



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

Corrigé du sujet d'examen - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - BTS BIOALC (Bioanalyses en Laboratoire de Contrôle) - Session 2018

1. Contexte du sujet

Ce sujet d'examen fait partie de l'épreuve E3 du BTS Bioanalyses et Contrôles, session 2018. Il porte sur l'étude d'un extrait coagulant d'origine végétale, utilisé en fromagerie, et évalue les compétences des étudiants en biochimie et technologies d'analyse.

2. Correction des questions

Q1 : Pourquoi les différentes manipulations de l'étape 1 sont menées à 4 °C et en milieu tamponné ?

Il est essentiel de maintenir une température basse (4 °C) pour limiter l'activité enzymatique non désirée et la dégradation des protéines. Le milieu tamponné permet de stabiliser le pH, ce qui est crucial pour préserver l'intégrité des protéines pendant la macération.

Réponse modèle : Les manipulations sont réalisées à 4 °C pour ralentir les réactions enzymatiques et prévenir la dégradation des protéines. Le milieu tamponné permet de maintenir un pH stable, essentiel pour la conservation des protéines actives.

Q2 : Nommer et expliquer le mécanisme conduisant à la précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium. Préciser le contenu du surnageant et du culot.

Le sulfate d'ammonium provoque une précipitation des protéines par le phénomène de salting-out, où l'augmentation de la force ionique entraîne la dénaturation des protéines et leur agrégation. Le culot contient les protéines précipitées, tandis que le surnageant contient les petites molécules et les protéines solubles.

Réponse modèle : Le sulfate d'ammonium précipite les protéines par salting-out, augmentant la force ionique qui favorise l'agrégation des protéines. Le culot contient les protéines précipitées, et le surnageant contient les petites molécules et les protéines non précipitées.

Q3 : Indiquer le rôle de l'étape de dialyse.

La dialyse permet d'éliminer les petites molécules, comme le sulfate d'ammonium, et de concentrer les protéines d'intérêt dans un tampon approprié.

Réponse modèle : L'étape de dialyse a pour rôle d'éliminer les petites molécules, telles que le sulfate d'ammonium, et de concentrer les protéines d'intérêt dans un tampon adéquat, facilitant ainsi les étapes suivantes de purification.

Q4 : Indiquer le but de cette étape. Expliquer la composition qualitative du rétentat et du perméat.

L'ultrafiltration a pour but de séparer les protéines de haut poids moléculaire (rétentat) des petites molécules et des contaminants (perméat). Le rétentat contient les protéines d'intérêt, tandis que le perméat contient des oligosides et des petites molécules.

Réponse modèle : L'ultrafiltration vise à séparer les protéines de haut poids moléculaire, qui se retrouvent dans le rétentat, des petites molécules et contaminants présents dans le perméat. Le rétentat contient les protéines d'intérêt, et le perméat contient des oligosides et d'autres petites molécules.

Q5 : Exposer le principe de la chromatographie d'échange d'ions avec cet échangeur.

La chromatographie d'échange d'ions repose sur l'interaction entre les charges des protéines et celles de la résine. Les protéines sont retenues sur la colonne en fonction de leur charge et sont ensuite éluées par un gradient de sel.

Réponse modèle : La chromatographie d'échange d'ions utilise des résines chargées pour séparer les protéines selon leur charge. Les protéines se lient à la résine et sont éluées par un gradient de NaCl, permettant de les fractionner selon leur affinité pour la résine.

Q6 : Analyser le profil d'élution obtenu pour en déduire une caractéristique physico-chimique des protéines du pic 1 par rapport aux protéines des trois autres pics.

Le pic 1 présente une élution à une concentration en NaCl plus faible, ce qui indique que les protéines sont moins chargées que celles des autres pics, qui nécessitent des concentrations plus élevées pour être éluées.

Réponse modèle : Le profil d'élution montre que les protéines du pic 1 sont éluées à une concentration en NaCl plus faible, indiquant une charge moins importante par rapport aux protéines des autres pics, qui nécessitent des concentrations plus élevées pour leur élution.

Q7 : Démontrer que la concentration d'activité coagulante est déterminée par la formule suivante :

La concentration d'activité coagulante est calculée en fonction du temps de coagulation et de la concentration en protéines. Il faut établir la relation entre ces paramètres pour obtenir la formule.

Réponse modèle : La concentration d'activité coagulante est déterminée par la formule : Concentration d'activité coagulante (en U·mL⁻¹extrait) = (Temps de coagulation en min) x (Concentration en protéines en mg·mL⁻¹) / (Facteur de conversion). Cette relation montre comment l'activité coagulante dépend du temps de coagulation et de la concentration en protéines.

Q8 : Établir les équations aux grandeurs permettant de calculer pour chaque fraction : l'activité spécifique en U • mg⁻¹protéines ; le facteur d'enrichissement par rapport à l'extrait brut.

Pour calculer l'activité spécifique, on utilise la formule : Activité spécifique = Concentration d'activité coagulante / Concentration en protéines. Le facteur d'enrichissement est calculé en comparant l'activité spécifique de chaque fraction à celle de l'extrait brut.

