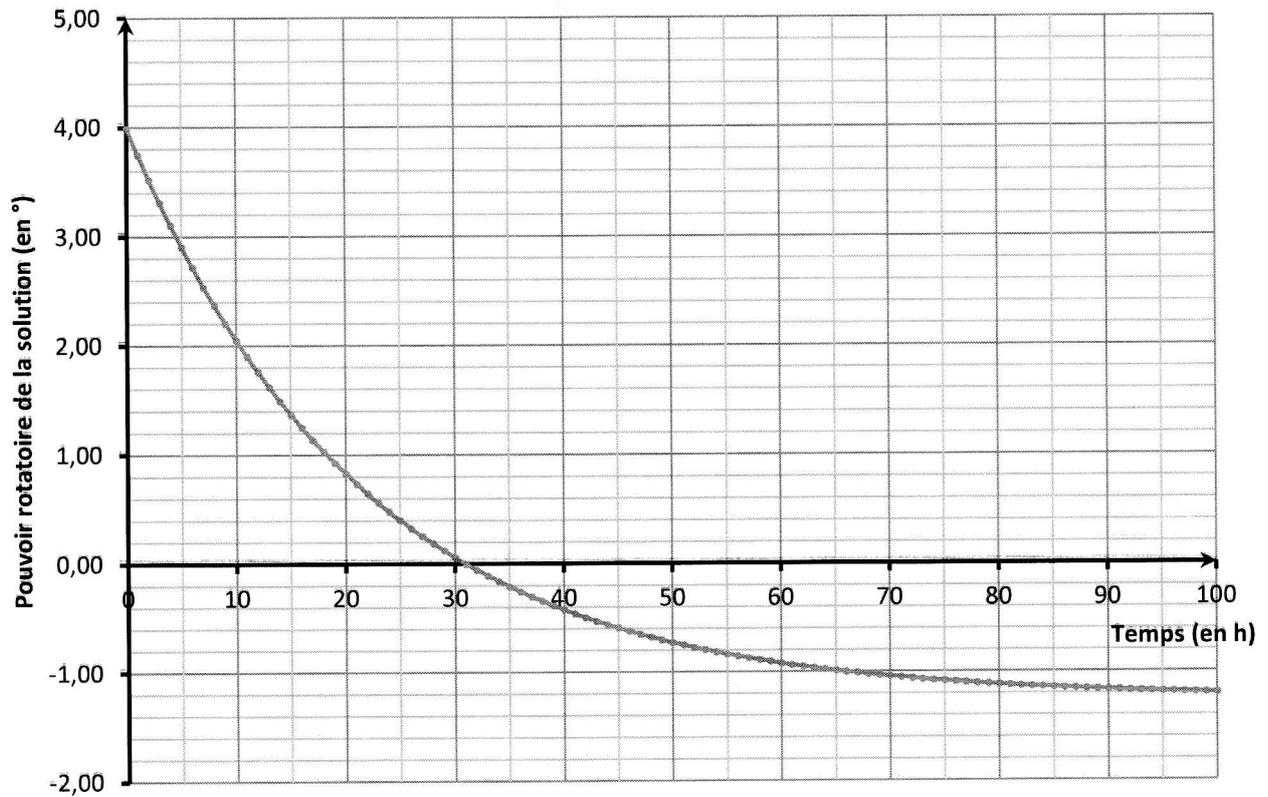
(à représenter et à nommer)

Molécule de glucose avec l'atome de carbone n°5 de configuration absolue R (à dessiner en représentation de Cram dans ce cadre) :

Atome de carbone n°5

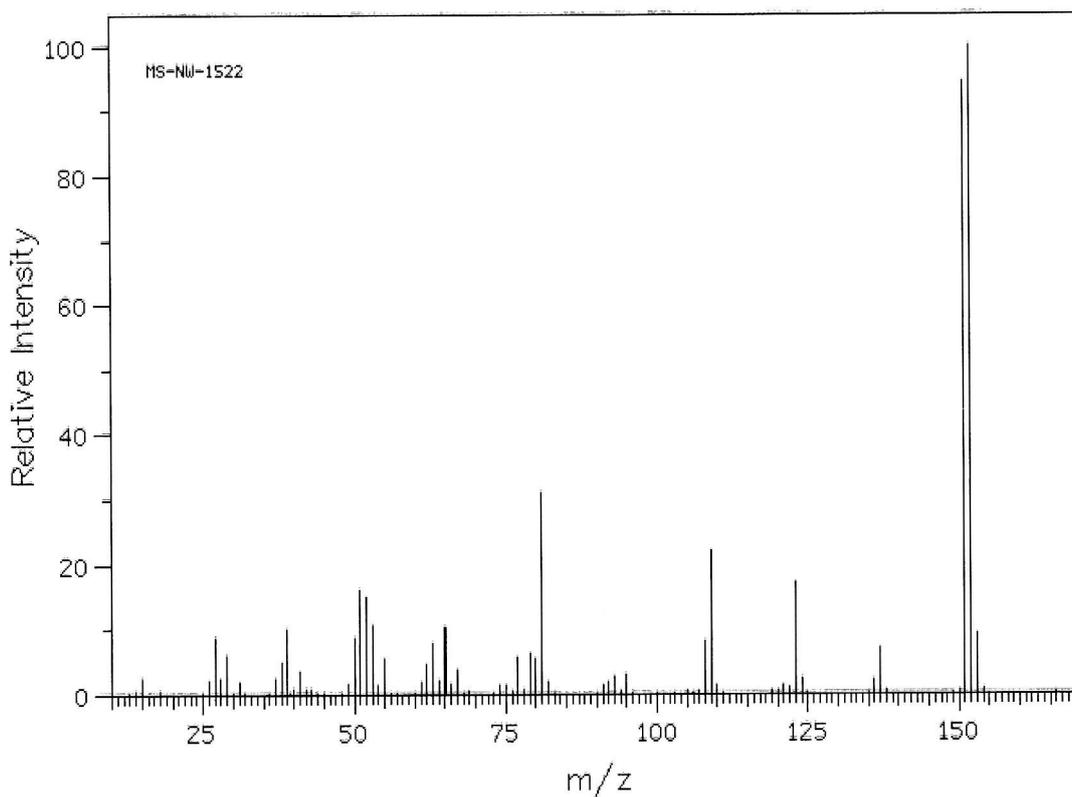


ANNEXE 2



ANNEXE 3

Spectre de masse (d'après Spectral Database for Organic Compounds SDBS / Japan)



ANNEXE 4 À RENDRE AVEC LA COPIE

Courbe de Bertrand

