



BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR

**QUALITÉ DANS
LES INDUSTRIES
ALIMENTAIRES ET LES
BIOINDUSTRIES**

**Annales
Sessions
2008-2009**

**UPBM Édition
Publications de l'UPBM**

Les Annales du **BTS Qualité dans les Industries alimentaires et les bioindustries** ont été réalisées par Gisèle RIGARD (Clermont-Ferrand) et Jean-Noël JOFFIN (Saint Denis).

Madame Françoise ARTAUD-DUMOULIN en assure la diffusion.

Tous nos remerciements à Lucie Fenies, Jean-François BRUN, Christine MAZZIA, Annick CLÉMENT, Philippe SUCHET, Pierre BAYARD, Catherine CAVAGNA, Frédérique BRUN (Clermont-Ferrand), Gabriella MOLINA, Martine CHARRIN (ENCPB Paris), Bernard HUGELÉ, Annie CARÈME, Steeve COPPÉ, Jean-Louis ROHAUT et Christiane JOFFIN (Saint-Denis) pour le recueil des sujets et les corrigés.

Rappelons que l'ensemble du travail réalisé est bénévole.

Photographie de couverture :

Cuve de fermentation du restaurant « Les trois brasseurs » à Lille (photographie de **Sylvain ANDRÉ**)- (juillet 2009).

AVERTISSEMENTS

Nous espérons les erreurs limitées par une relecture aussi attentive que possible...

Le prix de ces annales peut paraître élevé : nous aurions souhaité qu'il soit moindre mais un tirage inévitablement limité conduit à des frais de fabrication particulièrement élevés et nous oblige à un prix de vente en rapport.

Des **corrigés** sont ajoutés : ils sont réalisés **bénévolement** par les collègues sous leur responsabilité. Des erreurs ou des divergences d'appréciation peuvent conduire d'autres collègues ou les étudiants à ne pas être en accord avec le corrigé. Pouvez-vous adresser vos remarques à jnjoffin@ac-creteil.fr ou/et gisele.rigard@wanadoo.fr ?

Les sujets de *Techniques d'atelier du génie industriel* sont spécifiques des installations : ils ne figurent pas dans cette édition. Des exemples pourront être trouvés dans les annales antérieures.

Vous pourrez consulter les erratums ou les remarques transmises sur le site internet <http://www.upbm.net> à la rubrique annales.

ISBN 978-2-910069-60-5



Sommaire

Sommaire	3
Règlement d'examen	4
Sujets 2008.....	7
E1- ANGLAIS 2008	7
E2-U21 MATHÉMATIQUES 2008	8
E2-U22 SCIENCES PHYSIQUES 2008	11
E3-U3 BIOCHIMIE - BIOLOGIE- 2008.....	17
E4-U4 SCIENCES APPLIQUÉES 2008.....	24
E5-U52 TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE PRODUCTION - TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES Sujet B - 2008 30	
E5-U52 TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE PRODUCTION - TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES Sujet A - 2008 41	
E5-U52 TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE PRODUCTION - TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES Sujet C - 2008.....	50
E6-U62 Qualité appliquée aux industries alimentaires et aux bioindustries - ÉTUDE DE CAS 2008	58
Sujets 2009.....	66
E1- ANGLAIS 2009	66
E2-U21 MATHÉMATIQUES 2009	67
E2-U22 SCIENCES PHYSIQUES 2009	70
E3-U3 BIOCHIMIE – BIOLOGIE 2009	73
E4-U4 SCIENCES APPLIQUÉES 2009.....	79
E5-U52 TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE PRODUCTION - TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES Sujet A - 2009 86	
E5-U52 TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE PRODUCTION - TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES Sujet B -2009	96
E6-U62 Qualité appliquée aux industries alimentaires et aux bioindustries - ÉTUDE DE CAS 2009	105
Éléments de corrigés	123
Corrigés sujets 2008	123
Anglais 2008	123
Mathématiques 2008	125
Sciences physiques 2008	127
Biochimie-Biologie 2008	129
Sciences appliquées 2008.....	133
Étude de cas 2008.....	139
Corrigés sujets 2009	143
Anglais 2009	143
Mathématiques 2009	144
Sciences physiques 2009	146
Biochimie-Biologie 2009	148
Sciences appliquées 2009.....	153
Étude de cas 2009.....	158

