

# **BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR**

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

### **E3 – BIOCHIMIE-BIOLOGIE**

**SESSION 2016**

Durée : 4 heures  
Coefficient : 5

**Matériel autorisé :**

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 du 16 novembre 1999).

**Les trois parties du sujet sont indépendantes et sont à rédiger sur trois copies séparées.**

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.  
Le sujet se compose de 15 pages, numérotées de 1/15 à 15/15.

BTS Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries		Session 2016
E3 – Biochimie-Biologie	Code : QABIOCH	Page : 1/15

## E3 – BIOCHIMIE-BIOLOGIE

### LE CHOCOLAT

#### PARTIE BIOCHIMIE (42 POINTS)

Afin de diversifier sa gamme de production, une entreprise souhaite adapter la formule d'un chocolat dont la composition est présentée en annexe 1. Les axes d'amélioration se concentrent sur le choix des lécithines et sur le remplacement du sucre.

#### 1. CARACTERISTIQUES NUTRITIONNELLES

Le chocolat est un aliment énergétique pauvre en azote.

1.1. Justifier le qualificatif « énergétique » à l'aide de l'annexe 1.

1.2. A l'aide des informations d'étiquetage en annexe 1, citer au moins deux catégories de molécules apportant de l'azote dans le chocolat. Argumenter en indiquant le nom des constituants azotés élémentaires.

#### 2. ANALYSE COMPARATIVE DE DEUX LECITHINES PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

L'entreprise étudie la possibilité de remplacer la lécithine (ou phosphatidylcholine) de soja par la lécithine de colza.

2.1. En utilisant les données de l'annexe 3, écrire la formule semi-développée d'une molécule de lécithine. Repérer sur cette formule la partie hydrophile et la partie hydrophobe.

Une analyse de la composition des deux types de lécithines est réalisée de la manière suivante :

- purification de la lécithine avec élimination de toute trace de triglycérides et d'acides gras libres,
- trans-estérification par le méthanol,
- analyse en chromatographie en phase gazeuse (CPG) ; le principe de fonctionnement de la CPG ainsi que les chromatogrammes intégrés sont présentés en annexe 2.

2.2. A partir des caractéristiques techniques du chromatographe, indiquer la nature de la phase stationnaire puis celle de la phase mobile.

2.3. A partir de la structure de deux acides gras de longueur différente, justifier l'ordre dans lequel ils sont détectés en sortie de colonne.

2.4. Analyser les chromatogrammes des deux lécithines. En déduire leur composition quantitative exprimée en pourcentage.

### 3. FORMULATION D'UN CHOCOLAT ALLEGE EN SUCRES

Afin de développer de nouveaux produits à destination des diabétiques, l'entreprise envisage de remplacer le saccharose par un édulcorant. Deux possibilités de remplacement sont envisagées : le maltitol et le D-tagatose.

La forme prédominante du D-tagatose est la forme alpha-D-tagatopyranose.

**3.1.** Représenter le D-tagatose en représentation de Fischer sachant que le tagatose est l'épimère en C<sub>4</sub> du fructose. Expliquer comment se réalise la cyclisation du tagatose sous forme pyranose et représenter la formule en représentation de Haworth de l'alpha-D-tagatopyranose.

Le maltitol est un polyol résultant de la transformation du maltose en une seule étape.

**3.2.** Ecrire la formule cyclique en représentation de Haworth du maltose ( $\alpha$ -D-Glcp 1  $\rightarrow$ 4- D -Glcp). Repérer sur la formule le groupement réducteur et le nommer. Préciser le type de réaction chimique permettant la transformation du maltose en maltitol.

**3.3.** Indiquer la quantité d'édulcorant à incorporer dans 1 kg de chocolat en lieu et place du saccharose qui permette de préserver la même intensité du goût sucré.

Données :

pouvoir sucrant (PS) des deux édulcorants : voisin de 0,85

PS<sub>saccharose</sub> = 1

La molécule de maltitol est susceptible d'être hydrolysée en une molécule de glucose et une molécule de sorbitol.

**3.4.** Expliquer en quoi consiste une réaction d'hydrolyse. En déduire l'équation bilan de la réaction.

**3.5.** A partir des éléments fournis en annexe 4, déterminer le nombre de molécules d'ATP produites par molécule de saccharose. Argumenter la réponse.

Le sorbitol cytosolique est converti en fructose en présence de sorbitol déshydrogénase (SDH) selon la réaction suivante : sorbitol + NAD<sup>+</sup>  $\rightarrow$  fructose + NADH, H<sup>+</sup>.

**3.6.** Le nombre de molécules d'ATP produites à partir du maltitol est de 61,5. Retrouver cette valeur à l'aide de l'annexe 4. Comparer les bilans énergétiques de l'oxydation totale du saccharose et du maltitol.

