Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV®.

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour consulter tous nos sujets d'annales et corrigés du BTS Bioqualité, veuillez visiter :
btsbioqualite.fr/annales-sujets-et-corriges

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR

QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

E3 – BIOCHIMIE-BIOLOGIE

SESSION 2019

Durée : 4 heures
Coefficient : 5

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

Documents à rendre avec la copie :
Annexes A, B et C page 12/12.

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 12 pages, numérotées de 1/12 à 12/12.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

E3 – BIOCHIMIE – BIOLOGIE

LE CACAO

La fève de cacao est la matière première de toute la filière du chocolat. Le procédé de fabrication est présenté en annexe 1.
Des études biochimiques, microbiologiques et toxicologiques sont réalisées à différentes étapes du processus de fabrication dans le but d'une amélioration continue des produits issus de la filière du cacao.

PARTIE 1 - ETUDE DE LA FERMENTATION DES GRAINES (41 points)

L'écabossage est réalisé rapidement après la récolte afin de récupérer les graines. Entre la récolte et l'exportation, les graines extraites des fruits du cacaoyer subissent plusieurs transformations dont la fermentation.
La fermentation du cacao est une opération entièrement naturelle et spontanée. L'action des microorganismes étant aléatoire, une optimisation du procédé de transformation des graines de cacao est réalisée.

1. FERMENTATION DE LA PULPE

La pulpe contient principalement :
- eau (80 %),
- glucides (17 %) dont amidon et pectines,
- acide citrique (proportion non précisée) induisant un pH de 3.

1.1. Fermentation par les levures

Des souches de levure dont *Saccharomyces chevalieri* ont été isolées du cacao en fermentation.
Des essais de culture de cette souche ont été mis en œuvre en fermenteur pilote.

1.1.1. Une image de microscopie électronique de levure est proposée en annexe A. Annoter le document et le remettre avec la copie.
En vous aidant de l'annexe A, préciser et justifier le type cellulaire (au moins deux critères sont attendus).

1.1.2. Préciser une condition physico-chimique qui favorise la fermentation de la pulpe par les levures. Indiquer le substrat indispensable.

1.1.3. Les produits de réaction obtenus lors de cette fermentation sont l'éthanol et le dioxyde de carbone. Cette fermentation dure 24 heures. Donner le nom de cette fermentation.

1.1.4. La fermentation alcoolique et la respiration sont deux processus métaboliques. Comparer ces deux processus en complétant le tableau fourni en annexe B.

1.1.5. L'annexe 2 présente l'évolution du pH de la pulpe au cours de la fermentation du cacao. Analyser la courbe. A l'aide de la composition de la pulpe, proposer une hypothèse pouvant rendre compte de la variation de pH.

1.2. Transformations par les bactéries

Des enzymes pectinolytiques provoquent l'écoulement de la pulpe favorisant la pénétration de l'air. Les conditions deviennent alors favorables au développement des bactéries. Des brassages manuels sont effectués à 24, 48 et 96 heures pour entretenir la pénétration de l'air. Les microorganismes présents sont majoritairement des bactéries acétiques.

Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement professionnel

1.2.1. L'évolution de la température lors de la transformation de la pulpe est donnée en annexe C. L'éthanol est oxydé en acide acétique lors d'une réaction exothermique.
Nommer une bactérie capable de réaliser cette oxydation.
Délimiter sur l'annexe C la zone anaérobie correspondant à la fermentation alcoolique par les levures, et la zone aérobie correspondant à l'oxydation de l'éthanol par les bactéries acétiques.

1.2.2. Placer sur la représentation graphique les brassages manuels réalisés et expliquer les conséquences sur l'évolution de la température.

1.2.3. Durant la phase exponentielle, le suivi de croissance est réalisé par des dénombrements bactériens en parallèle des mesures de température. Un dénombrement est réalisé à 24 heures puis à 36 heures de fermentation. Le mode opératoire est exposé dans l'annexe 3.
Donner le principe du dénombrement des bactéries par culture en surface.
Déterminer la concentration en nombre d'unités formant colonie (UFC) de bactéries acétiques par gramme de fèves de cacao à 24 heures de fermentation. Ecrire l'équation aux grandeurs et l'équation aux valeurs numériques.