Règlement d'examen

Tableau des épreuves

Code	Épreuve	Code	sous-épreuves	Forme	Durée	Coefficient
E.1	Anglais			Écrite	2 h	2
E.2	Mathématiques et Physique Chimie	E.2.A	Mathématiques	Écrite	2 h	2
		E.2.B	Physique Chimie	Écrite	2 h	3
E.3	Biochimie-Biologie			Écrite	4 h	5
E.4	Sciences appliquées			Écrite	4 h	5
E.5	Techniques d'analyse et de production	E.5.A	Techniques d'atelier du génie industriel	Pratique	4 h	3
		E.5.B	Techniques d'analyses et de contrôles	Pratique	6 h	3
E.6	Qualité appliquée aux industries alimentaires et aux bioindustries	E.6.A.	Soutenance de projet	Orale (soutenance)	1 h	3
		E.6.B.	Étude de cas	Écrite	4 h	4
					Total	30

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE ET DE LA CULTURE DIRECTION DES LYCÉES ET COLLÈGES

S/Direction des enseignements et des diplômes

Bureau des enseignements post-baccalauréat DLC5

Arrêté portant création et définition du brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bioindustries et fixant les modalités de la formation sanctionnée par ce diplôme.

LE MINISTRE D'ÉTAT, MINISTRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE ET DE LA CULTURE

- VU le code de l'enseignement technique;
- VU le code du travail, notamment ses livres I et IX;
- VU la loi n° 71.577 du 16 juillet 1971 d'orientation sur l'enseignement technologique;
- VU la loi n° 75.620 du 11 juillet 1975 relative à l'Éducation;
- VU la loi n° 84.52 du 26 janvier 1984 sur l'enseignement supérieur;
- VU la loi de programme n° 85.1371 du 23 décembre 1985 sur l'enseignement technologique et professionnel;
- VU la loi n° 89.486 du 10 juillet 1989 d'orientation sur l'éducation
- VU le décret n° 59.57 du 6 janvier 1959 portant réforme de l'enseignement public, notamment son article 35;
- VU le décret n° 76.1304 du 28 décembre 1976 relatif à l'organisation des formations dans les lycées;
- VU le décret n° 86.496 du 14 mars 1986 portant règlement général du brevet de technicien supérieur, modifié par le décret n° 87.829 du 9 octobre 1987;
- VU le décret n° 90.484 du 14 juin 1990 relatif à l'orientation et à l'affectation des élèves;
- VU le décret n° 91.372 du 16 avril 1991 relatif à l'orientation et à l'affectation des élèves dans les établissements d'enseignement privés sous contrat;
- VU l'arrêté du portant création et définition du brevet de technicien supérieur qualité dans les industries alimentaires et les bio industries et fixant les modalités de la formation sanctionnée par ce diplôme;
- VU l'avis de la Commission professionnelle consultative du 11 décembre 1992;
- VU l'avis du Conseil national de l'enseignement supérieur et de la recherche du ...
- VU l'avis du Conseil Supérieur de l'Éducation du ...

ARRÊTE

ARTICLE 1^{er}

Les conditions de délivrance du brevet de technicien supérieur qualité dans les industries alimentaires et les bioindustries créé par l'arrêté du susvisé sont fixées conformément aux dispositions du décret n° 86.496 du 14 mars 1986 modifié portant règlement général du brevet de technicien supérieur et des annexes I (règlement d'examen) et II (définition des épreuves) du présent arrêté.

ARTICLE 2

Pour se présenter à l'examen les candidats doivent justifier d'une des conditions d'inscription fixées à l'article 7 du décret n° 86.496 du 14 mars 1986 modifié susvisé.

