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

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES

ÉPREUVE E3 – UNITÉ U31
BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2013

_____

Durée : 3 heures
Coefficient : 3

_____

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, 16/11/1999)

Document à rendre et à agrafer avec la copie :

- Document 2 ..... page 6/9

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 9 pages, numérotées de 1/9 à 9/9.

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

LES MICROALGUES : UNE SOURCE D'ACIDES GRAS POLYINSATURÉS (A.G.P.I.)

Les microalgues sont des organismes photosynthétiques unicellulaires que l'on trouve dans les eaux douces et marines et qui entrent dans la composition du phytoplancton.

Certaines microalgues sont particulièrement intéressantes puisque leurs lipides sont riches en acides gras polyinsaturés d'intérêt des séries oméga 3 (par exemple l'acide docosahexaénoïque ; $C_{22:6}$ ω 3 ou D.H.A.) et oméga 6 (par exemple l'acide arachidonique ; $C_{20:4}$ ω 6).

Ces acides gras polyinsaturés sont particulièrement importants pour le développement du cerveau et en tant que précurseurs de messagers biologiques comme les prostaglandines.

Les AGPI sont extraits aujourd'hui essentiellement à partir d'huile de po isson, ce qui présente des problèmes organoleptiques et d'approvisionnement selon la saison de pêche.
Les microalgues fournissent donc une alternative intéressante pour la fourniture de ces acides gras polyinsaturés. Cultivées en bioréacteurs, leur approvisionnement est constant et les extraits lipidiques ne présentent pas d'odeur désagréable.

Aujourd'hui des microalgues, comme *Odontella aurita*, sont même commercialisées, sous forme de gélules, en tant que complément alimentaire du fait de leur richesse en oméga 3.

1 - Origine et aspects structuraux des acides gras polyinsaturés (5 points)

La biosynthèse des acides gras polyinsaturés se déroule selon le schéma donné dans le **document 1**.

1.1 - Chez les mammifères les acides gras polyinsaturés doivent faire l'objet d'un apport exogène. Justifier à l'aide du **document 1**.
Comment appelle-t-on ce type d'acides gras ?

1.2 - Écrire la formule développée de l'acide palmitique.

1.3 - Chez les végétaux, les désaturases catalysent l'oxydation de l'acide oléique lié à une phosphatidylcholine pour produire les AGPI.
Donner la formule développée d'une phosphatidylcholine contenant un acide gras $C_{18:0}$ en position 1 et de l'acide oléique en position 2.

1.4 - Préciser la position des doubles liaisons présentes dans la molécule d'acide arachidonique à l'aide de la nomenclature biochimique conventionnelle.

2 - La biosynthèse des acides gras (24 points)

La biosynthèse des acides gras débute par la formation de malonyl-CoA à partir d'acétyl-CoA puis une série de réactions permet d'allonger la chaîne en incorporant à chaque fois un chaînon dicarboné **(document 2)**.

2.1 - Formation du malonyl-CoA (13 points)

2.1.1 - Compléter la réaction présentée dans le **document 2a**.
Donner les formules développées des groupements acétyl et malonyl.
Préciser le nom de l'enzyme et celui du coenzyme impliqué.

2.1.2 - Chez les vertébrés, l'enzyme qui catalyse la formation du malonyl-CoA est une enzyme allostérique.

2.1.2.1 - Quelles sont les caractéristiques structurales et cinétiques de ce type d'enzyme ?

2.1.2.2 - Le palmitoyl-CoA, considéré comme un produit final de la voie métabolique exerce un **effet feed-back** sur cette enzyme. Expliquer ce type de régulation.

2.1.2.3 - Le citrate est un activateur de cette enzyme.
Représenter l'allure des courbes $V_i = f([substrat])$ en présence et en abs ence de citrate.

