



*Liberté • Égalité • Fraternité*  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

**Concours d'inspecteur  
de la concurrence, de la consommation  
et de la répression des fraudes  
du 7 janvier 2020**

**Concours externe dominante scientifique**

**ÉPREUVE N° 2 : Option A → Biochimie et Microbiologie**

Résolution de problèmes et/ou cas pratiques

*(Durée 3 heures - coefficient 1)*

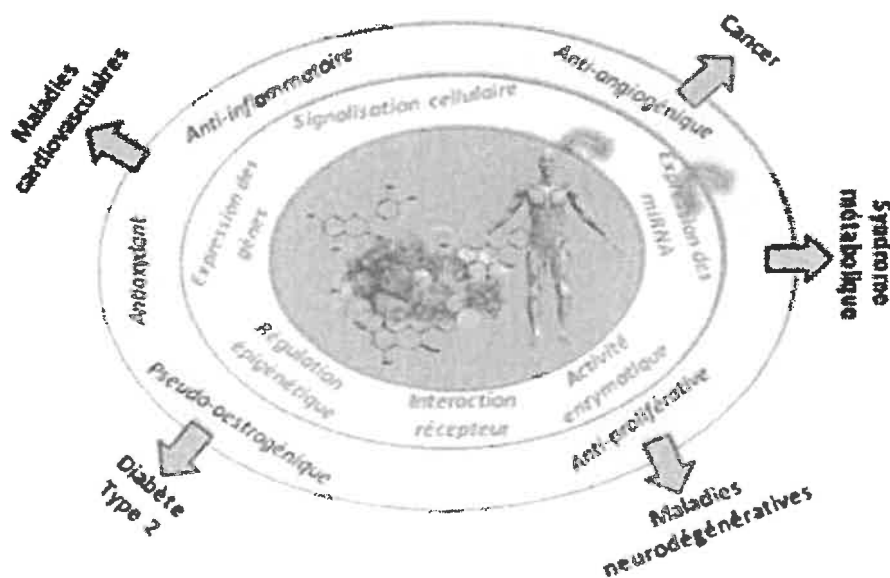
**CALCULATRICE NON PROGRAMMABLE AUTORISÉE**



## L'amande : un fruit aux mille et une vertu.

C'est au Moyen Âge, qu'arrivant en France, l'amande eut son heure de gloire comme ingrédient essentiel dans la cuisine. Les recettes inventées à cette époque font encore partie de notre consommation de confiseries, de pâtisseries et de boissons à base d'amandes (nougat, touron, dragée, calisson, sirop d'orgeat...)

Depuis peu, l'amande revient sur le devant de la scène d'une autre façon car elle est d'une bonne composition nutritionnelle et permet de pallier certaines intolérances alimentaires. Par ailleurs, grâce aux polyphénols qu'elle contient, l'amande est dotée de nombreuses propriétés biologiques (voir ci-dessous) auxquelles on peut encore ajouter, par exemple, les activités antimicrobienne, antithrombotique, immunostimulatrice...



D'après Innovations Agronomiques 42 (2014), 47-62.

### Composition nutritionnelle.

Dans le Document 1, il est fait mention de l'AFSSA. C'est un organisme français aujourd'hui remplacé par l'ANSES.

Q1 Donner la signification du sigle AFSSA ainsi que celui de ANSES.

Le règlement (CE) n°1924/2006 permet, au vu de la composition de l'amande, l'utilisation d'allégations nutritionnelles et de santé. C'est ainsi que l'amande est qualifiée, entre autres, de « Riche en protéines » ou de « Source de manganèse ».

Q2 Préciser ce que l'on nomme officiellement « allégation ».

La richesse en protéines fait de l'amande, un substitut envisageable à la consommation de protéines d'origine animale. Cependant, l'exclusion des protéines animales du régime alimentaire ne permet pas de couvrir la totalité des besoins en acides  $\alpha$ -aminés essentiels.

Q3 Donner la formule générale d'un acide  $\alpha$ -aminé tout en précisant où se trouvent le carbone asymétrique, le carbone en position  $\alpha$  ainsi que les fonctions chimiques particulières.

Q4 Définir ce que l'on entend par « acides aminés essentiels ».

Q5 Le Document 2 indique la teneur en certains nutriments dans l'amande. Illustrer l'importance de chacun de ces nutriments en physiologie humaine.

Classiquement, les amandes peuvent être consommées entières ou émondées puis éventuellement effilées. L'émondage, ou blanchiment, consiste à plonger les amandes dans l'eau bouillante durant environ une minute. A l'issue de ce traitement, la pelure brune ou tégument qui recouvre l'amande est éliminée.