Donnée : sur la boîte correspondant à la dilution décimale 10^{-2}, 60 colonies sont dénombrées.

1.2.4. A 36 heures de fermentation, les bactéries acétiques se trouvent en fin de phase exponentielle. La concentration bactérienne est alors de $2{,}3.10^{7}$ bactéries par gramme.
Déterminer la vitesse spécifique de croissance. En déduire le temps de génération.

1.2.5. Une mauvaise maîtrise de la fermentation peut conduire à une production d'acide lactique. Celui-ci s'accumule à l'intérieur des cotylédons générant des cacaos acides dont la valeur marchande est très dépréciée.
Donner deux genres de bactéries capables de produire de l'acide lactique.
Nommer et caractériser les deux types de fermentation lactique.

2. CONTAMINATIONS DANS LES COTYLEDONS

Pendant le déroulement des différentes phases microbiennes dans la pulpe, des réactions enzymatiques et biochimiques ont lieu au sein du cotylédon.

2.1. Contamination d'origine bactérienne

Lors de fermentations trop longues ou d'aération excessive, des bactéries aérobies strictes produisent des amines biogènes qui indiquent un début de putréfaction.

2.1.1. Citer le processus biochimique qui permet d'obtenir des amines biogènes.

2.1.2. Nommer une amine biogène.

2.2. Contamination d'origine fongique

L'élévation de la température due à l'action des bactéries acétiques participe à la perte du pouvoir germinatif des graines. La germination des graines favorise la pénétration des moisissures.

2.2.1. Caractériser les moisissures en précisant leur place dans la classification biologique, leur type cellulaire, leur morphologie, leurs types trophiques et leurs modes de reproduction.

2.2.2. Préciser l'origine de la contamination par les moisissures.

2.2.3. Indiquer les conséquences de la présence de moisissures dans les fèves de cacao.

Base nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

PARTIE 2 - RISQUES TOXICOLOGIQUES DU CACAO (16 points)

1. L'OCHRATOXINE

Le cacao est susceptible de contenir l'ochratoxine A (ou OTA) qui est une molécule dangereuse et peut, à ce titre, présenter un risque toxicologique potentiel.
L'ochratoxine A est produite par certaines espèces *d'Aspergillus* comme *A.carbonarius*, *A.niger*, *A.ochraceus*. Ce métabolite fongique est classé comme cancérigène, néphrotoxique, tératogène et mutagène.

1.1. Donner la définition de tératogène et de mutagène.

1.2. Au cours de la phase d'exposition et dans le cas du cacao, indiquer la voie de pénétration de l'OTA.

2. ETUDE DE LA TOXICITE DE L'OCHRATOXINE

Afin d'étudier la cytotoxicité de l'ochratoxine A, les effets de l'exposition à de faibles concentrations de la toxine sur la prolifération en culture *in vitro* d'une lignée cellulaire sont mesurés.
L'évaluation de la prolifération cellulaire par le test au Méthyl Thiazol Tétrazolium (test MTT) est présentée dans l'annexe 4**.**

2.1. Schématiser les principales étapes du test MTT.

2.2. Interpréter les résultats fournis dans l'annexe 4**.**

2.3. Déterminer la concentration en OTA pour laquelle 50 % de l'effet cytotoxique (IC50) est observé. Expliquer la démarche de détermination.

2.4. Il est nécessaire d'encadrer ce risque toxicologique vis-à-vis de l'ochratoxine A en établissant des limites comme la Dose Journalière Tolérable (DJT).
Définir la DJT.
Expliquer la méthode de calcul pour déterminer la DJT.

3. DOSAGE DE L'OCHRATOXINE

Une contamination à l'OTA d'un lot de chocolat de marque distributeur est suspectée. Un contrôle qualité est effectué sur un échantillon d'une masse de 10,0 g. L'ochratoxine A est purifiée par une méthode d'immuno-affinité, puis dosée par chromatographie en phase liquide haute performance. La limite de conformité est de 1,5 µg d'OTA/kg de chocolat.

