



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 en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :

www.formav.co/explorer

CORRIGE

Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.

LA β -FRUCTO FURANOSIDASE : APPLICATION À LA PRODUCTION DE PRÉBIOTIQUES

1 - Activités enzymatiques de la β -fructofuranosidase (FFax) (27,5 points)

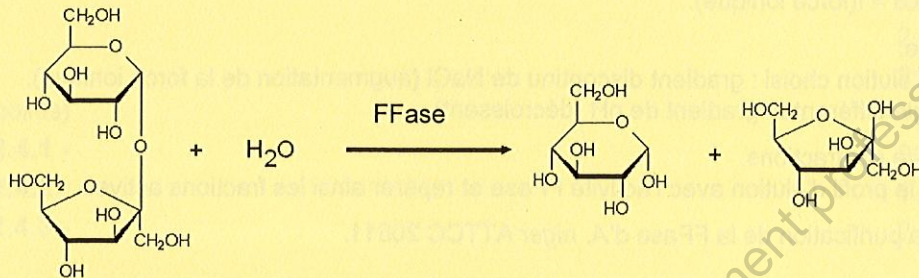
1.1 - L'activité fructofuranosidase (FA) de la FFase (7 points)

1.1.1 - Quelle est la classe enzymatique de la FFase ?

→ Hydrolase.

1.1.2 - Écrire la réaction enzymatique catalysée par la FFase lorsque le substrat est du saccharose (formules exigées en représentation de Haworth).

→ Saccharose + H_2O → Glucose + Fructose (4 points : 1 point pour la réaction d'hydrolyse et 1 point pour chaque formule en représentation de Haworth).



1.1.3 - Pourquoi est-elle appelée également invertase ?

→ Le mélange glucose+ fructose est appelé « sucre inversé » car il présente un pouvoir rotatoire spécifique global négatif (de -20°) alors que le saccharose a un pouvoir rotatoire spécifique positif (de $+66^\circ$) ou inversion du pouvoir rotatoire spécifique.

1.2 - Dépistage de la FFase dans les cultures de moisissures (10,5 points)

1.2.1 - Compléter les réactions biochimiques mises en jeu lors de la détection du glucose.

→ Composé A = acide gluconique.

→ Composé B = H_2O_2 .

→ Composé C = chromophore (= quinonéimine, qui est un produit rose).

1.2.2 - R° indicatrices et principales.

→ Noms des réactions :

- réaction 1 = réaction principale + justification ;
- réaction 2 = réaction indicatrice + justification.

1.2.3 - Conditions opératoires généralement respectées.

→ pH (proche du pH optimal), force ionique choisie et optimale.

→ Température (proche de la température optimale) choisie.

→ Temps.

→ Concentration en substrats saturantes (obtention de V_{max}).

1.2.4 -

1.2.4.1 -

→ Vérification de l'absence de réaction non spécifique.

→ Validation de résultats expérimentaux.

→ Résultat attendu : aucun changement de couleur du milieu de culture.

1.2.4.2 - Expliquer la présence d'un halo violet lors d'une réaction positive.

→ Dans le gel, il y a présence d'un chromophore bleu (formé par la FDH) et le chromophore rose (quinonéimine) formé le système GOD-POD : le halo est donc violet globalement.

1.2.4.3 - Analyse document 1.

→ Celles qui entraînent la formation d'un halo violet le plus large possible ; exemple de *A. niger* ATCC 20611 ici.

1.3 - L'activité fructosyl-transférase (FTA) de la FFase : test enzymatique (10 points)

1.3.1 - → Le 1-kestose = glucose-fructose-fructose.

→ Formation en deux étapes :

- saccharose + H_2O → Glucose + fructose ;
- saccharose + fructose → 1-kestose + H_2O .

1.3.2 - → Injection de 5 étalons (Glucose, saccharose = sucrose, GF2, GF3, GF4).

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES - Éléments de corrigé		Session 2012
Nom de l'épreuve : Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT/Bis	Page : 1/3

1.3.3 - → Détection : réfractométrie.

→ Utilisation ici car les glucides assurent la réfraction de la lumière précisément.

1.3.4 - → Le débit.

→ La phase mobile : % d'acétonitrile/eau.

1.3.5 - → Schéma devant faire figurer : la phase mobile - la pompe - l'injecteur - la colonne et pré-colonne - le détecteur - l'amplificateur de signal - l'intégrateur/enregistreur et la sortie/récupération des déchets. (-0,5 par erreur ou omission).

1.3.6 - → Intérêt HPLC : élution plus rapide ou meilleure séparation (1 seul intérêt attendu).

2 - Purification de la FFase (11,5 points)

2.1 - → Étapes de lyse des cellules, libération du contenu cellulaire.