ARTICLE 3

Une seule session est organisée chaque année scolaire. La date de début des épreuves, les dates d'ouverture et de clôture des registres d'inscription sont fixées par le Ministre d'État, Ministre de l'Éducation Nationale et de la Culture. La liste des pièces à fournir lors de l'inscription est fixée par les Recteurs.

ARTICLE 4

Le brevet de technicien supérieur qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries est délivré aux candidats ayant subi avec succès l'examen défini par le présent arrêté conformément aux dispositions de l'article 10 ou aux dispositions de l'article 13 du décret n° 86.496 du 14 mars 1986 modifié susvisé.

Chaque candidat précise au moment de son inscription s'il souhaite subir l'examen dans sa forme globale tel que le prévoit l'article 10 du décret précité ou épreuve par épreuve conformément à l'article 13 de ce décret. Dans ce dernier cas il précise en outre les épreuves qu'il souhaite subir à la session pour laquelle il s'inscrit.

ARTICLE 5

La première session du brevet de technicien supérieur qualité dans les industries alimentaires et les bioindustries organisée conformément aux dispositions du présent arrêté aura lieu en 1995.

ARTICLE 6

Le Directeur des Lycées et Collèges est chargé de l'exécution du présent arrêté qui sera publié au Journal Officiel de la République française et au Bulletin Officiel de l'Éducation nationale.(1)

Fait à Paris, le

(1) Le présent arrêté et son annexe I seront publiés au Bulletin Officiel du Ministère de l'Éducation Nationale du vendu au prix de 12,50 F, disponible au centre national de documentation pédagogique, 13 rue du Four- 75006 Paris. ainsi que dans les centres régionaux et départementaux de documentation pédagogique.

L'arrêté et ses annexes seront diffusés par les centres précités.

Définition des épreuves

1. Anglais

- Épreuve écrite
- Durée : 2 heures
- Coefficient : 2

L'épreuve soit permettre de vérifier les capacités du candidat à :

- exploiter correctement des documents à caractère technique (articles de presse ou extraits d'ouvrages spécialisés, notices et modes d'emploi, diagrammes et schémas en anglais concernant des matériels étrangers, lettres, communications);

- proposer des éléments de rédaction simples en anglais sur un sujet touchant à la spécialité

Cette épreuve comprendra d'abord la traduction ou le compte rendu en français d'un texte extrait d'un document technique ou d'une revue spécialisée; lui fera suite la rédaction en anglais d'un texte se rapportant au sujet précédemment étudié.

2. Mathématiques et Sciences physiques

- Épreuve écrite
- Durée : 4 heures (2 h pour les mathématiques, 2 h pour la physique-chimie)
- Coefficient : 5 (2 pour les mathématiques, 3 pour la physique-chimie)

1. Objectifs de l'épreuve.

L'enseignement des mathématiques a pour triple objectif de fournir un outil efficace pour les sciences physiques et biologiques et la technologie, de développer la formation scientifique et de contribuer à la formation personnelle et relationnelle de l'étudiant. Les sciences physiques et la chimie ont les mêmes objectifs généraux : ils fournissent en outre les bases scientifiques nécessaires aux enseignements technologiques et professionnels. Par suite l'épreuve qui sanctionne ces enseignements a pour objectifs :

- d'apprécier la solidité des connaissances des étudiants et leur capacité à les mobiliser dans des situations variées :

- de vérifier leur aptitude au raisonnement et leur capacité à analyser correctement un problème, à justifier les résultats obtenus et à apprécier leur portée;

- d'apprécier leurs qualités dans le domaine de l'expression écrite et de l'exécution soignée de tâches diverses (calculs avec ou sans instrument, tracés graphiques).

2. Nature de l'épreuve

C'est une épreuve écrite d'une durée de 4 heures (2 h pour les mathématiques - 2 h pour les sciences physiques) et de coefficient 5 (2 pour les mathématiques - 3 pour les sciences physiques et la chimie).