3.1. Présenter le principe de la méthode de purification utilisée.

3.2. Conclure sur la conformité de l'échantillon de chocolat analysé.

Donnée : résultat du dosage : $m_{(OTA,\ échantillon\ chocolat)} = (8 \pm 0,5)$ ng

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

PARTIE 3 - ÉTUDE DES CONSTITUANTS DU CHOCOLAT (43 points)

Le chocolat est constitué du mélange, dans des proportions variables, de pâte de cacao, de beurre de cacao et de saccharose. L'ajout éventuel d'épices, comme la vanille, ou de matière grasse végétale autre que le beurre de cacao, est autorisé et règlementé.

1. LA SAVEUR SUCRÉE DU CHOCOLAT

La fève de cacao est naturellement peu sucrée et amère.
Le saccharose est ajouté pour donner au chocolat une saveur sucrée très appréciée du consommateur.

1.1. Le saccharose

Décrire la molécule de saccharose (α-D glucopyranosyl - (1-2) β-D fructofuranoside) : place dans la classification, formule chimique en représentation cyclique de Haworth.

1.2. Le sucre inverti

Les industriels utilisent souvent le sucre inverti à la place du saccharose.

1.2.1. Après avoir défini le sucre inverti, justifier le qualificatif « inverti ».
Ecrire la réaction d'obtention du sucre inverti. La formule chimique en représentation cyclique de Haworth et la nomenclature officielle des produits sont attendues, ainsi que le nom de l'enzyme catalysant cette réaction.

1.2.2. Analyser chaque document de l'annexe 5.
Formuler deux hypothèses qui justifient l'utilisation par les industriels du sucre inverti à la place du saccharose, au cours de la fabrication du chocolat.

2. LE CHOCOLAT ALLEGE EN SACCHAROSE

Certaines enseignes de l'industrie alimentaire commercialisent un chocolat allégé en saccharose qui présente un intérêt pour le régime alimentaire de certains malades.
Dans ce type de produit, le saccharose est remplacé par un édulcorant artificiel. L'édulcorant utilisé par l'entreprise est l'aspartame.
Un contrôle qualité est réalisé sur une gamme de tablettes de chocolat allégé.
Des informations sur la molécule d'aspartame sont fournies en annexe 6 et un extrait de la notice du coffret de dosage de l'aspartame est donné en annexe 7.

2.1. Edulcorant : l'aspartame

L'Aspartame est un dipeptide composé dans l'ordre de l'acide aminé L-aspartique et de l'acide aminé L-phénylalanine méthylé sur son extrémité carboxylique.

2.1.1. Ecrire l'acide L-aspartique en représentation linéaire de Fisher.

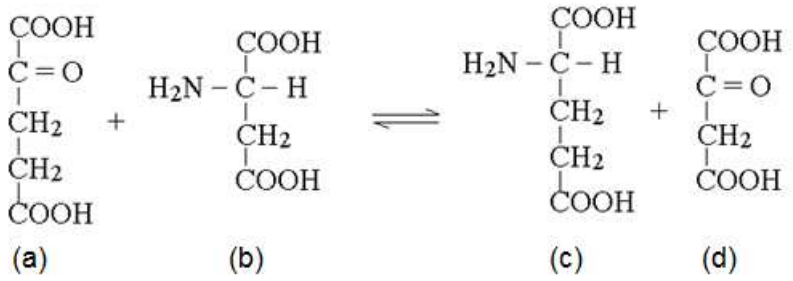
2.1.2. Ecrire la formule chimique semi-développée de l'aspartame. Nommer la liaison qui unit les deux acides aminés et l'indiquer sur la formule.

Reproduction des sujets d'examens de l'enseignement professionnel

2.2. Dosage de l'aspartame

La fiche technique du dosage enzymatique de l'aspartame est donnée dans l'annexe 7.

2.2.1. Lors du dosage, la réaction 3 est catalysée par une transaminase (GOT : glutamate-oxaloacétate transaminase ou ASAT : aspartate-amino transférase). Elle est détaillée ci-dessous :



Identifier, en le justifiant, le(s) α-cétoacide(s) et le(s) acide(s) aminé(s). Nommer le composé (d).
Ecrire l'équation générale d'une réaction de transamination.
En déduire la classe enzymatique des transaminases.