2.1.3 - Chez les végétaux, le début de la biosynthèse des acides gras se situe dans le stroma des chloroplastes.
La formation du malonyl-CoA y est régulée par une modification du pH et de la concentration en Mg^{2+}. L'activation de l'enzyme qui catalyse cette formation a lieu lors de la phase lumineuse de la photosynthèse. Montrer que cette activation est due à une augmentation du pH dans le stroma.

Base Nationale des sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

2.2 - Incorporation des chaînons dicarbonés (11 points)

2.2.1 - L'ensemble des réactions permettant l'allongement de la chaîne d'acide gras est catalysé par un complexe multienzymatique.

2.2.1.1 - Nommer ce complexe.

2.2.1.2 - Définir la notion de complexe multienzymatique. Quel est l'intérêt d'une telle organisation ?

2.2.2 - D'après les réactions des **documents 2a et 2b**, établir le bilan de la biosynthèse de l'acide palmitique à partir de l'acétyl-CoA.

2.2.3 - La biosynthèse des acides gras nécessite l'apport d'ATP et de pouvoir réducteur sous forme de $NADPH,H^+$.

2.2.3.1 - Comment appelle-t-on un processus qui consomme de l'énergie ?

2.2.3.2 - À partir du **document 3**, écrire l'équation de la réaction d'oxydo-réduction du couple $NADP^+$, $NADPH+H^+$.

2.2.3.3 - Montrer l'intérêt de l a localisation de la biosynthèse des acides gras dans le chloroplaste chez les végétaux.

2.2.3.4 - Chez les vertébrés, citer une origine possible du $NADPH,H^+$.

3 - Étude expérimentale de l'enrichissement en AGPI d'extraits de microalgues (25 points)

La microalgue retenue pour l'étude est *Isochrisis galbana*, du fait de la grande richesse en acide docosahexanoïque ($C_{22:6}$ ω 3 ou D.H.A) de ses phospholipides.

La méthode d'enrichissement retenue est la suivante :

- extraction des lipides totaux
- séparation des différentes classes de lipides
- hydrolyse en présence d'une lipase discriminante contre le DHA
- transméthylation des acides gras polyinsaturés et dosage par chromatographie en phase gazeuse.

3.1 - Extraction des lipides totaux (1 point)

L'extraction des lipides est effectuée selon le protocole donné dans le **document 4**.

Dans quelle phase, méthanolique ou chloroformique, retrouvera-t-on les lipides ? Justifier.

3.2 - Séparation des différentes classes de lipides (4 points)

La séparation des lipides (cholestérol, glycolipides, phospholipides et triglycérides) est réalisée sur une mini colonne de silice non greffée.

Après évaporation du solvant sous un f lux d'azote, l'extrait est repris dans 100 µL de chloroforme et déposé en haut de la colonne après que celle-ci ait été rincée par 5 mL de chloroforme.

L'élution se fait alors en trois étapes :

- récupération d'une fraction 1 par passage de 20 mL de chloroforme.
- récupération d'une fraction 2 par passage de 30 mL d'un mélange chloroforme/méthanol (5V/1V).
- récupération d'une fraction 3 par passage de 20 mL de méthanol.

3.2.1 - Citer le type de chromatographie mise en oeuvre. Justifier.

3.2.2 - Indiquer la composition de chacune des trois fractions récupérées. Justifier la réponse.

3.3 - Hydrolyse en présence d'une lipase discriminante (6 points)

Une lipase discriminante agit **préférentiellement** sur les liaisons engageant des acides gras saturés ou monoinsaturés et très peu sur celles engageant les AGPI à longue chaîne.

3.3.1 - Le **document 5** présente les activités discriminantes de quelques lipases. La lipase F est la plus appropriée pour l'étape d'enrichissement en AGPI. Justifier la réponse.

3.3.2 - À quelle classe d'enzyme appartiennent les lipases ?

Base Nationale des sujets d'examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

3.3.3 - Expliquer le principe de la codification internationale des enzymes définie par la Commission des Enzymes de l'Union Internationale de Biochimie et donner le premier chiffre de ce numéro de code dans le cas des lipases.