Afin d'évaluer les conséquences de ce traitement sur la teneur en polyphénols de l'amande, un dosage des flavonoïdes a été réalisé sur la pelure et sur le fruit entier. Les résultats sont fournis dans le **Document 3**.

Q6 En prenant en compte les résultats du **Document 3**, indiquer s'il est préférable de consommer les amandes entières ou émondées.

### **Le lait d'amande pour pallier l'intolérance au lactose.**

**La composition biochimique de l'amande lui permet également d'être utilisée comme substitut au lait et ses dérivés dans le cas de personne présentant une hypolactasie.**

L'intolérance au lactose est l'inconfort digestif dû à une consommation de lactose dépassant la capacité propre de la personne à digérer ce sucre présent dans le lait et ses produits dérivés. Les personnes, qui ne produisent plus assez d'hydrolase pour digérer correctement le lactose, souffrent d'intolérance au lactose.

Q7 A partir de la molécule du substrat de la lactase fournie dans le **Document 4**, donner une équation annotée de la réaction de dégradation du lactose.

Q8 A partir de cette équation de dégradation du lactose, expliquer comment il est possible de diagnostiquer une hypolactasie par un simple dosage de glycémie.

L'un des produits de dégradation est le galactose.

Q9 Le galactose est, comme le glucose, un hexose et un polyol. C'est également un épimère en C4 du glucose. Justifier les termes soulignés.

Q10 Discuter de la spécificité de la lactase et en déduire le nom officiel de cette même enzyme.

Le **Document 5** illustre les mécanismes qui sont à l'origine de l'intolérance au lactose. Ce document permet de voir que le microbiote explique, au moins en partie, les symptômes de l'intolérance au lactose.

Q11 Préciser à quoi correspond le microbiote ainsi que les rôles qu'il joue dans l'homéostasie intestinale.

Q12 Expliciter le rôle du microbiote dans la survenue des symptômes de l'intolérance au lactose et préciser le catabolisme microbien adopté dans ce cas.

### **Evaluation quantitative des flavonoïdes**

**Afin de pouvoir étudier les effets particuliers des flavonoïdes de l'amande, il est nécessaire de disposer d'un protocole optimisé de préparation et de dosage des échantillons.**

Pour mettre au point un protocole de préparation des flavonoïdes, trois solvants organiques d'extraction sont testés.

- Le méthanol,
- L'hexane,
- Le chloroforme.

Les étapes de préparation de la matrice et de la gamme d'étalonnage sont détaillées dans le **Document 6**.

Le 2-phénylchromane (**Document 7**) est le squelette carboné commun à tous les flavonoïdes. Pour leur part les flavonoïdes résultent de la substitution de certains carbones par des groupements hydroxyles.

Q13 Citer et donner le principe de la technique analytique utilisée ici.

Q14 A partir de ces informations, justifier le choix des trois solvants d'extraction testés dans cette étude.

Q15 Indiquer, dans un tableau, les modalités de préparation de la gamme étalon en quercétine.

Q16 Alors que la mesure de l'absorbance d'une solution aqueuse de quercétine se fait à 375 nm expliquer pourquoi, pour la lecture de la gamme étalon, les mesures se font à 510 nm.

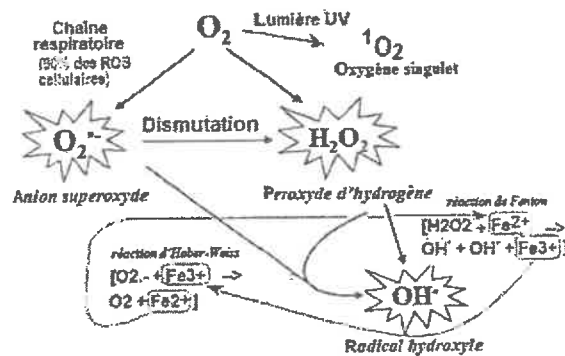
Les mesures obtenues pour la gamme, permettent de tracer le graphe suivant :  
 $A_{570 \text{ nm}} = f([\text{Concentration en quercétine}])$

Dans le protocole (Document 6), il est indiqué que la gamme de quercétine s'étale de 0 à 1000 µg/mL. Cependant le dernier point de gamme reporté sur la droite d'étalonnage est inférieur à 450 µg/mL.

- Q17 Proposer une explication à l'exclusion des concentrations les plus élevées lors du tracé du graphe.
- Q18 Expliciter pourquoi cette droite d'étalonnage peut être validée.
- Q19 Justifier l'expression des résultats en « mg EG / mg ES » utilisée.
- Q20 Interpréter les résultats et conclure.