2.2.2. Justifier le choix de la longueur d'onde et l'évolution de l'absorbance observée pour l'essai.

2.2.3. L'annexe 7 précise la limite de détection et la zone de linéarité du coffret de dosage de l'aspartame. Expliquer ces termes.

2.2.4. La relation permettant le calcul de la concentration massique en aspartame de l'échantillon testé en g.L^{-1} est : $\rho_{(Aspartame;\,échantillon)} = 0{,}1425 \times \Delta A$. Retrouver le facteur 0,1425. Calculer la concentration massique en aspartame dans l'échantillon.

Donnée : $\Delta A = (A1\ essai - A2\ essai) - (A1\ témoin - A2\ témoin)$

2.2.5. L'échantillon testé a été préparé par pesée exacte d'une masse m = 1,00 g de chocolat, dissoute dans une fiole jaugée de 100 mL et complétée au trait de jauge. Calculer la teneur en aspartame d'une tablette de chocolat, en g d'aspartame pour 100 g de chocolat.

2.2.6. La dose journalière admissible (DJA) préconisée par l'EFSA (Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire) est de 40 mg d'aspartame par kg de masse corporelle. Calculer le nombre maximal de tablettes de chocolat pouvant être consommées sans risque par une femme de 55 kg.

3. LES MATIÈRES GRASSES DU CHOCOLAT

Le beurre de cacao est la matière grasse végétale principale entrant dans la composition du chocolat. La composition en acides gras du beurre de cacao est précisée en annexe 8.

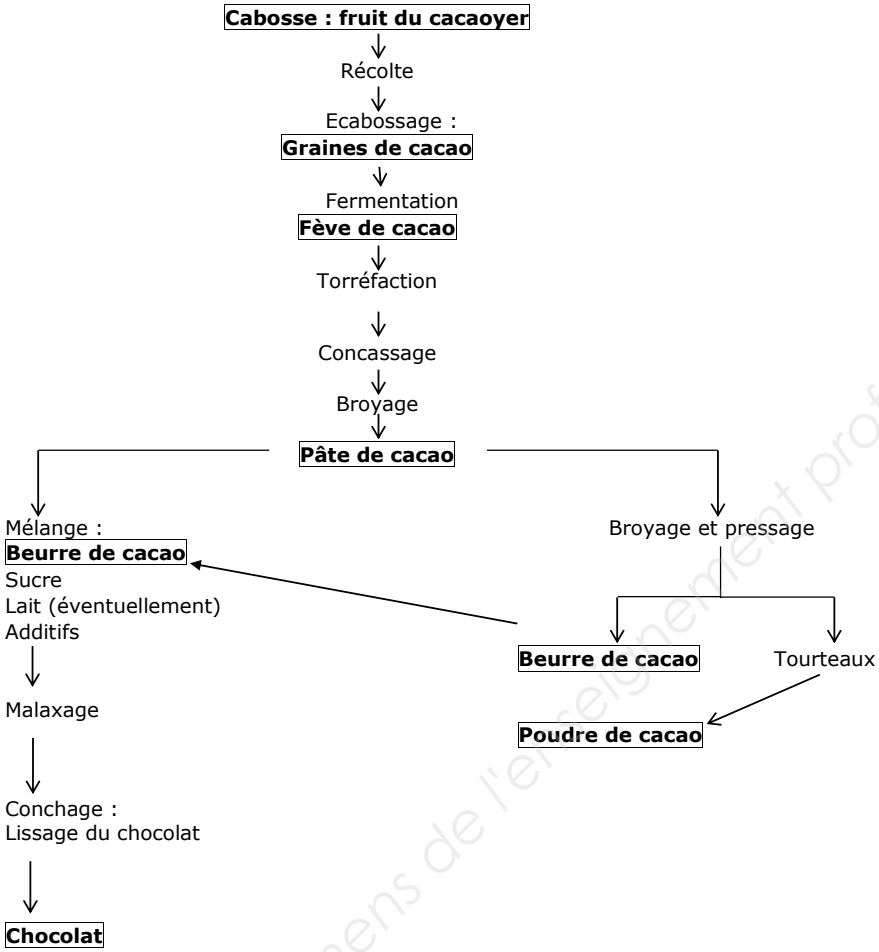
3.1. Donner les formules semi-développées de l'acide palmitique et de l'acide oléique.

