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 :
formav.co/explorer

BTS BIOALC • CORRIGÉ DÉTAILLÉ

BTS BioAlc

Biochimie et technologies d’analyse

Session 2019 • Code sujet : **BAE3BT** • Durée : **3 heures** • Coefficient : **3**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. Amélioration de l’extraction par hydrolyse enzymatique (6 questions) **Page 3**

2. Purification de la R-phycoérythrine par chromatographie (9 questions) **Page 6**

3. Particularités et intérêt des phycobiliprotéines (3 questions) **Page 10**

4. Ce qu’il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ) (Synthèse & Q&A Examen) **Page 12**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2019/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2019 - 1-Sujet.pdf

1. Amélioration de l’extraction par hydrolyse enzymatique

L’entreprise souhaite extraire la R-phycoérythrine de l’algue rouge Gracilaria gracilis, dont les polyosides de paroi gênent l’extraction aqueuse. Les documents portent sur la composition de l’algue, l’action enzymatique, des contrôles analytiques et la comparaison de durées d’extraction.

Question Q1. Expliquer le calcul des teneurs en matière sèche et en cendres, puis vérifier les valeurs fournies à partir des masses mesurées.

La teneur en matière sèche rapporte la masse après étuvage à la masse fraîche. La teneur en cendres rapporte la masse minérale obtenue après incinération à la masse sèche. Les résultats recalculés avec les masses affichées ne concordent pas exactement avec les valeurs du document.

Teneur	Calcul	Recalcul	Valeur fournie
Matière sèche, sur matière fraîche	0,982 / 5,120 × 100	19,18 %	19,19 %
Cendres, sur matière sèche	0,043 / 0,982 × 100	4,38 %	4,37 %

Les écarts sont faibles, mais les valeurs annoncées ne sont pas celles obtenues avec les masses arrondies présentées.

> ✓ RÉPONSE À RETENIR
>
> Recalcul : matière sèche 19,18 % ; cendres 4,38 %. Valeurs fournies : 19,19 % et 4,37 %.

Question Q2. Pour chaque enzyme testée, cellulase, xylanase et glucanase, indiquer le ou les sites de coupure possibles sur la structure de la cellulose, puis nommer les produits d’hydrolyse. Utiliser la donnée concernant le cellobiose.

Les sites A et D sont aux extrémités de la chaîne ; B et C sont internes. La cellulase commerciale réunit des activités exo et endo, ainsi que des cellobiosidases. La xylanase hydrolyse le xylane, absent du schéma de cellulose : elle n’y a donc pas de site de coupure. Pour le glucane, le produit dépend de l’activité enzymatique précise ; une β-1,4-glucanase peut couper les liaisons représentées.

Enzyme ou activité	Sites et produits
Exo-β-glucosidase	A ou D ; glucose libéré depuis une extrémité
Cellobiosidase	A ou D ; cellobiose libéré depuis une extrémité
Endo-1,4-β-D-glucanase	B ou C ; fragments cellulosiques, notamment cellobiose et oligosaccharides
Xylanase	Aucun site sur la cellulose ; hydrolyse le xylane
Glucanase	Liaisons du glucane ; produits selon sa spécificité

✓ RÉPONSE À RETENIR

Cellulases : coupures terminales A/D ou internes B/C, donnant glucose, cellobiose ou fragments. Xylanase : pas d'action sur la cellulose. Glucanase : hydrolyse le glucane selon sa spécificité.

Question Q3. À partir du spectre d'absorption de la R-phycoérythrine, expliquer pourquoi le rapport A565/A280 permet d'évaluer l'indice de pureté du pigment.

Le spectre de la R-PE présente un maximum d'absorption à 565 nm, caractéristique du pigment. L'absorbance à 280 nm renseigne principalement sur les protéines, notamment grâce à leurs acides aminés aromatiques. Le rapport A_{565}/A_{280} compare donc le signal du pigment à celui des protéines présentes. Une préparation enrichie en R-PE présente un rapport plus élevé ; des protéines contaminantes augmentent l'absorbance à 280 nm et tendent à le diminuer. Cet indice évalue ainsi la pureté relative du pigment, sans constituer à lui seul une mesure absolue de pureté.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le rapport compare l'absorbance caractéristique du pigment à celle des protéines : plus il est élevé, plus la préparation est enrichie en R-PE.