### Activité antioxydante des flavonoïdes.

C'est le catabolisme aérobie des nutriments qui, dans l'organisme humain, est à l'origine de la quasi-totalité des Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO). Ces dernières ont la particularité d'avoir un électron sous numéraire sur leur dernière couche électronique. Les ERO cherchent donc à compléter leur couche de valence en captant un ou plusieurs électrons provenant notamment des molécules organiques qui les entourent.



L'un des catabolismes les plus générateurs d'ERO est celui du glucose.

- Q21 Fournir un schéma synthétique et précisément annoté indiquant les grandes étapes permettant de produire de l'ATP à partir d'une molécule de glucose.
- Q22 Illustrer l'effet délétère de l'action des ERO sur les cellules humaines.
- Q23 En utilisant la formule du Document 7 expliquer comment les flavonoïdes exercent leur fonction antioxydante permettant de limiter les effets des ERO.

### Evaluation de l'activité antimicrobienne des polyphénols

Même si les mécanismes mis en jeu pour décrire l'action antimicrobienne des polyphénols sont encore méconnus, la mise en évidence de l'effet biocide est avérée.

- Q24 Citer trois souches microbiennes pouvant contaminer l'homme par voie digestive et y associer le mécanisme pathogène utilisé.
- Q25 Présenter les deux mécanismes pathogènes exercés classiquement par les bactéries.
- Q26 Proposer, sous la forme d'un organigramme, un protocole le plus détaillé possible permettant de tester l'efficacité antimicrobienne des polyphénols sur une de ces souches. Fournir un schéma commenté des résultats pouvant être observés.

**Document 1 : Informations nutritionnelles des amandes.**

Le tableau apporte une information sur la quantité moyenne, ainsi que ce que cela représente en pourcentage de Valeurs Nutritionnelles de Référence (VNR)\*. Les VNR constituent un ensemble complet de recommandations nutritionnelles et de valeurs de référence, tels que les apports de référence de la population, les besoins moyens, le niveau approprié de consommation et le seuil de consommation minimum\*\*.

Composants	Qté.	%VNR
Eau	4.58 g	NC
Protéines	21.1 g	42.2
Lipides	53.4 g	76.29
Acides gras saturés	4.19 g	20.95
Glucides	7.85 g	3.02
Sucre	4.4 g	4.89
Fibres	10.2 g	NC
Polyphénol (Flavonoïdes / Acides phénoliques)	8.9 mg (8.5mg / 0.4mg)	NC

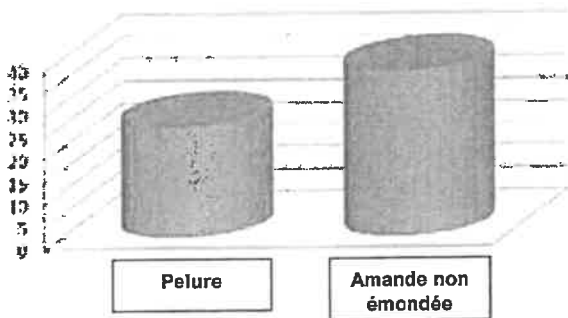
\*Règlement (UE) N°1169/2011 du parlement Européen, et du conseil du 25 octobre 2011 pour toutes les VNR, exceptées celles relatives aux fibres (source : AFSSA, 2002. Les fibres alimentaires : définitions, méthodes de dosage, allégations nutritionnelles).

\*\*Définition donnée par l'EFSA.

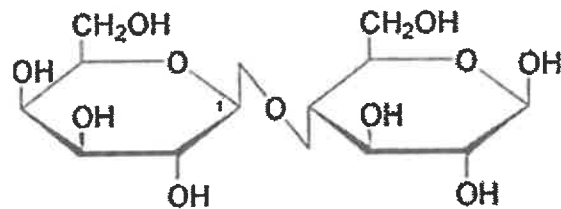
**Document 2 : Quantification de quelques nutriments de l'amande.**

Riche en fibres (car 100 g d'amandes apportent plus de 6 g de fibres)
Riche en magnésium (car 100 g d'amandes apportent plus de 30 % des VNR)
Riche en phosphore (car 100 g d'amandes apportent plus de 30 % des VNR)
Riche en potassium (car 100 g d'amandes apportent plus de 30 % des VNR)
Riche en calcium (car 100 g d'amandes apportent plus de 30 % des VNR)
Source de fer (car 100 g d'amandes apportent plus de 15 % des VNR)