3.3.4 - Cette lipase présente une grande spécificité de coupure. Définir les termes spécificité et affinité.

3.4 - <u>Préparation de la solution enzymatique et contrôle de l'activité lipasique</u> (10 points)

3.4.1 - La lipase commerciale est étiquetée à 1,5 μKatal.g^{-1}.

3.4.1.1 - À quelle grandeur correspond la valeur donnée en μKatal.g^{-1} ?

3.4.1.2 - Sachant que la lipase commerciale n'est pas pure, comment évoluerait cette valeur si le pourcentage de pureté augmentait ? Justifier la réponse.

3.4.1.3 - Quelle masse d'enzyme faut-il peser pour préparer 200 mL de solution de lipase à exactement 200 U.L^{-1}.

3.4.2 - La lipase commerciale ayant été stockée quelques mois, on contrôle son activité. Ceci est réalisé grâce au kit enzymatique présenté dans le **document 6a**.

3.4.2.1 - Les mesures d'absorbance ont été réalisées toutes les 20 secondes pendant 4 minutes contre un blanc réactif. Les résultats sont présentés dans le **document 6b**.
Donner la composition du blanc réactif.

3.4.2.2 - La concentration d'activité catalytique de la solution enzymatique est obtenue en multipliant la variation d'absorbance en fonction du temps par un facteur **F** = 199793.

Concentration d'activité catalytique lipasique (U.L^{-1}) = **F** . $\Delta A/\Delta t$

Justifier la valeur de **F**.

3.4.2.3 - Calculer la concentration d'activité catalytique de la solution lipasique. Conclure sur la conservation de l'enzyme sachant que l'écart type en conditions de reproductibilité de la méthode de dosage est de 3 U.L^{-1}.

4 - <u>Étude de la composition en acides gras de l'extrait d'algues par chromatographie en phase gazeuse</u> (10 points)

Après l'étape de coupure enzymatique, les acides gras encore greffés sur les phospholipides sont transméthylés en présence de méthanol en milieu alcalin et à température ambiante, **document 7**. Les acides gras méthylés sont dosés par chromatographie en phase gazeuse.

4.1 - Quel est le double intérêt de la réaction de transméthylation ?

4.2 - Donner un schéma de principe d'un chromatographe en phase gazeuse.