Question Q4. Exploiter les résultats du dosage de Bradford et du contrôle d'exactitude, puis conclure sur la validation de la méthode.

Les absorbances des étalons augmentent régulièrement avec leur concentration, ce qui permet d'interpoler la concentration du contrôle. Entre 4 mg·L⁻¹ (A = 0,223) et 6 mg·L⁻¹ (A = 0,342), l'absorbance 0,330 correspond à environ 5,80 mg·L⁻¹. L'écart à la valeur annoncée de 6,00 mg·L⁻¹ est de 0,20 mg·L⁻¹, inférieur à l'écart maximal toléré de 0,32 mg·L⁻¹. Le contrôle d'exactitude est donc conforme et l'exactitude de la méthode est validée dans les conditions de l'essai.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Contrôle conforme : 5,80 mg·L⁻¹ mesurés, écart de 0,20 mg·L⁻¹, inférieur à l'EMT de 0,32 mg·L⁻¹. Exactitude validée.

Question Q5. Démontrer la formule de calcul de l'activité catalytique spécifique des cellulases, exprimée en U·mg⁻¹ d'enzyme, puis calculer cette activité à partir de la procédure et des résultats fournis.

La correction du témoin donne $\Delta A = 0,122 - 0,023 = 0,099$. Par Beer-Lambert, la concentration de nitrophénol vaut $\Delta A/(\varepsilon l)$. La quantité formée est cette concentration multipliée par le volume final de 2,1 mL, puis l'activité par mg est obtenue en divisant par les 2 h d'incubation et par la masse d'enzyme introduite : $200/100 \times 0,1 = 0,2$ mg. Avec $\varepsilon = 4500$ L·mol⁻¹·cm⁻¹ et $l = 1$ cm, le facteur de conversion vaut $2,1/1,8$. Ainsi, $z_{sp} = \Delta A \times 2,1/1,8$.

✓ RÉPONSE À RETENIR

$z_{sp} = 0,099 \times 2,1/1,8 = 0,116$ U·mg⁻¹ d'enzyme.

Question Q6. Analyser les rendements d'extraction en R-phycoérythrine et les indices de pureté obtenus pour les trois durées testées, puis en déduire la durée optimale de traitement.

Le rendement et l'indice de pureté diminuent avec la durée d'extraction. Les données comparées sont :

Durée	Rendement R-PE	Indice de pureté
20 min	3,21 mg·g⁻¹ MS	0,11
360 min	3,13 mg·g⁻¹ MS	0,10
960 min	2,67 mg·g⁻¹ MS	0,07

Prolonger l'hydrolyse n'améliore donc ni la quantité extraite ni la pureté relative. Parmi les durées testées, le traitement de 20 minutes donne les meilleurs résultats.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Durée optimale testée : 20 min, avec un rendement de 3,21 mg·g⁻¹ MS et un indice de pureté de 0,11.

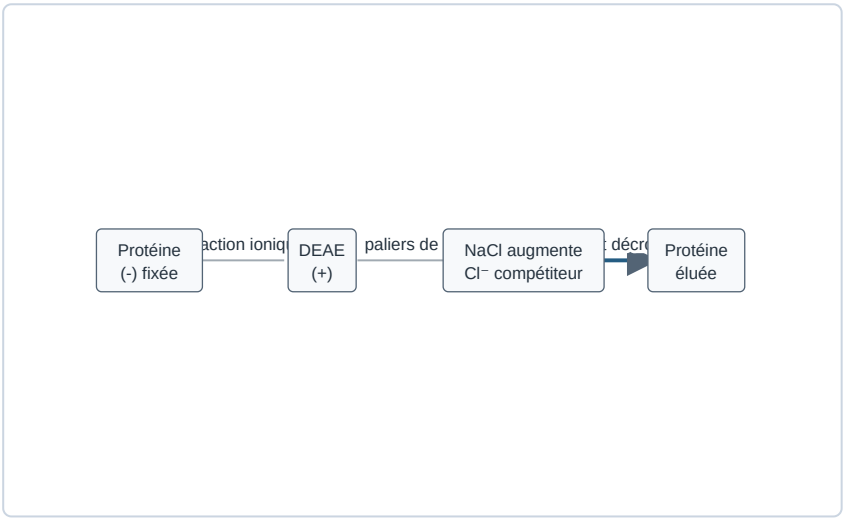
2. Purification de la R-phycoérythrine par chromatographie

L'extrait de R-phycoérythrine n'atteint pas le seuil de pureté attendu et est soumis à une chromatographie échangeuse d'ions en HPLC. Les documents présentent le système, les fractions recueillies, une chromatographie d'exclusion, le contrôle de pureté par PAGE et les risques liés à l'acrylamide.