Les sujets comportent : deux exercices de mathématiques et deux exercices de sciences physiques et chimie. Ces exercices porteront sur des parties différentes du programme et devront rester proches de la réalité professionnelle .

L'épreuve porte à la fois sur des applications directes des connaissances du cours et sur leur mobilisation au sein de problèmes plus globaux.

Il convient d'éviter toute difficulté théorique et toute technicité mathématique excessives. La longueur et l'ampleur du sujet doivent permettre à un candidat moyen de traiter le sujet et de le rédiger posément dans le temps imparti.

L'utilisation des calculatrices pendant l'épreuve est définie par la circulaire n° 86.228 du 28 juillet 1986 publiée au Bulletin officiel n° 34 du 2 octobre 1986.

En tête des sujets doivent figurer les deux rappels suivants :

- la clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.

- l'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé.

Chacune des parties de l'épreuve sera corrigée par un professeur de la discipline.

3. Biochimie - Biologie

- Épreuve écrite
- Durée : 4 heures
- Coefficient : 5

Le sujet comportera une ou plusieurs questions liées ou indépendantes et pourra faire appel à l'utilisation de documents.

L'épreuve permet d'apprécier :

- la compréhension et l'assimilation des connaissances fondamentales en biochimie, microbiologie générale et appliquée, toxicologie

- l'aptitude à la réflexion et au raisonnement scientifique

- la clarté et la rigueur de l'expression écrite et de la composition.

Elle se réfère au programme de biochimie-biologie.

4. Sciences appliquées

- Épreuve écrite
- Durée : 4 heures
- Coefficient : 5

L'épreuve comportera au minimum deux questions : une question se rapportant au programme de sciences des aliments et une question se rapportant au programme du cours de génie industriel. Elle pourra faire appel à l'utilisation de documents.

Elle permet d'évaluer

- les connaissances fondamentales en sciences des aliments et génie industriel

- ses capacités à utiliser ses connaissances dans un contexte qualité

- sa maîtrise des problèmes de sécurité

- ses qualités d'analyse et de synthèse.

5. Techniques d'analyse et de production

- Épreuve écrite
- Durée : 10 heures
- Coefficient : 6

Cette épreuve porte sur les techniques d'analyses biochimiques, les techniques d'analyses microbiologiques, les techniques d'analyses immunologiques, les techniques d'analyses toxicologiques, sur l'analyse sensorielle et sur les travaux d'atelier du génie industriel. Trois de ces domaines au moins devront être évalués.

L'épreuve a pour but de vérifier que le candidat est capable de :

- mettre en œuvre un protocole opératoire dans des conditions satisfaisantes de sécurité et d'efficacité en respectant les exigences des Bonnes Pratiques de Fabrication ou des Bonnes Pratiques de Laboratoire

- s'organiser rationnellement dans le temps et dans l'espace - traiter et exploiter des résultats.

- évaluer et valider ses résultats

Elle doit permettre d'évaluer tout ou partie des capacités et compétences terminales suivantes du référentiel de certification du domaine professionnel :

C31 : préparer les produits, réactifs et milieux

C32 : vérifier les produits, réactifs et milieux

C33 : vérifier le bon fonctionnement de l'appareillage d'analyses au laboratoire ou de mesures en fabrication

C34 : pratiquer des interventions simples de maintenance sur les appareils du contrôle qualité; déclencher des interventions de maintenance sur les appareils du contrôle qualité

C35 : conduire les analyses, les essais et les mesures

C41 : recueillir et présenter les résultats des essais ou des mesures

C42 : déterminer un intervalle de confiance d'une méthode et valider la mesure

C43 : interpréter les résultats des essais et des mesures en vue de l'évaluation des procédés, des matières premières, du conditionnement, de l'emballage, et du produit fini

C44 : évaluer les risques liés à l'activité professionnelle

C45 : identifier les dysfonctionnements des appareils d'analyse et de mesure

Cette épreuve pourra se dérouler en plusieurs étapes.