3.2. Commenter l'évolution de la température de fusion des acides gras en fonction du nombre d'insaturation et justifier la température de fusion du chocolat.

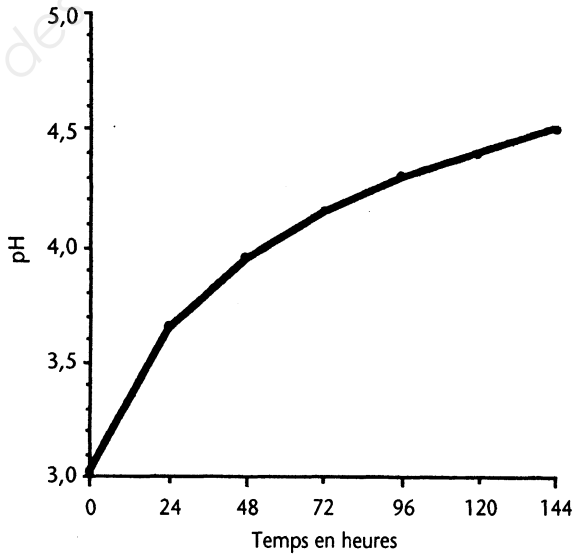
3.3. La législation européenne autorise l'ajout, dans le chocolat, de 5 % de matière grasse végétale hydrogénée autre que le beurre de cacao. Expliquer la modification biochimique de l'hydrogénation des matières grasses végétales. Citer un avantage lié à l'ajout de matière grasse végétale hydrogénée dans la fabrication du chocolat.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

ANNEXE 1 : DIAGRAMME DE FABRICATION DU CHOCOLAT



ANNEXE 2 : ÉVOLUTION DU pH DE LA PULPE AU COURS DE LA FERMENTATION DU CACAO



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

ANNEXE 3 : MODE OPERATOIRE POUR LE DENOMBREMENT DES BACTERIES PAR CULTURE EN SURFACE

Une suspension mère est préparée par broyage de 25 grammes de fèves de cacao dans 225 mL d'eau peptonnée tamponnée. A partir de cette suspension mère (dilution 10^{-1}), des dilutions décimales sont ensuite effectuées et ensemencées en surface de la gélose de dénombrement, à raison de 0,1 mL.

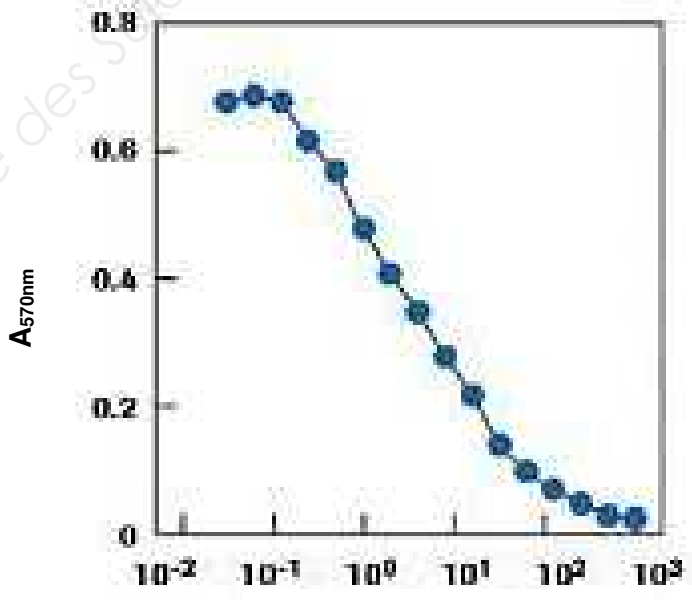
ANNEXE 4 : ÉVALUATION DE LA PROLIFERATION CELLULAIRE PAR LE TEST AU MTT

Présentation :
Méthode : colorimétrie en microplaques
Utilisation : Evaluation de la viabilité cellulaire, de la prolifération, de la cytotoxicité
Echantillons : cellules en cultures adhérentes ou en suspension
Principe : incubation des cellules avec du MTT (bromure de (3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-diphényltétrazolium) suivie d'une solubilisation de produit coloré et de sa mesure spectrophotométrique
Durée : 5 à 28 heures