2.2 - → Solubilité = f(force ionique).

2.3 - → Principe.

→ Type d'élution choisi : gradient discontinu de NaCl (augmentation de la force ionique).

→ Stratégie différente : gradient de pH (décroissant).

2.4 - Test activité sur fractions.

→ établir le profil d'élution avec l'activité FFase et repérer ainsi les fractions actives.

2.5 - Bilan de la purification de la FFase d'*A. niger* ATCC 20611.

2.5.1 -

→ Calculs : (4 types de calculs : AT, AS, R, E).

	Rendement	Enrichissement
Extrait brut	100 %	1
Extrait purifié	$\frac{100 \times (4477 \times 8,6)}{(3400 \times 109)} = 10,4 \%$	$\frac{(4477 \times 8,6 / 13,7)}{(109 \times 3400 / 6770)} = 51,3$

→ Conclusion : il reste environ 10 % de l'enzyme à l'issue de la purification. Celle-ci a toutefois été concentrée d'un facteur 51,3.

2.5.2 -

→ Méthode = SDS-PAGE ou gel-filtration (ou ultracentrifugation).

3 - Application en industrie alimentaire. (21 points)

3.1 - Fabrication de sirops à teneur élevée en FOS (10 points)

3.1.1 - Analyse tableau.

Commenter les résultats.

→ K_M : représente 1/affinité et V_m représente la rapidité de la catalyse.

→ Meilleure efficacité globale pour le saccharose.

} Justification

3.1.2 -

3.1.2.1 - → Diminution du flux de perméation.

→ Principal inconvénient = colmatage progressif de la membrane de filtration.

3.1.2.2 - → Pression exercée au niveau de la membrane, calculée à l'aide de la pression d'entrée et de la pression de sortie de la membrane.

3.1.2.3 - → La nanofiltration permet de concentrer les FOS : on obtient donc un produit de composition proche du néosucrose P.

Il faut un temps de nanofiltration supérieur à 12 heures pour obtenir le néosucrose P.

3.2 - Émergence d'effecteurs de la β -fructofuranosidase (11 points)

3.2.1 - → Dénaturation de l'enzyme + explication.

3.2.2 - → Effet : inhibiteur compétitif.

→ Justification : même V_m quand la concentration de substrat est saturante mais K_m variable : $1/K_m$ diminue donc K_m augmente quand $[Fru-S-ME]$ augmente : diminution de l'affinité. Fru-S-ME prend la place du saccharose dans le site de fixation.

3.2.3 - → Rappel : $K_{Mapparent} = K_M (1 + [I]/K_i)$ soit $K_i = K_M \times [I] / (K'_M - K_M)$.

→ Application numérique : $K_i = (1/0,03333) \times 25 / ((1/0,00647) - (1/0,03333)) \approx 6,02 \text{ mmol/L}$.

3.2.4 - → Possibilité d'utiliser ce Fru-S-ME comme ligand dans une chromatographie d'affinité pour purifier la FFase. Cette technique, plus spécifique, permettrait de diminuer le nombre d'étapes de purification, d'augmenter le rendement et l'enrichissement.

LA β -FRUCTO FURANOSIDASE :

APPLICATION À LA PRODUCTION DE PRÉBIOTIQUES

1 - Activités enzymatiques de la β -fructofuranosidase (FFax) (27,5 points)

1.1 - (7 points)

- 1.1.1 - 1 point
- 1.1.2 - 4 points
- 1.1.3 - 2 points

1.2 - (10,5 points)

- 1.2.1 - 1,5 point
- 1.2.2 - 2 points
- 1.2.3 - 2 points
- 1.2.4 - (5 points)
 - 1.2.4.1 - 2 points
 - 1.2.4.2 - 1 point
 - 1.2.4.3 - 2 points

1.3 - (10 points)

- 1.3.1 - 2 points
- 1.3.2 - 1 point
- 1.3.3 - 2 points
- 1.3.4 - 1 point
- 1.3.5 - 3,5 points
- 1.3.6 - 0,5 point

2 - Purification F de la FFase (11,5 points)

- 2.1 - 0,5 point
- 2.2 - 1 point
- 2.3 - 3 points
- 2.4 - 1 point
- 2.5 - (6 points)
 - 2.5.1 - 5 points
 - 2.5.2 - 1 point

3 - Application en industrie alimentaire (21 points)

3.1 - (10 points)

- 3.1.1 - 3 points
- 3.1.2 - (7 points)
 - 3.1.2.1 - 2 points
 - 3.1.2.2 - 2 points
 - 3.1.2.3 - 3 points

3.2 - (11 points)

- 3.2.1 - 2 points
- 3.2.2 - 4 points
- 3.2.3 - 3 points
- 3.2.4 - 2 points