Le diabète est un état pathologique caractérisé par une moindre capacité de l'organisme à réguler la glycémie. Le passage des substances glucidiques dans le sang suite à un repas riche en sucres engendre un pic glycémique qui nécessite une réponse rapide et ajustée sous forme de sécrétion d'insuline.

**3.7.** A partir de l'annexe 5, argumenter le choix de l'édulcorant pour un chocolat destiné à des consommateurs diabétiques.

## PARTIE TOXICOLOGIE (18 POINTS)

Le cacao contient 2,3 % de théobromine, alcaloïde à noyau purique. La théobromine est métabolisée par le foie en paraxanthine et en théophylline (formules présentées en annexe 6).

### 1. ÉTUDE DE LA TOXICITE AIGUË

La DL50 de la théobromine a été déterminée chez le chien. La valeur obtenue est de  $300 \text{ mg.kg}^{-1}$  de masse corporelle pour une administration par voie orale.

1.1. Définir la DL50 et expliquer sa détermination.

1.2. Calculer la quantité de théobromine à administrer pour obtenir la DL50 chez un animal de 20 kg.

1.3. En déduire la quantité de théobromine contenue dans un chocolat à 70 % de cacao.

1.4. Calculer la quantité de chocolat noir à 70 % de cacao à administrer à l'animal dans les conditions de l'étude, afin d'atteindre le DL50.

### 2. ÉTUDE DE LA CINÉTIQUE D'ÉLIMINATION

Le laboratoire procède à l'intoxication expérimentale par voie sanguine d'un chien. La théobromine est ensuite dosée dans le sérum toutes les quatre heures. Les résultats sont reportés dans le tableau et le graphique de l'annexe 7.

2.1. Déterminer graphiquement le  $t_{1/2}$  (temps nécessaire pour que la concentration sérique baisse de moitié). Détailler la démarche mise en œuvre.

2.2. En déduire la valeur  $C_0$  (concentration sérique en théobromine au temps  $t = 0$  heure).

### 3. MÉTABOLISATION DE LA THÉOBROMINE

Dans le foie, la théobromine est métabolisée en paraxanthine et en théophylline en présence d'une enzyme de la famille des transférases.

3.1. À partir des formules données en annexe 6, expliquer les réactions impliquées dans les transformations de la théobromine. Préciser le type d'enzyme catalysant ces réactions.

3.2. Localiser le compartiment cellulaire où se déroulent ces réactions.

3.3. Nommer le type de métabolisme auquel appartient cette réaction. Préciser le(s) but(s) de ce métabolisme.

### 4. EXCRÉTION DE LA THÉOBROMINE ET DE SES MÉTABOLITES

L'excrétion est réalisée par le rein à 85 % sous forme de paraxanthine et à 5 % sous forme de théophylline. Les 10 % restants correspondent à de la théobromine non métabolisée.

4.1. Détailler les différentes étapes de la phase toxico-cinétique.

4.2. Citer deux autres voies d'excrétion possibles des métabolites toxiques, en précisant pour chacune les propriétés physico-chimiques des toxiques concernés.

BTS Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries		Session 2016
E3 – Biochimie-Biologie	Code : QABIOCH	Page : 4/15

**1. IDENTIFICATION D'UN CONTAMINANT DE CHOCOLATS FOURRES AUX FRUITS**

Quelques jours après leur fabrication, pendant leur stockage à 13 °C, des chocolats fourrés d'une ganache aux fruits éclatent.

**1.1. Recherche de contaminants**

La recherche aboutit à l'identification d'une levure : *Rhodotorula mucilaginosa*.

1.1.1. Citer les grandes différences entre cellules eucaryotes et procaryotes.

1.1.2. Argumenter si *Rhodotorula mucilaginosa* est un organisme eucaryote ou procaryote.

**1.2. Identification de la levure**

L'identification se fait à l'aide la galerie API® C AUX basée sur le principe de l'auxanogramme. Dix-neuf substrats déshydratés présents au fond des différentes cupules sont solubilisés à l'aide d'une suspension microbienne réalisée en milieu ApiC Medium. Les compositions des cupules et du milieu sont présentées dans l'annexe 8.

1.2.1. A partir de sa composition, définir le type du milieu utilisé.

1.2.2. Définir le terme facteur de croissance.

1.2.3. Retrouver dans les compositions, en annexe 8, les différentes catégories biochimiques des facteurs de croissance.

1.2.4. Donner l'aspect d'un résultat positif lu sur la galerie API® C AUX, puis expliquer le rôle de la cupule 0.

1.2.5. A l'aide de l'annexe 8, expliquer le principe de la recherche de l'auxanogramme.

**2. RECHERCHE DE LA SOURCE DE CONTAMINATION**

Des recherches sont entreprises pour déterminer l'origine de la levure étudiée.