Contenu du coffret de dosage : MTT et solution de solubilisation

Principe et technique :
Le coffret permet de mesurer l'activité métabolique des cellules viables. Le test est basé sur l'utilisation de substances non radioactives et peut être réalisé en microplaques.
Le principe du test repose sur la réduction du sel de tétrazolium MTT par les cellules viables. La réaction produit un sel de formazan bleu insoluble dans l'eau qui doit être solubilisé avant mesure.
La technique nécessite de cultiver les cellules en microplaques puis de les incuber en présence d'une solution de MTT pendant environ 4 heures.
Pendant la période d'incubation, les cellules viables transforment le MTT en un colorant insoluble le formazan. Celui-ci doit être solubilisé dans la microplaque avant d'être mesuré à l'aide d'un lecteur de microplaque.
L'absorbance à 570 nm mesurée est directement proportionnelle au nombre de cellules viables.

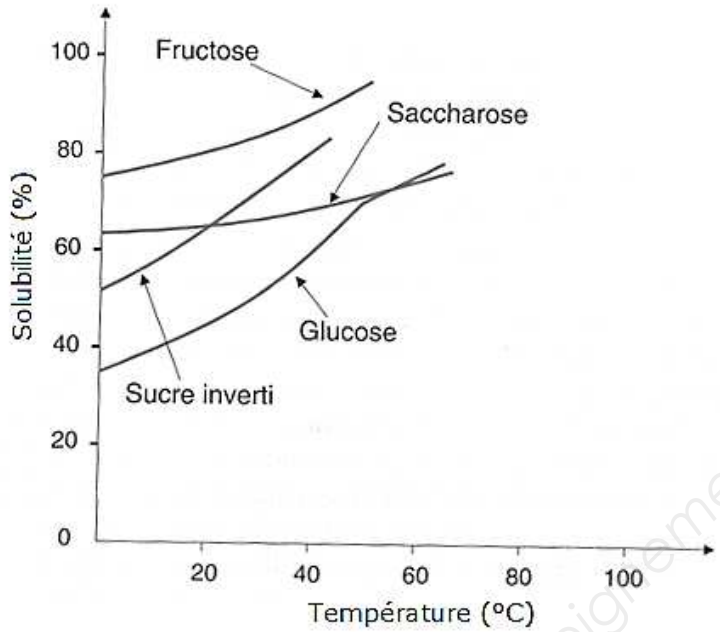
Détermination de l'activité cytotoxique de l'OTA sur les cellules CHO-K1, résultats :



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

ANNEXE 5 : CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE QUELQUES GLUCIDES

<u>Document 1</u> : Solubilité de glucides en fonction de la température

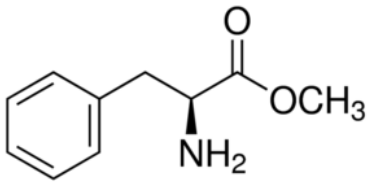


<u>Document 2</u> : Pouvoir sucrant de glucides

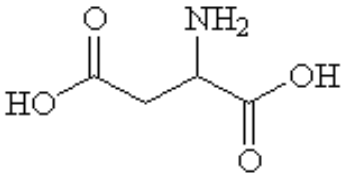
	Pouvoir sucrant relatif
Saccharose	**1,0 (référence)**
Fructose	**1,3**
Glucose	**0,7**
Maltose	**0,5**
Lactose	**0,3**

ANNEXE 6 : L'ASPARTAME

Formules chimiques développées des constituants de l'aspartame



L-Phénylalanine méthylée



Acide L-Aspartique

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

ANNEXE 7 : DOSAGE ENZYMATIQUE DE L'ASPARTAME

Document extrait de la notice Megazyme

Réactions de dosage de l'aspartame :

La détection de l'aspartame nécessite un **traitement préalable** de l'échantillon à pH basique afin d'hydrolyser la liaison O-méthyle (1) :

(1) Asp-Phe-O-Me + H_2O ⟶ Asp-Phe + Méthanol

Ce traitement entraîne une dilution de l'échantillon au 4/5ème.