Question Q7. Expliquer l'intérêt d'un détecteur à barrette de diodes, nommer le mode d'élution choisi et schématiser l'étape d'élution d'une protéine.

La barrette de diodes permet d'enregistrer simultanément plusieurs longueurs d'onde. On suit ainsi la R-PE à 565 nm et les protéines à 280 nm. L'élution est réalisée par paliers de force ionique croissante, de 0 à 150, puis 200 et enfin 1000 mmol·L^{-1} de NaCl. Les ions chlorure entrent en compétition avec les protéines fixées sur l'échangeur d'anions et favorisent leur décrochement.

Élution par paliers sur échangeur d'anions



Principe de l'élution de la protéine par augmentation de la concentration en NaCl.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Détection simultanée à 280 et 565 nm ; élution par paliers de NaCl croissant, qui décroche progressivement les protéines de l'échangeur d'anions.

Question Q8. À partir des résultats de la chromatographie échangeuse d'ions, expliquer pourquoi il est judicieux de poursuivre les analyses sur les trois fractions obtenues.

Le chromatogramme montre des signaux à 565 nm associés à chacune des fractions recueillies. Comme cette longueur d'onde suit la R-PE, le pigment est réparti entre les trois paliers de sel. La comparaison avec le signal à 280 nm permet ensuite d'évaluer la présence d'autres protéines dans chaque fraction. Il est donc utile de conserver les trois fractions pour les analyses de pureté et d'état natif.

Fraction	Palier de NaCl	Analyse à poursuivre
AE-150	150 $mmol \cdot L^{-1}$	Présence de R-PE et protéines associées
AE-200	200 $mmol \cdot L^{-1}$	Pureté et état natif de la R-PE
AE-1000	1000 $mmol \cdot L^{-1}$	R-PE encore retenue et contaminants

✓ RÉPONSE À RETENIR

Les trois fractions présentent un signal associé à la R-PE : il faut comparer leur pureté et leur état natif avant de choisir.

Question Q9. Préciser les éléments du système chromatographique HPLC qui doivent être changés pour réaliser une chromatographie d'exclusion.

1. Remplacer la colonne échangeuse d'anions DEAE-Sepharose par la colonne d'exclusion Superdex 200.
2. Remplacer les conditions d'élution par échange d'ions par une phase mobile adaptée à l'exclusion, de composition constante pendant l'analyse.

La pompe et le détecteur à barrette de diodes peuvent être conservés. La séparation en exclusion dépend de la taille des molécules, et non de leur charge : le gradient de NaCl utilisé sur la colonne DEAE n'est donc plus approprié. Les longueurs d'onde de suivi peuvent rester 280 et 565 nm.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Changer la colonne DEAE pour la Superdex 200 et utiliser une phase mobile d'exclusion à composition constante, sans gradient de NaCl.

Question Q10. Préciser le paramètre de séparation des protéines en chromatographie d'exclusion et justifier que la colonne Superdex 200 est adaptée à la purification de la R-phycoérythrine.

En chromatographie d'exclusion, la séparation dépend du volume hydrodynamique des molécules, donc principalement de leur taille en solution. La fiche de la Superdex 200 indique une gamme de fractionnement de 10 000 à 600 000 Da pour les protéines globulaires. Les deux formes recherchées ou à distinguer, 260 kDa et 60 kDa, sont comprises dans cette gamme : la colonne est donc adaptée à leur séparation.

Forme de R-PE	Masse	Dans la gamme de fractionnement
Native	260 kDa	Oui
Dissociée	60 kDa	Oui

✓ RÉPONSE À RETENIR

La séparation repose sur la taille. La Superdex 200 convient, car les formes de R-PE à 260 kDa et 60 kDa sont dans sa gamme de fractionnement.

Question Q11. Expliquer l'ordre d'élution de la forme native et de la forme dissociée de la R-phycoérythrine, puis donner leurs temps de rétention à partir des résultats.