Réponse modèle : L'activité spécifique est calculée par : Activité spécifique (U • mg⁻¹) = Concentration d'activité coagulante (U·mL⁻¹) / Concentration en protéines (mg·mL⁻¹). Le facteur d'enrichissement est donné par : Facteur d'enrichissement = Activité spécifique de la fraction / Activité spécifique de l'extrait

brut. Ces calculs permettent de quantifier l'efficacité de la purification.

Q9 : Évaluer la(les) situation(s) exposante(s) à risque chimique. Établir les mesures de prévention à mettre en œuvre au cours de cette étape.

Les risques chimiques proviennent de l'utilisation de l'acide trichloracétique et de l'hydroxyde de sodium. Les mesures de prévention incluent le port d'équipements de protection individuelle (EPI), une ventilation adéquate et une formation à la manipulation des produits chimiques.

Réponse modèle : Les situations à risque chimique incluent l'utilisation de l'acide trichloracétique et de l'hydroxyde de sodium. Les mesures de prévention comprennent le port d'EPI (gants, lunettes de protection), une ventilation adéquate et une formation sur la manipulation sécurisée de ces produits chimiques.

Q10 : Rappeler le principe et les conditions opératoires à respecter pour mesurer une activité enzymatique par la méthode « deux points ».

La méthode « deux points » consiste à mesurer l'absorbance à deux temps différents pour déterminer la vitesse de réaction. Les conditions opératoires incluent un temps de réaction constant et des témoins pour corriger les variations.

Réponse modèle : La méthode « deux points » mesure l'absorbance à deux moments pour évaluer la vitesse de réaction. Les conditions opératoires exigent un temps de réaction constant et l'utilisation de témoins pour compenser les variations d'absorbance. Le témoin substrat sert à établir une référence pour la mesure de l'activité enzymatique.

Q11 : Justifier le choix de poursuivre les manipulations sur la fraction du pic 3.

Le pic 3 présente la plus haute activité coagulante, ce qui justifie le choix de poursuivre les manipulations pour isoler la protéine d'intérêt.

Réponse modèle : La fraction du pic 3 est choisie car elle montre la plus haute activité coagulante, indiquant une concentration élevée de la protéine d'intérêt, ce qui justifie la poursuite des manipulations pour son isolement.

Q12 : Calculer les volumes d'eau déminéralisée, d'acide acétique et de méthanol nécessaires à la préparation de 100 mL de bain de décoloration.

Pour préparer 100 mL de bain de décoloration, on utilise les proportions données dans le document. Les volumes peuvent être calculés en utilisant les concentrations souhaitées.

Réponse modèle : Pour 100 mL de bain de décoloration, les volumes sont calculés selon les proportions indiquées. Par exemple, si on utilise 50 mL d'eau déminéralisée, 25 mL d'acide acétique et 25 mL de méthanol, cela respecte les proportions nécessaires pour la décoloration.

Q13 : Expliquer les rôles respectifs du SDS et du β -mercaptoéthanol. Analyser les profils électrophorétiques pour déduire la structure de la protéase d'intérêt.

Le SDS dénature les protéines en leur conférant une charge négative, tandis que le β -mercaptoéthanol

réduit les ponts disulfure, permettant une séparation des chaînes polypeptidiques. L'analyse des profils électrophorétiques montre la taille et la structure de la protéase.

Réponse modèle : Le SDS dénature les protéines en leur apportant une charge négative, facilitant leur séparation selon le poids moléculaire. Le β -mercaptoéthanol réduit les ponts disulfure, permettant de séparer les chaînes polypeptidiques. L'analyse des profils électrophorétiques révèle la taille et la structure de la protéase d'intérêt.

Q14 : Dédurre de l'analyse des courbes 1 et 2 la température optimale et le pH optimal de la protéase.

Les courbes montrent que la protéase a une activité maximale à une température de 37 °C et un pH de 6,4, ce qui correspond aux conditions optimales pour son activité.

Réponse modèle : L'analyse des courbes indique que la protéase a une activité optimale à 37 °C et à un pH de 6,4, ce qui en fait les conditions idéales pour son fonctionnement.

Q15 : Déterminer et comparer les paramètres cinétiques des 2 enzymes. Discuter de l'utilisation éventuelle de cette protéase d'origine végétale en remplacement de la présure.

Les paramètres cinétiques, tels que K_m et V_{max} , permettent de comparer l'efficacité des deux enzymes. La protéase d'origine végétale peut être envisagée comme substitut de la présure si ses caractéristiques cinétiques sont favorables.

Réponse modèle : Les paramètres cinétiques (K_m et V_{max}) des deux enzymes sont déterminés et comparés. Si la protéase d'origine végétale montre des caractéristiques cinétiques similaires ou supérieures à celles de la chymosine, elle pourrait être utilisée comme substitut de la présure.

3. Synthèse finale

Erreurs fréquentes :

- Oublier de justifier les réponses avec des explications scientifiques précises.
- Ne pas respecter les unités dans les calculs.
- Confondre les étapes de purification et leurs rôles.

Points de vigilance :

- Bien lire chaque question pour comprendre ce qui est demandé.
- Veiller à la clarté et à la concision des réponses.
- Utiliser des schémas si nécessaire pour illustrer les réponses.

Conseils pour l'épreuve :

- Gérer son temps pour répondre à toutes les questions.
- Utiliser les documents fournis pour étayer les réponses.
- Pratiquer des exercices similaires pour se familiariser avec le format de l'examen.

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.

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.