**2.1. Vérification de la surface de travail**

*Rhodotorula mucilaginosa* étant une levure capable de former un biofilm, un dénombrement à l'aide d'une gélose contact « levures-moisissures » est réalisé sur la surface de fabrication des chocolats, avant et après l'étape de nettoyage-désinfection. Aucune levure n'est retrouvée sur le plan de travail lors de cette analyse.

2.1.1. Expliquer la différence entre le nettoyage et la désinfection.

2.1.2. L'annexe 9 donne la composition de la gélose contact utilisée.  
Expliquer l'intérêt des agents neutralisants dans la gélose.

2.1.3. Définir ce qu'est un biofilm.

## 2.2. Analyse des caractéristiques du produit

Afin de vérifier la possibilité de croissance de la levure dans le chocolat, l' $A_w$  et le pH de l'intérieur et l'extérieur du chocolat ont été mesurés. Les valeurs obtenues sont présentées dans l'annexe 10.

2.2.1. Définir « l' $A_w$  ».

2.2.2. Expliquer, à l'aide de l'annexe 10, dans quelle partie du chocolat les levures peuvent se développer.

## 3. ÉTUDE DES CARACTERISTIQUES DE CROISSANCE DE *RHODOTORULA MUCILAGINOSA*

La croissance de *Rhodotorula mucilaginosa* a été testée à différentes températures et différents pH.

3.1. Les temps de génération calculés pour chaque température sont présentés dans document 1 de l'annexe 11.

3.1.1. Définir le temps de génération.

3.1.2. Utiliser l'annexe 11 pour déterminer la température optimale de croissance de *Rhodotorula mucilaginosa*. Justifier la réponse.

3.2. Délimiter, nommer puis indiquer les significations physiologiques des différentes phases de *Rhodotorula mucilaginosa* à pH = 5 présentée dans le document 2 de l'annexe 11.

3.3. A partir de la courbe de croissance de *Rhodotorula mucilaginosa* à pH = 5, déterminer graphiquement le temps de génération. Vérifier la valeur obtenue par le calcul.

3.4. Commenter l'évolution de la population de levures en fonction des différents pH. Qualifier les levures par rapport à ce paramètre.

## 4. AMELIORATION DU PROCEDE DE FABRICATION

Après fabrication, les chocolats sont refroidis dans un tunnel de refroidissement à 15 °C et la température à l'intérieur du bonbon est alors proche de la température de 20 °C.

4.1. Une amélioration possible consiste à abaisser la température du tunnel de 5 °C. Expliquer l'effet de cet abaissement de la température sur la population microbienne.

4.2. Une autre amélioration consiste à utiliser une purée de fruits pasteurisée.

4.2.1. Définir la pasteurisation.

4.2.2. Présenter deux autres techniques permettant d'assurer la qualité microbiologique de la purée de fruits.

## ANNEXE 1 : INFORMATIONS D'ETIQUETAGE D'UN CHOCOLAT

### CHOCOLAT AU LAIT

Ingrédients : sucre (55 %), pâte de cacao, lait entier en poudre, beurre de cacao, lactosérum en poudre, émulsifiant : lécithine de soja, cacao en poudre fortement dégraissé, arômes, beurre concentré.

Donnée : lécithine = phosphatidylcholine

## ANNEXE 2 : ANALYSE DU CONTENU DES LECITHINES PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

La CPG est réalisée à l'aide d'une colonne capillaire à base de silice apolaire  $\text{SiO}_2$ . L'échantillon analysé est injecté et chauffé à l'entrée de colonne en présence du gaz vecteur hélium. Un détecteur à ionisation de flamme en sortie de colonne permet d'identifier les substances séparées en déterminant la durée de rétention dans la colonne capillaire.

La durée de rétention est d'autant plus élevée que la chaîne carbonée d'un acide gras donné est longue. Cette durée est légèrement augmentée pour chaque insaturation présente sur la chaîne carbonée.