Les grosses molécules pénètrent moins dans les pores de la matrice et parcourent un trajet plus court : elles éludent avant les petites molécules, qui explorent davantage les pores. Sur le chromatogramme de l'extrait brut, le pic de la forme native à 260 kDa apparaît vers 21 min. Le pic attribué à la forme dissociée, de 60 kDa, apparaît plus tard, vers 27 min. Ces temps sont lus approximativement sur le graphique.

✓ RÉPONSE À RETENIR

La forme native de 260 kDa élue vers 21 min ; la forme dissociée de 60 kDa élue plus tard, vers 27 min.

Question Q12. À partir des résultats de chromatographie d'exclusion des différentes fractions, expliquer pourquoi la fraction AE-200 permet d'obtenir le meilleur résultat.

Dans AE-200, le signal à 565 nm présente un pic marqué vers 21 min, correspondant à la forme native de la R-PE observée dans l'extrait brut. Le signal attribué à la forme dissociée est faible en comparaison. Les profils d'AE-150 et d'AE-1000 montrent des signaux plus complexes ou moins favorables. AE-200 est donc la fraction la plus intéressante pour poursuivre la purification et récupérer la R-PE sous sa forme native.

- Pic de R-PE native nettement visible.
- Faible représentation de la forme dissociée.
- Profil chromatographique plus favorable que ceux des deux autres fractions.

✓ RÉPONSE À RETENIR

AE-200 est la fraction à retenir : elle présente un pic net de R-PE native et peu de signal associé à la forme dissociée.

Question Q13. Expliquer pourquoi l'électrophorèse PAGE non dénaturante ne permet pas de déterminer la masse molaire de la R-phycoérythrine.

La PAGE non dénaturante conserve la structure native des protéines. Leur migration dépend alors de plusieurs propriétés : la masse, la charge électrique et la conformation, qui influencent toutes leur déplacement dans le gel. La position d'une bande ne dépend donc pas uniquement de la masse molaire. Sans dénaturation et sans étalonnage adapté, cette technique ne permet pas de déduire directement la masse de la R-PE.

✓ RÉPONSE À RETENIR

En PAGE native, la migration dépend de la masse, de la charge et de la conformation : elle ne donne pas directement la masse molaire.

Question Q14. Présenter l'intérêt de colorer aussi le gel au bleu de Coomassie en complément de la révélation sous UV, puis conclure sur la pureté de la R-phycoérythrine.

La révélation sous UV à 365 nm met en évidence la R-PE fluorescente, mais ne révèle pas nécessairement les autres protéines. Le bleu de Coomassie colore les protéines présentes dans le gel et permet donc de rechercher d'éventuels contaminants non fluorescents. Le document montre une bande dans chaque révélation, à la position de la R-PE. Ce résultat soutient une forte pureté de la fraction AE-200, sans prouver une pureté absolue.

Révélation	Ce qu'elle révèle	Observation
UV à 365 nm	R-PE fluorescente	Une bande
Bleu de Coomassie	Protéines du gel	Une bande correspondante

✓ RÉPONSE À RETENIR

Une seule bande est observée avec les deux révélations : AE-200 est fortement purifiée, sans que l'absence absolue de contaminants soit démontrée.

Question Q15. Évaluer les risques liés à la fabrication des gels à partir de la fiche de sécurité de l'acrylamide, puis établir les mesures préventives à mettre en œuvre.

L'acrylamide présente des risques d'ingestion ou d'inhalation, d'irritation cutanée et oculaire et d'allergie cutanée. La fiche signale aussi des risques graves liés aux expositions répétées ou prolongées, ainsi que des effets cancérogènes, génotoxiques et suspectés sur la fertilité. La préparation du gel impose donc de limiter l'exposition au produit, notamment sous forme de poussières, fumées ou aérosols.

- Lire les consignes avant manipulation et éviter toute inhalation.
- Porter gants, vêtements de protection et protection des yeux et du visage ; éviter tout contact cutané.
- En cas de contact oculaire ou d'inhalation, appliquer les premiers secours indiqués et solliciter un avis médical selon la fiche.
- Éliminer les déchets contaminés dans la filière prévue pour les déchets chimiques.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Acrylamide : risque chimique majeur, dont des effets cancérogènes et génotoxiques. Éviter l'inhalation et le contact, porter les protections indiquées et gérer les déchets comme déchets chimiques.