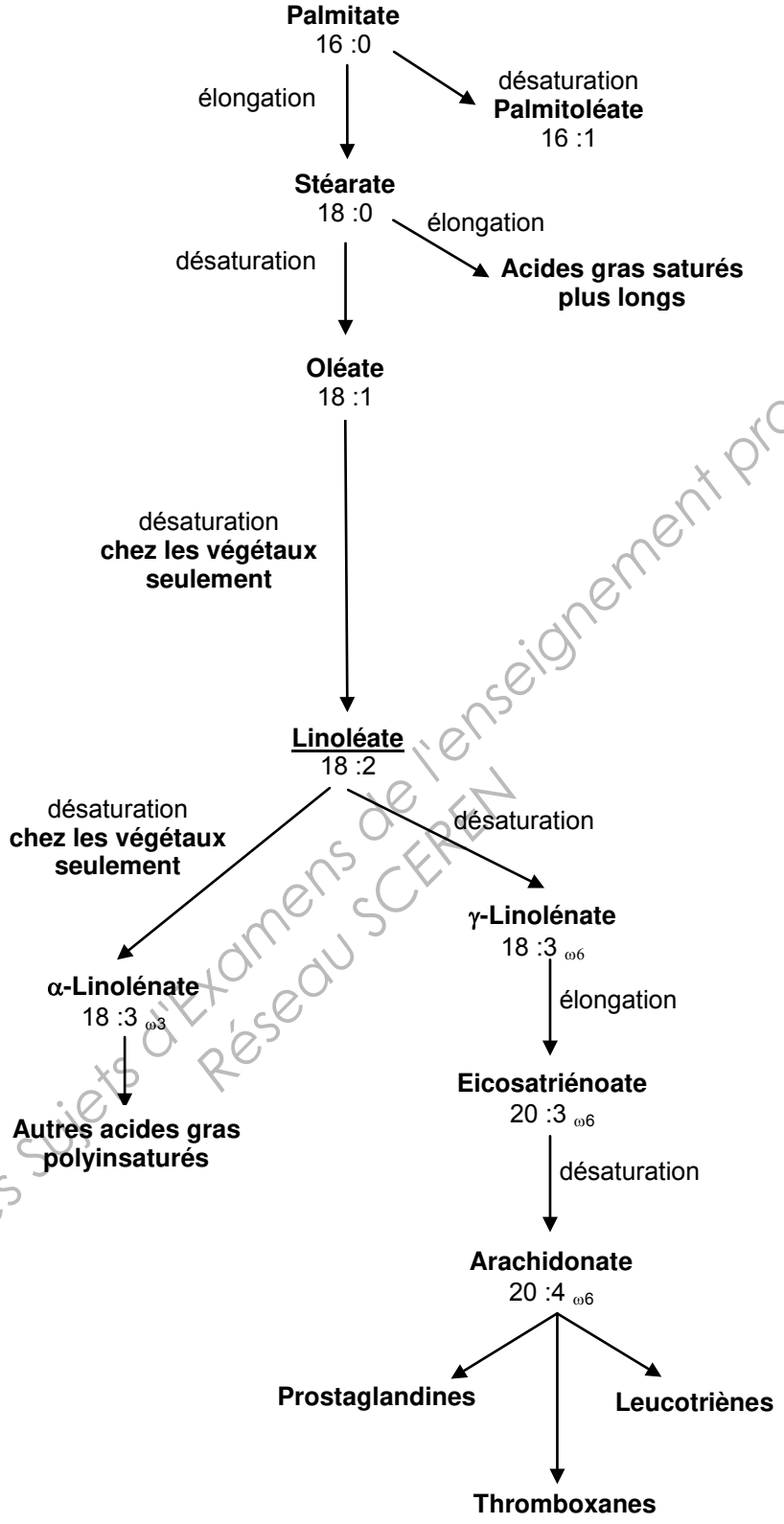
4.3 - Le **document 8** présente le chromatogramme obtenu suite à l'injection de la fraction initiale d'extrait de microalgues.

4.3.1 - Analyser l'ordre de sortie des différents acides gras.

4.3.2 - Quelles modifications pourront être observées sur le chromatogramme de l'extrait après l'étape discriminante ?

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

DOCUMENT 1 :

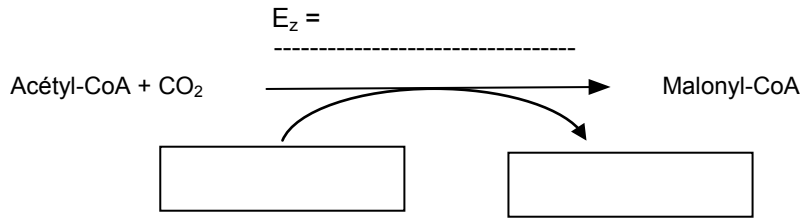


Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

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

DOCUMENT 2 :
(à rendre avec la copie)

DOCUMENT 2a :



DOCUMENT 2b :

- La prise en charge de l'acétyl-CoA et du malonyl-CoA par le complexe multienzymatique se fait par transacétylation sur une protéine centrale du complexe : l'ACP-SH.
- Les étapes de biosynthèse de l'acide gras se déroulent suivant les réactions suivantes :

❖ Acétyl-ACP + Malonyl-ACP $\xrightarrow[\text{synthétase}]{\beta\text{-cétoacyl-ACP}}$ CO_2 + ACP + $CH_3 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - CH_2 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - S - ACP$

β céto-butanoyl-ACP

❖ $CH_3 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - CH_2 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - S - ACP + 2\ NADPH, H^+$ $\xrightarrow{\text{Complexe multienzymatique}}$ $CH_3 - CH_2 - CH_2 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - S - ACP$

Butanoyl ACP + 2 $NADP^+$ + H_2O

❖ Réincorporation de chaînons dicarbonés sous forme de malonyl-ACP jusqu'à l'obtention du palmityl-ACP.