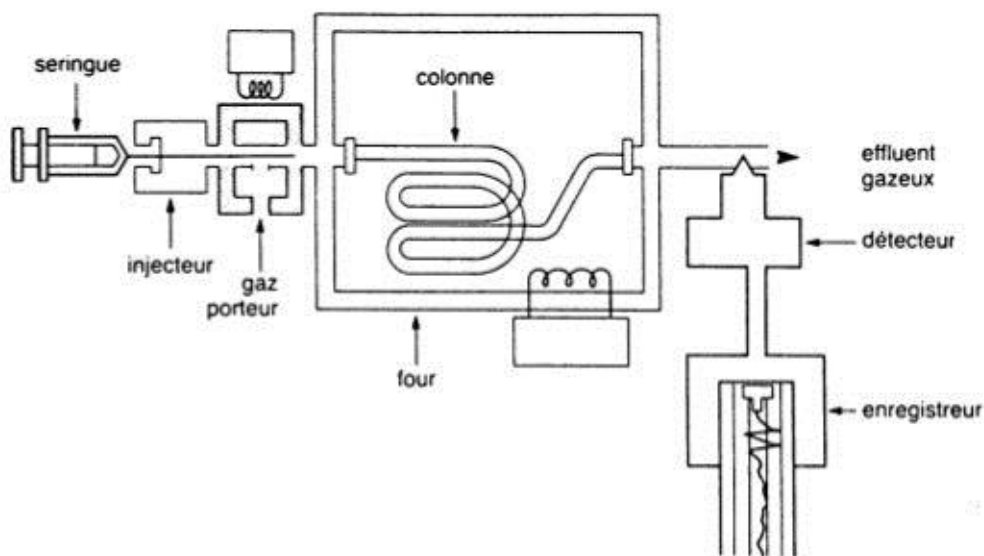


Schéma de principe d'un chromatographe à gaz

Le dispositif permet d'obtenir un chromatogramme constitué de pics répartis le long d'un axe temporel. Chaque pic résolu correspond à une substance pure.

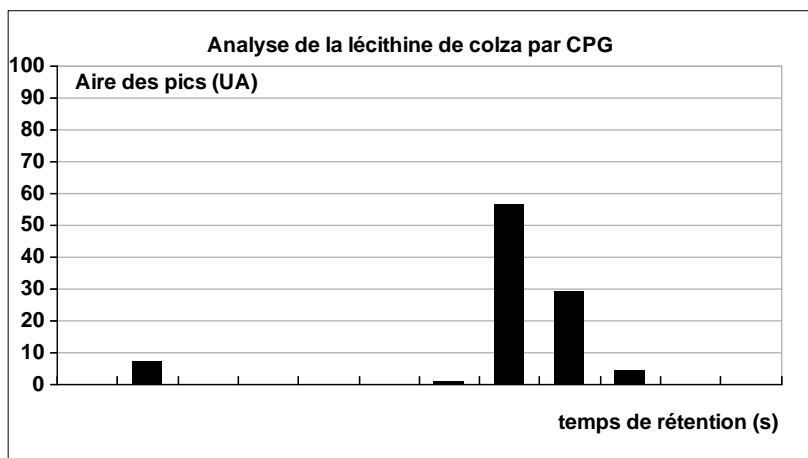
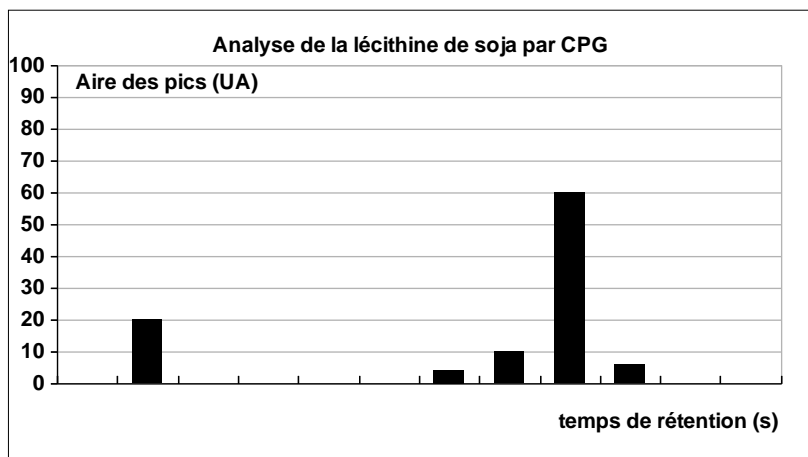
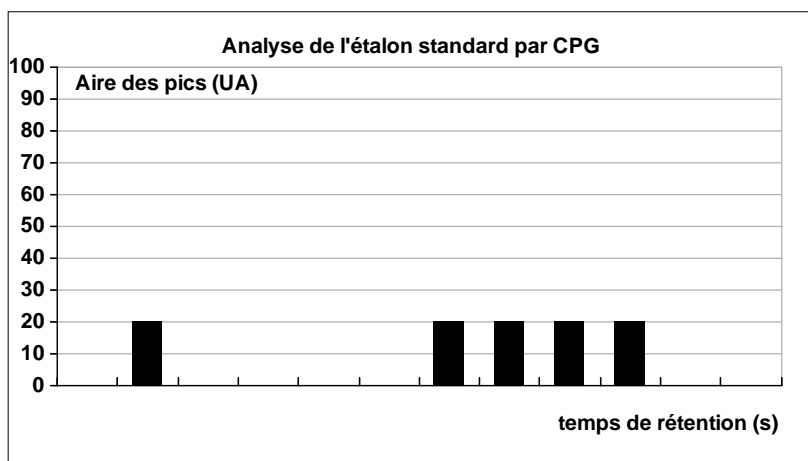
La surface d'un pic donné est proportionnelle à la quantité de la substance pure correspondante injectée parmi l'ensemble des substances constituant l'échantillon.