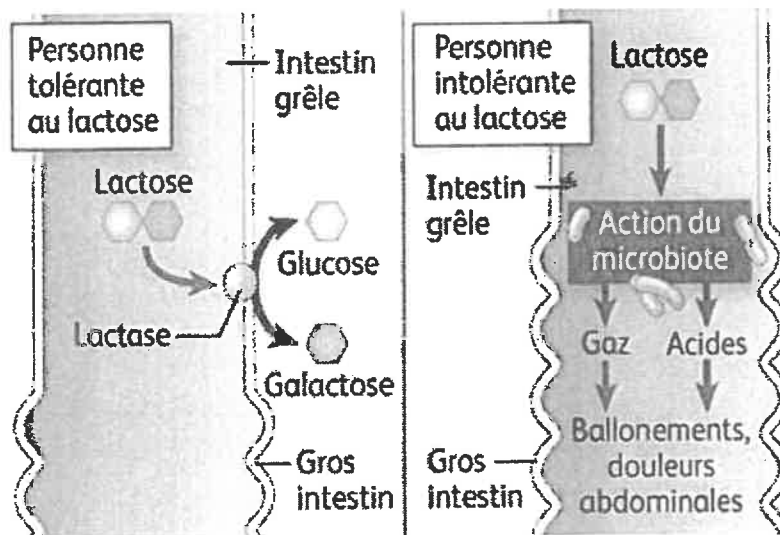
**Document 3 : Résultats des dosages des flavonoïdes (en % de la quantité des flavonoïdes dosables).**



**Document 4 : Substrat de la lactase.**



**Document 5 : Origine des symptômes de l'intolérance au lactose.**



## Document 6 : Protocole de quantification des flavonoïdes.

### Préparation des extraits.

Les amandes sont broyées et conservées à température ambiante à l'abri de la lumière. La poudre est macérée dans trois solvants de polarité croissante, hexane, chloroforme et méthanol, pendant 48 h, filtrée et concentrée par évaporation rotative. Les extraits bruts obtenus ont été conservés à  $-4^{\circ}\text{C}$ .

### Quantification des flavonoïdes.

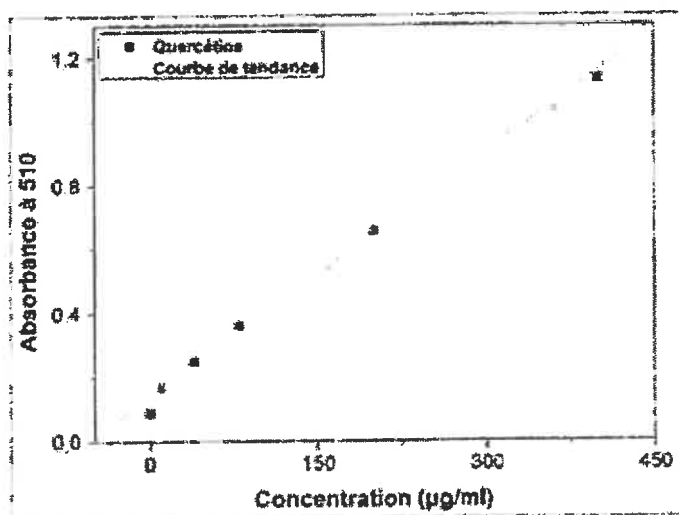
La quantification des flavonoïdes est effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes et absorbant dans le jaune.

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Zhishen et al., 1999).

Dans un tube à hémolyse en verre, 400  $\mu\text{L}$  d'extrait, ou d'étalon, ou de l'eau distillée pour le témoin, ont été ajoutés à 120  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  à 5 %. Après 5 minutes, 120  $\mu\text{L}$  d' $\text{AlCl}_3$  à 10 % sont additionnés, et le milieu est mélangé vigoureusement.

Après 6 minutes, un volume de 800  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  à 1 mol/L a été ajouté au milieu.

L'absorbance est lue immédiatement à 510 nm contre le témoin. Une solution méthanolique de quercétine a été préparée. Des solutions filles, à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 0 et 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , permettront de tracer la courbe d'étalonnage.



Droite d'étalonnage

### Résultats

Extraits	Quantité des flavonoïdes totaux	Equation de du graphe	$R^2$
	(en mg EQ/gES)		
Méthanol	0.613	$A = 0.002[\text{Que}] + 0.139$	0.995
Hexane	0.148		
Chloroforme	0.058		

Que : quercétine, EQ : équivalent de quercétine, ES : Extrait sec.

### Document 7 : Formule du 2-phénylchromane.