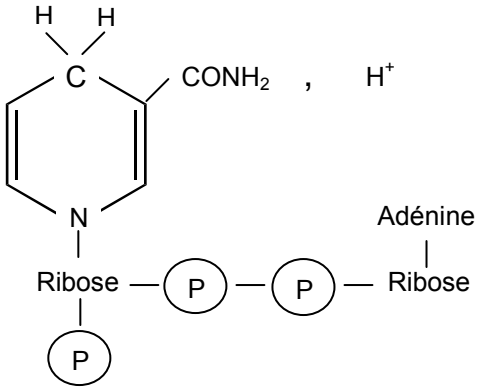
- Lorsque le palmityl-ACP est formé, il est libéré du complexe grâce à une désacylase.

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

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

DOCUMENT 3 :

Formule du NADPH, $H^{\pm}$



DOCUMENT 4 :

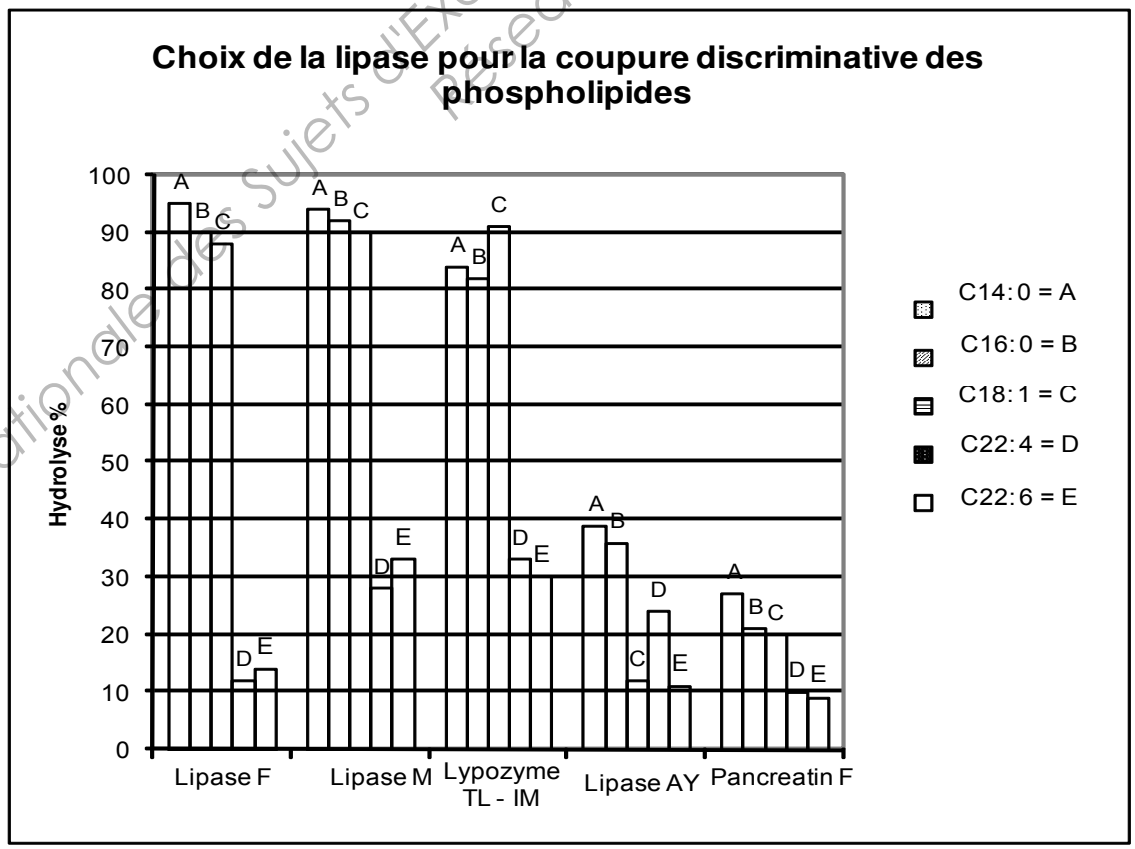
Extraction des lipides d'*Isochrisis galbana*