Trois chromatogrammes ont été obtenus :

1. Étalon standard (composition précisée ci-dessous) – chromatogramme de calibration,
2. Lécithine de soja,
3. Lécithine de colza.

Ces trois chromatogrammes ont fait l'objet d'un traitement intégrateur consistant à évaluer les aires de chacun des pics obtenus. On obtient ainsi les représentations en histogramme ci-dessous. Les échelles sont identiques pour les trois chromatogrammes intégrés.

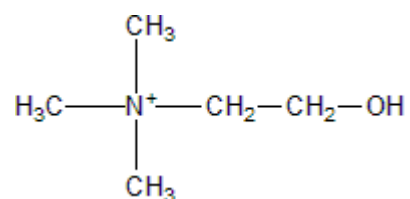
Composition de l'étalon standard : mélange équimassique d'acide palmitique  $C_{16:0}$ , d'acide stéarique  $C_{18:0}$ , d'acide oléique  $C_{18:1}$ , d'acide linoléique  $C_{18:2}$  et d'acide linoléique  $C_{18:3}$ .



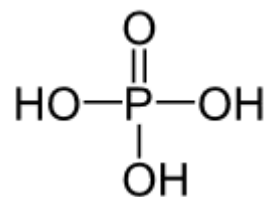


### ANNEXE 3 : FORMULES DES DIFFERENTS CONSTITUANTS D'UNE LECITHINE

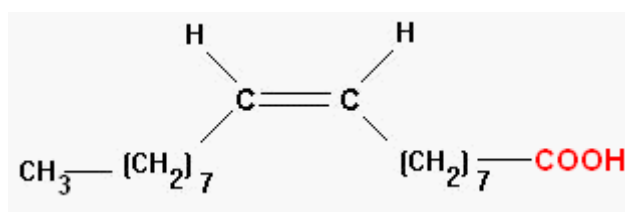
Choline :



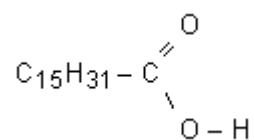
Acide phosphorique :



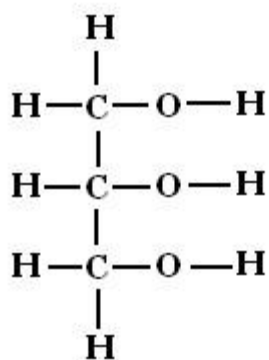
Acide oléique :



Acide palmitique :