Après hydrolyse du groupement méthyle, l'acide aspartique est hydrolysé par une dipeptidase (Pep M) selon la réaction (2) :

(2) Asp-Phe ⟶ L-Aspartique +L-Phenylalanine

L'acide L-aspartique est transformé en oxaloacétate et L-glutamate en présence de 2-oxoglutarate et de la glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT), réaction (3) :

(3) L-Aspartate + 2-oxoglutarate ⟶ L-glutamate + Oxaloacétate

Enfin, l'oxaloacétate est converti en malate par la malate déshydrogénase (L-MDH), en présence de $NADH,H^+$ (4) :

(4) Oxaloacétate + NADH + H^+ ⟶ L-malate + NAD^+

Composition du kit :

Réactif 1 :	Tampon, pH 8,0 ; 2-oxoglutarate
Réactif 2 :	$NADH,H^+$
Réactif 3 :	L-MDH, GOT
Réactif 4 :	Pep M

Protocole de dosage :

Réactifs	**Témoin**	**Essai**
Eau désionisée (25 °C)	2,00 mL	1,00 mL
Echantillon traitée	-	1,00 mL
Réactif 1	0,20 mL	0,20 mL
Réactif 2	0,20 mL	0,20 mL
Réactif 3	0,02 mL	0,02 mL
Mélanger. Lire l'absorbance (A_1) à 340 nm au bout de 4 minutes environ. Déclencher la réaction par ajout :		
Réactif 4	0,02 mL	0,02 mL
Mélanger. Lire l'absorbance (A_2) à 340 nm au bout de 5 minutes environ		

La zone de linéarité est comprise entre 10 et 150 µg d'aspartame par essai.
La limite de détection est de 1,14 µg.

Les résultats des mesures effectuées sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	Témoin	**Essai**
A1	0,685	0,687
A2	0,683	0,400

Données :
Masse molaire de l'aspartame = 294,31 $g.mol^{-1}$
Coefficient d'absorbance linéique molaire du NADH à 340 nm = 6300 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$
Largeur de la cuve l = 1 cm

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

ANNEXE 8 : LES ACIDES GRAS DU CHOCOLAT

Composition et température de fusion des acides gras des lipides du chocolat

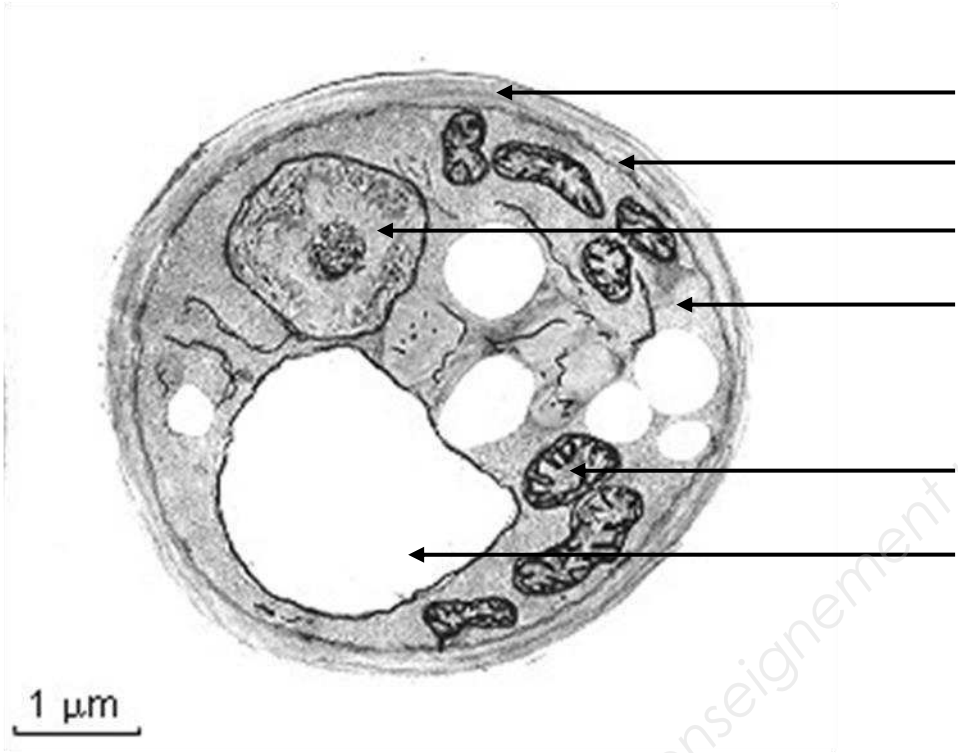
Acides gras	Composition en %	Température de fusion en °C
Acide palmitique C16 : 0	26	63
Acide stéarique C18 : 0	34	70
Acide oléique C18 : 1 (n-9)	34	13
Acide linoléique C18 : 2 (n-6)	6	-12