- Peser 1 g d'algues
- Introduire 200 µL d'eau osmosée
  2 mL de méthanol
  1 mL de chloroforme
- Broyer les cellules avec le pilon
- Introduire 2 mL de chloroforme
- Récupérer la phase inférieure

Répéter l'opération sur quatre autres pesées de 1 g et réunir les fractions lipidiques dans un ballon

- Évaporer le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif.

DOCUMENT 5 :



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

DOCUMENT 6a :

Le substrat chromogène est scindé, en solution alcaline sous l'effet de la lipase en un produit intermédiaire instable qui se décompose spontanément en acide glutarique et méthyl-6-résofurine de coloration rouge.
L'intensité de la coloration développée, directement proportionnelle à l'activité de la lipase, est mesurée par photométrie.

Chromogène $\xrightarrow{\textbf{lipase}}$ intermédiaire instable $\xrightarrow{\text{Décomposition spontanée}}$ chromophore de coloration rouge

Réactifs :
R1 Tampon/colipase/cholate
R2 Emulsion/substrat chromogène/cholate

Protocole opératoire :
Longueur d'onde : 570 nm ou 578 nm
Cuve : 1 cm de trajet optique
Température de mesure : 37°C
Mesure contre un blanc réactif

Introduire dans une cuve :

	Solution réactionnelle
Réactif R1 Echantillon	1,0 mL 0,01 mL
Mélanger et incuber 5 minutes Ajouter le réactif R2 pour déclencher la réaction	
Réactif R2	0,6 mL
Bien mélanger. Après 1 minute, mesurer l'absorbance, contre le blanc réactif, toutes les 20 secondes pendant 4 minutes.	

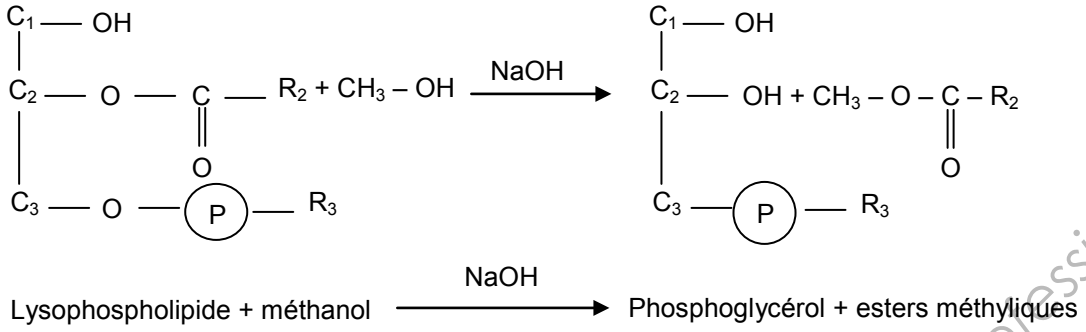
$\varepsilon_{Chromophore570\ nm}$ = 48,35 $mmol^{-1}.L.cm^{-1}$ $\varepsilon_{Chromophore578\ nm}$ = 51,49 $mmol^{-1}.L.cm^{-1}$

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

DOCUMENT 6b : Mesures

Temps (secondes)	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200	220	240
$A_{570\ nm}$	0,000	0,019	0,037	0,057	0,075	0,091	0,113	0,133	0,134	0,140	0,141	0,141	0,147