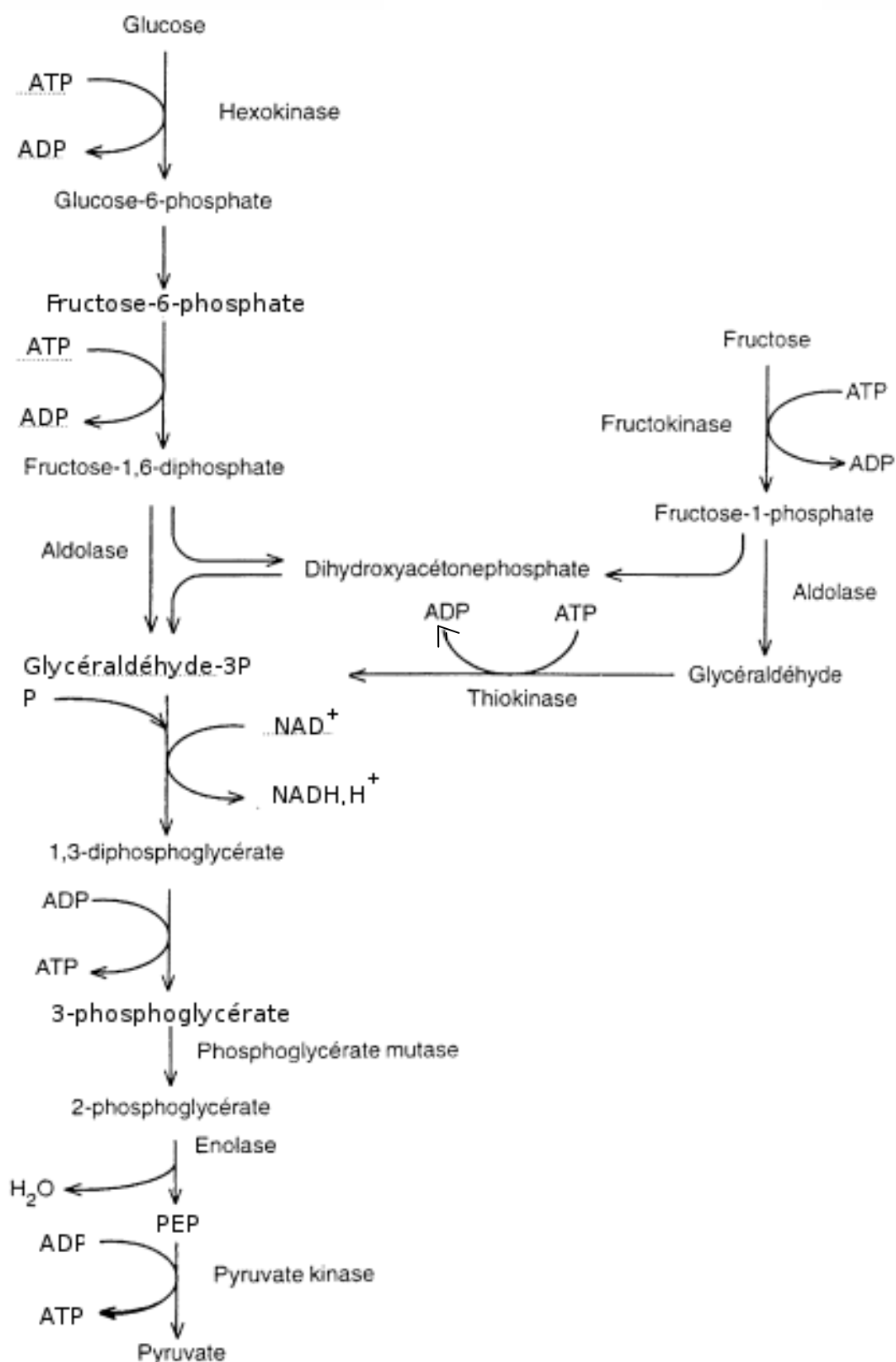


Glycérol :