Donnée : la température de fusion du chocolat est voisine de 34 °C.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

ANNEXES A COMPLETER ET A REMETTRE AVEC LA COPIE

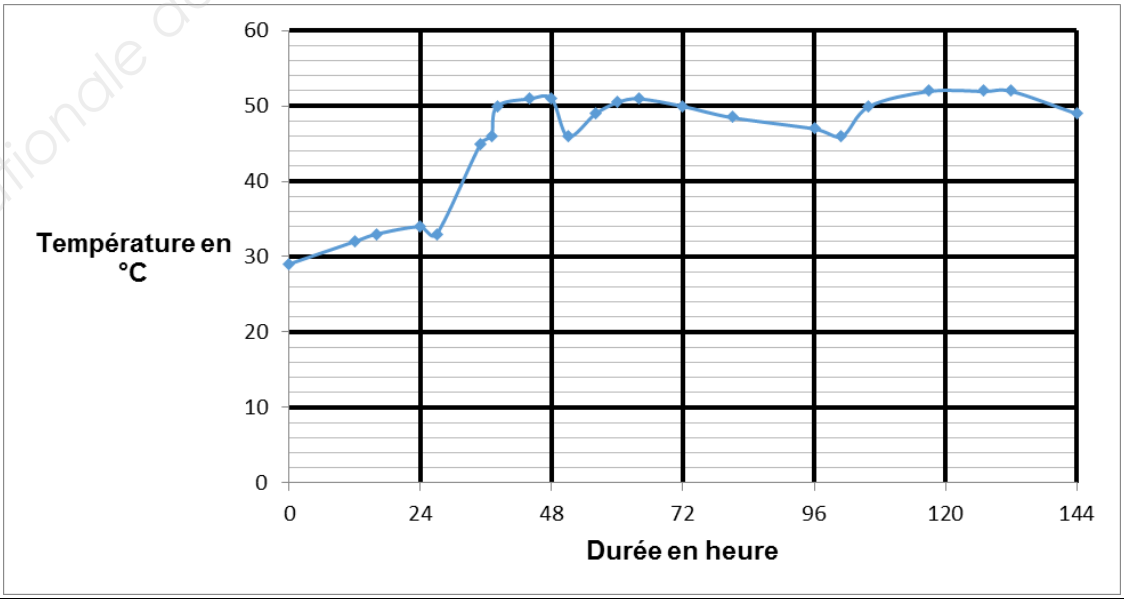
ANNEXE A : MICROGRAPHIE ELECTRONIQUE DE LEVURE



ANNEXE B : COMPARAISON RESPIRATION ET FERMENTATION ALCOOLIQUE

	RESPIRATION	FERMENTATION
Devenir du pyruvate		
Atmosphère		
Localisation cellulaire		

ANNEXE C : ETAPES DE LA FERMENTATION LIEES A L'AERATION
EVOLUTION DE LA TEMPERATURE EN FONCTION DU TEMPS



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.