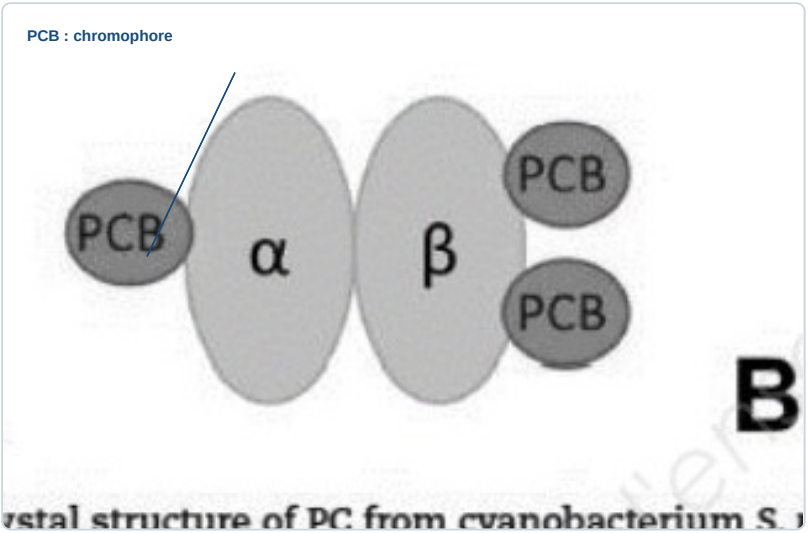
3. Particularités et intérêt des phycobiliprotéines

Cette partie étudie la structure des phycobiliprotéines et leur rôle de collecte de l'énergie lumineuse dans la chaîne photosynthétique des algues rouges. Les documents présentent la structure de la phycocyanine et le fonctionnement de cette chaîne dans un rhodoplaste.

Question Q16. Identifier la structure secondaire majoritaire des phycobiliprotéines, nommer les liaisons qui la stabilisent, puis identifier et localiser la partie de la protéine responsable de sa couleur.

La structure secondaire majoritaire est l'**hélice α**, stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupements C=O et N-H du squelette peptidique. La couleur provient des chromophores **phycobilines**, fixés de façon covalente à des cystéines des sous-unités protéiques. Le document 13 montre la phycocyanobiline (PCB) de la phycocyanine ; la R-phycoérythrine porte notamment des phycoérythrobilines.

Chromophore de la phycocyanine



✓ RÉPONSE À RETENIR

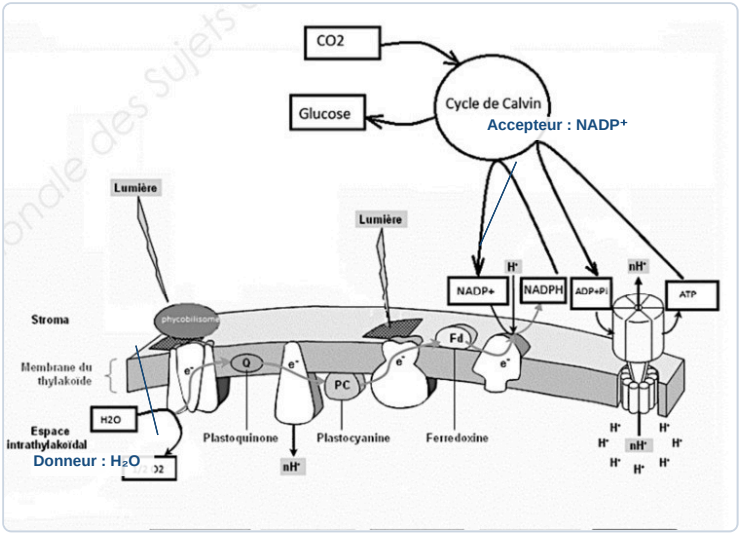
Hélices α stabilisées par des liaisons hydrogène ; couleur due aux phycobilines liées aux sous-unités protéiques.

Question Q17. Repérer le donneur et l'accepteur final d'électrons de la chaîne photosynthétique représentée, puis présenter deux points communs et deux différences entre cette chaîne et la chaîne respiratoire mitochondriale.

Dans la chaîne représentée, l'eau fournit les électrons au photosystème II ; le $NADP^+$ les reçoit en dernier et est réduit en NADPH.