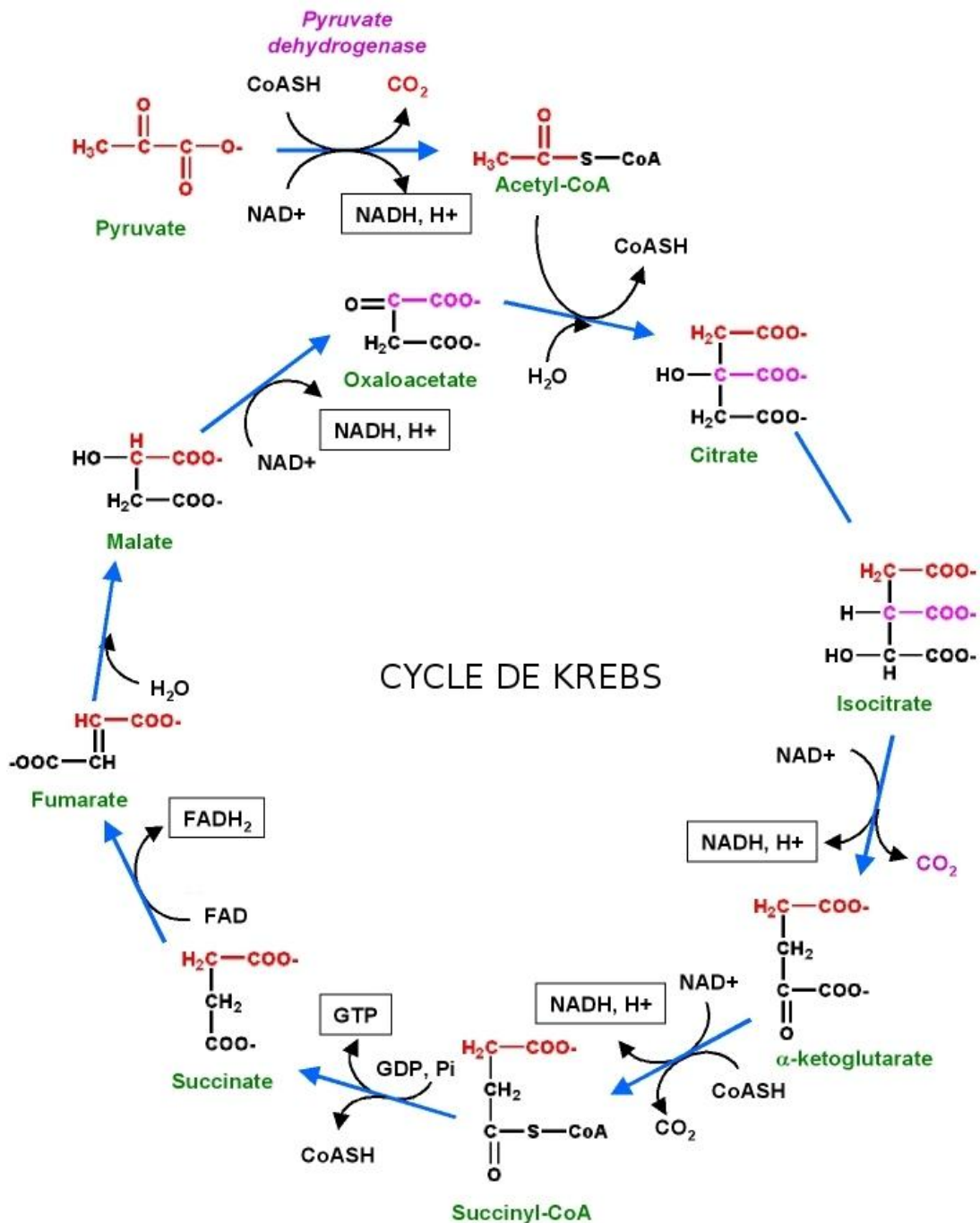


## ANNEXE 4 : METABOLISME DES GLUCIDES

### Document 4.1 : Alimentation de la glycolyse cytosolique par le glucose et le fructose



## Document 4.2 : Décarboxylation oxydative du pyruvate et cycle de Krebs



### Rapports P/O :

Le NADH, H<sup>+</sup> produit par le cycle de Krebs permet la synthèse 2,5 ATP.

Le NADH, H<sup>+</sup> produit dans le cytosol permet la synthèse 1,5 ATP.

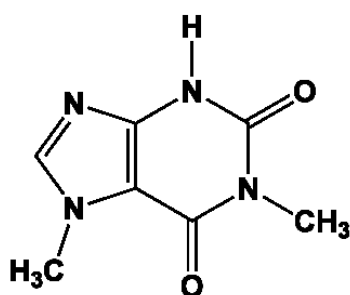
Le FADH<sub>2</sub> permet la synthèse 1,5 ATP.

## ANNEXE 5 : L'INDEX GLYCEMIQUE

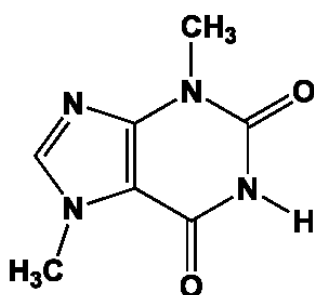
L'index glycémique mesure la rapidité d'assimilation par l'organisme de la substance sucrée ingérée. Il a été décidé que le glucose servirait de base et aurait un index glycémique de 100. Un édulcorant ayant un chiffre inférieur est assimilé plus lentement par l'organisme. Si l'index est supérieur, l'édulcorant est assimilé plus rapidement que le glucose.

Substance sucrée	Index glycémique
fructose	23
glucose	100
maltitol	30
maltose	105
saccharose	65
sorbitol	9
extraits de <i>Stevia</i>	0
D-tagatose	<1