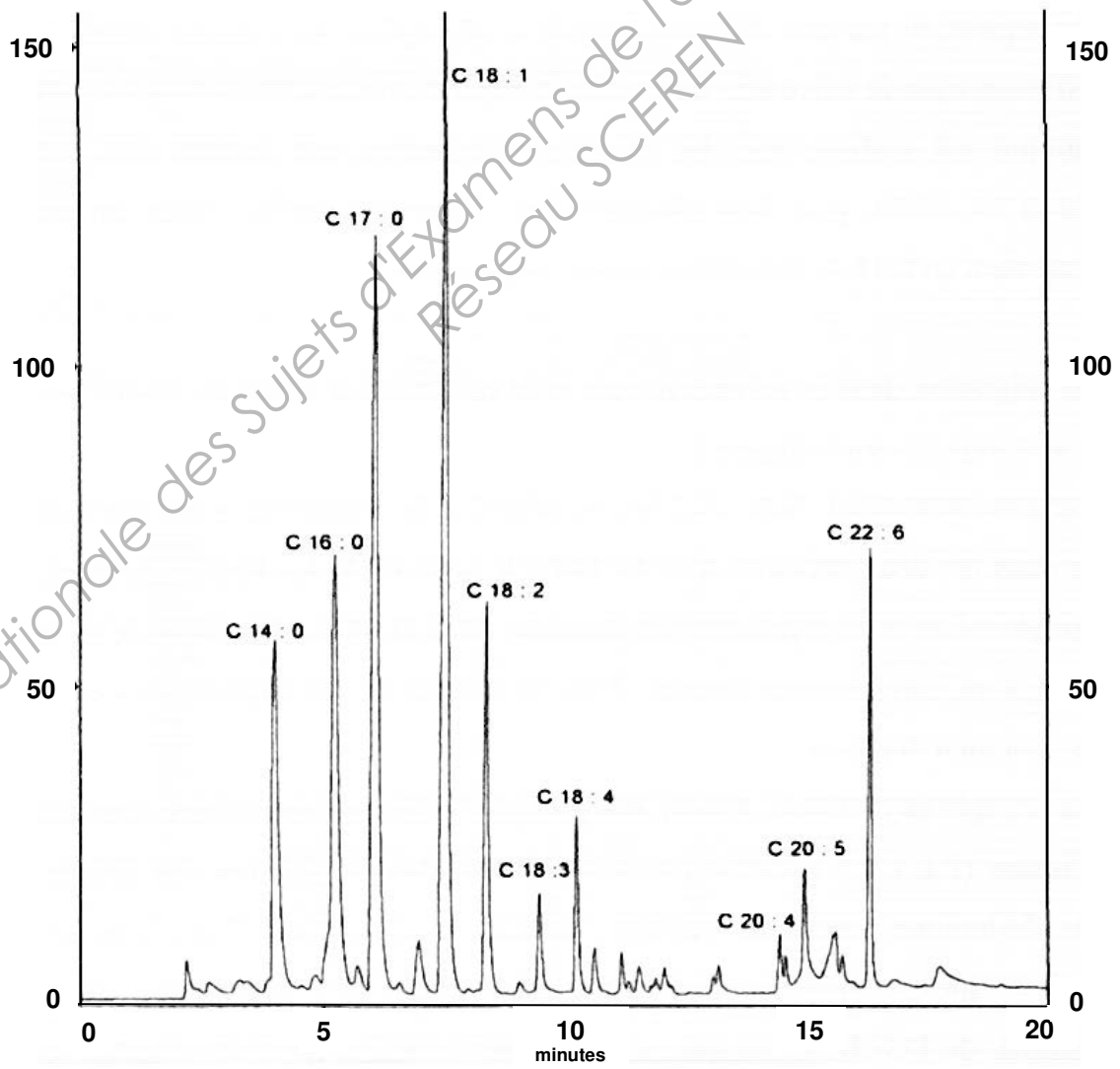
DOCUMENT 7 :



Lysophospholipide + méthanol $\xrightarrow{NaOH}$ Phosphoglycérol + esters méthyliques

DOCUMENT 8 :

Chromatogramme des acides gras des lipides des extraits d'algues avant attaque enzymatique



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

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.