Comparaison	Chaîne photosynthétique et chaîne respiratoire
Points communs	Transport d'électrons par des complexes membranaires ; gradient de protons utilisé par l'ATP-synthase.
Différence 1	La photosynthèse utilise l'énergie lumineuse ; la respiration tire son énergie de l'oxydation des nutriments.
Différence 2	Donneur et accepteur finaux : H_2O et $NADP^+$ en photosynthèse ; NADH/$FADH_2$ et O_2 en respiration.

Donneur et accepteur final d'électrons



✓ **RÉPONSE À RETENIR**

Donneur : H_2O. Accepteur final : $NADP^+$. Points communs : chaîne membranaire et gradient de protons utilisé par l'ATP-synthase.

Question Q18. À partir de l'équation bilan de la photosynthèse et de la variation d'enthalpie libre fournie, conclure sur le rôle de la lumière captée par les pigments des organismes photosynthétiques.

La synthèse de glucose à partir de CO_2 et d'eau présente une variation d'enthalpie libre positive, $\Delta G' = + 2800$ $kJ \cdot mol^{-1}$: elle nécessite un apport d'énergie. Les pigments captent l'énergie lumineuse, qui est convertie en énergie chimique et permet ainsi cette transformation non spontanée. Cette énergie est stockée dans les molécules organiques produites.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

Les pigments convertissent l'énergie lumineuse en énergie chimique, qui permet la photosynthèse et se stocke dans la matière organique.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2019)

Bilan de l'épreuve : Épreuve E3, unité U31, du BTS Bioanalyses et contrôles, session 2019, code BAE3BT, durée 3 heures, coefficient 3. Le sujet porte sur l'optimisation de l'extraction et de la purification de la R-phycoérythrine de Gracilaria gracilis. Il évalue les calculs biochimiques, l'analyse chromatographique, la validation analytique, la sécurité et la compréhension du rôle photosynthétique des phycobiliprotéines.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- La teneur en matière sèche rapporte la masse après étuvage à la masse fraîche; les cendres rapportent la masse minérale à la masse sèche.
- L'indice de pureté de la R-phycoérythrine est A565/A280 : le pigment absorbe à 565 nm et les protéines contribuent notamment à l'absorbance à 280 nm.
- En chromatographie d'exclusion, les grosses molécules pénètrent moins dans les pores et sont généralement éluées avant les petites.
- Les phycobiliprotéines associent une partie protéique à un chromophore, responsable de leur couleur et de l'absorption lumineuse.

Points de vigilance & attentes du jury

- Préciser la base de calcul et les unités pour chaque teneur massique.
- Pour interpréter le contrôle d'exactitude, comparer l'écart à la valeur de référence avec l'EMT fourni.
- Distinguer les signaux à 280 nm et 565 nm lors de l'interprétation des chromatogrammes.
- Relier les dangers de l'acrylamide aux voies d'exposition et aux protections adaptées.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment vérifier une teneur en matière sèche ou en cendres ?

Pour la matière sèche, diviser la masse après étuvage par la masse fraîche, puis multiplier par 100. Pour les cendres, diviser la masse minérale après calcination par la masse sèche, puis multiplier par 100.

Q : Pourquoi suivre la R-phycoérythrine à 565 nm et les protéines à 280 nm ?

La R-phycoérythrine absorbe fortement autour de 565 nm, tandis que les protéines absorbent notamment à 280 nm. La comparaison de ces signaux permet de suivre le pigment et d'apprécier sa pureté relative.

Q : Comment organiser son temps sur cette épreuve de trois heures ?

Repérez d'abord les 18 questions et les documents associés. Réservez du temps aux calculs, aux schémas et aux réponses argumentées, puis gardez quelques minutes pour vérifier les unités, les résultats, la lisibilité et la formulation.

Q : Quels critères de notation sont explicitement annoncés ?

Le sujet répartit 38 points entre cinq compétences et attribue 2 points à l'expression écrite, au soin et à la formulation. Aucun barème détaillé par question ou par partie n'est imprimé.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2019/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2019 - 1-Sujet.pdf
Ressources BTS BioAlc : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

Copyright © 2027 FormaV®. Tous droits réservés.

FormaV® est une marque déposée auprès de l'INPI sous le numéro 5227897.

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.