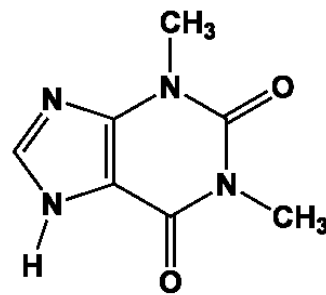
## ANNEXE 6 : FORMULES DE LA THÉOBROMINE ET DE SES MÉTABOLITES



Paraxanthine



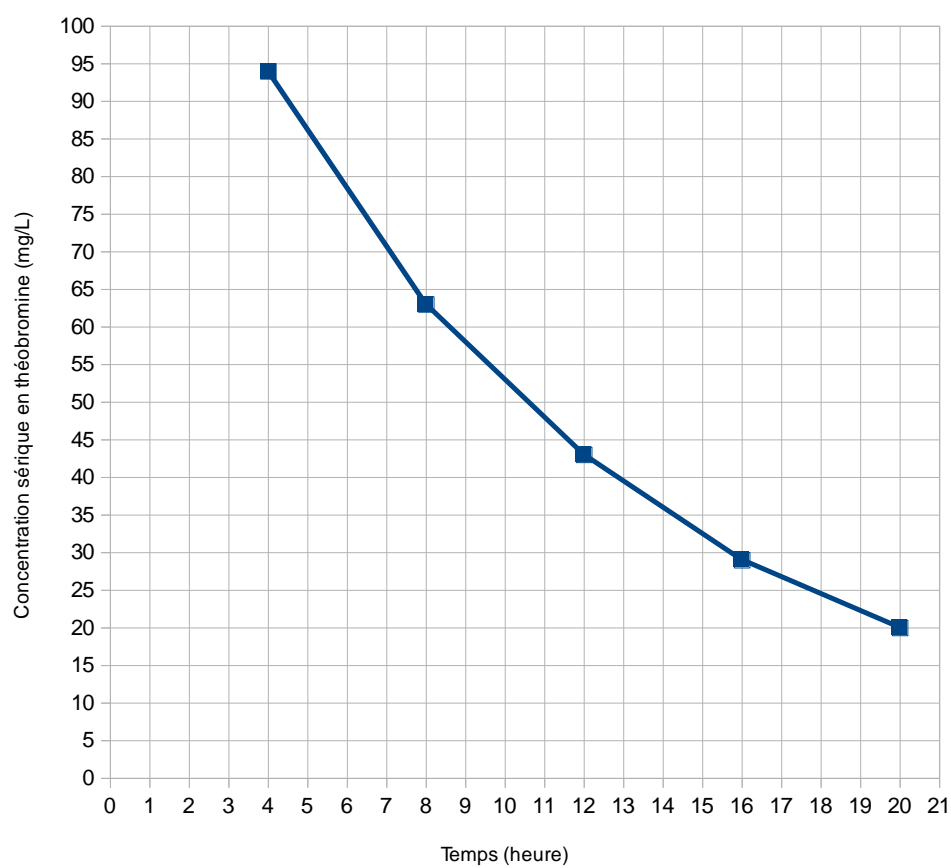
Théobromine



Théophylline

## ANNEXE 7 : DOSAGE DE LA THÉOBROMINE SÉRIQUE

Temps (heures)	$\rho$ (mg/L)
4	94
8	63
12	43
16	29
20	20



## ANNEXE 8 : EXTRAIT DE LA FICHE TECHNIQUE DE LA GALERIE API® C AUX

### COMPOSITION

#### Galerie

La composition de la galerie API 20 C AUX est reportée dans la liste des tests ci-dessous :

TESTS	SUBSTRATS	QTE (mg/cup.)
0	Aucun	-
GLU	D-GLucose	1,2
GLY	GLycérol	1,2
2KG	calcium 2-céto-Gluconate	1,2
ARA	L-ARAbinose	1,2
XYL	D-XYLose	1,2
ADO	ADOnitol	1,2
XLT	XyLITol	1,2
GAL	D-GALactose	1,9
INO	INOsitol	2,36
SOR	D-SORbitol	1,2
MDG	Méthyl-αD-Glucopyranoside	1,2
NAG	N-Acétyl-Glucosamine	1,2
CEL	D-CELlobiose	1,2
LAC	D-LACtose (origine bovine)	1,2
MAL	D-MALTose	1,2
SAC	D-SACcharose	1,2
TRE	D-TREhalose	1,2
MLZ	D-MéLéZitose	1,2
RAF	D-RAFfinose	1,9

#### Milieu

API C Medium	Sulfate d'ammonium	5 g
7 ml	Phosphate monopotassique	0,31 g
	Phosphate dipotassique	0,45 g
	Phosphate disodique	0,92 g
	Chlorure de sodium	0,1 g
	Chlorure de calcium	0,05 g
	Sulfate de magnésium	0,2 g
	L-Histidine	0,005 g
	L-Tryptophane	0,02 g
	L-Methionine	0,02 g
	Agent gélifiant	0,5 g
	Solution de vitamines	1 ml
	Solution d'oligo-éléments	10 ml
	Eau déminéralisée	qsp 1000 ml
	pH final : 6,4-6,8 (à 20-25°C)	

Bien que contenant de l'agent gélifiant, API C Medium ne nécessite pas de fusion préalable et se pipette aussi bien qu'un milieu liquide. Il est préférable, afin de ramener les milieux à température ambiante, de sortir les ampoules du réfrigérateur quelques heures avant utilisation. **Ne pas agiter.**

## ANNEXE 9 : COMPOSITION DE LA GELOSE CONTACT LEVURE-MOISSISSURE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée

Peptone de viande	5,00	
Peptone de caséine	5,00	
Glucose monohydraté	40,00	
Thiosulfate de sodium *	0,60	
Lécithine de soja*	0,30	* : agents neutralisants
Tween® 80 *	2,50	
Histidine, HCL *	0,10	
Agar	17,0	
pH final à 25 °C : 5,7 ± 0,2		

## ANNEXE 10 : Aw ET pH DES PARTIES DU CHOCOLAT FOURRE GANACHE

	Intérieur : Ganache aux fruits *	Extérieur : Coque de chocolat noir
a <sub>w</sub>	0,86	0,30
pH	4,5	6,5

\* La ganache est composée de purée de fruits, de beurre et de chocolat.

## ANNEXE 11 : CARACTERISTIQUES DE CROISSANCE DE *RHODOTORULA MUCILAGINOSA*

**Document 1 : Temps de génération de *Rhodotorula mucilaginosa* en fonction de la température du milieu**

Température de croissance (°C)	Temps de génération (h)
10	Pas de croissance
20	2,69
25	2,27
30	2,02
35	2,30
38	Pas de croissance

**Document 2 : Croissance de *Rhodotorula mucilaginosa* en fonction du pH du milieu**