Elle donnera lieu à la rédaction de comptes rendus et pourra éventuellement faire appel aux techniques de l'informatique.

Des documents techniques annexes peuvent être distribués aux candidats avec le sujet.

6. Épreuve professionnelle de synthèse, étude de cas se rapportant à la qualité

- Épreuve écrite et orale
- Durée : 5 heures
- Coefficient : 7

Cette épreuve est caractéristique des activités professionnelles du technicien supérieur en «Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries».

Elle a pour but de vérifier que le candidat est capable :

- de présenter une analyse rigoureuse d'une situation relative à la qualité
- de proposer des solutions argumentées
- de traiter et d'exploiter des informations techniques réglementaires
- de mobiliser ses connaissances théoriques et pratiques pour analyser et/ou résoudre un problème relatif à la qualité

Cette épreuve doit permettre d'évaluer tout ou partie des capacités et compétences terminales suivantes du référentiel de certification du domaine professionnel:

C11 : Analyser tout ou partie d'un cahier des charges

C12 : Concevoir un auto-contrôle ou un contrôle en cours de production

C13 : Proposer des actions préventives et correctives pour réduire les écarts entre objectifs et résultats (notamment des ajustements ou des modifications des procédures et/ou des modes opératoires)

C14 : Proposer de nouvelles procédures de fabrication ou d'analyses ou adapter des procédures existantes

C21 : Inventorier les contraintes d'exploitation et les contraintes de l'environnement

C22 : Définir et faire appliquer les mesures d'hygiène particulières à chaque production;

Dans le but d'assurer la qualité de la production :

- proposer les mesures et les moyens de prévention des risques vis à vis des personnels
- proposer les moyens permettant de préserver les matières, les produits, les matériels et l'environnement

C23 : Proposer les circuits relatifs aux personnels, aux matériels, aux matières, aux produits et aux déchets en prenant en compte les contraintes d'exploitation, les contraintes d'environnement et les objectifs de qualité

C24 : Prévoir l'approvisionnement des postes de travail des laboratoires de contrôle de qualité en produits, réactifs, milieux et matériels.

C25 : Organiser les activités d'auto-contrôle et de contrôle en cours de production

C41 : Recueillir et présenter les résultats des essais ou des mesures

C42 : Déterminer un intervalle de confiance d'une méthode et valider un résultat

C43 : Interpréter les résultats des essais ou des mesures en vue de l'évaluation des procédés, des matières premières, du conditionnement, de l'emballage et du produit fini

C44 : Évaluer les risques liés à l'activité professionnelle

C51 : Recenser et sélectionner les différentes sources documentaires professionnelles et réglementaires :

- Repérer les différentes sources d'information sur le sujet donné
- Utiliser un fichier bibliographique pour une recherche d'information
- Consulter une banque de données

C52 : Référencer et stocker l'information :

- Référencer un article ou un périodique ou une notice technique ou un texte réglementaire
- Mettre à jour un fichier manuel ou automatisé

C53 : Traiter l'information

C54 : Décoder des informations techniques

C61 : Produire et transmettre un message

C63 : Rendre compte des opérations effectuées et des résultats attendus

Cette épreuve porte sur les programmes de «Qualité» et sur l'expérience acquise durant les stages en milieu professionnel. Elle fait également appel aux connaissances de biochimie-biologie, sciences des aliments, génie industriel, techniques d'analyse, sécurité et économie-gestion. Elle fait appel en outre aux qualités d'expression et de communication développées en particulier dans l'enseignement du français. Elle peut comporter des documents en anglais.

L'épreuve se déroulera en deux phases complémentaires :

a) La première phase consiste à analyser une situation relative à la qualité.

Au cours de cette phase, le candidat exposera un travail personnel réalisé pendant son deuxième stage en milieu professionnel ou, pour un candidat qui se présente au titre de la promotion sociale ou de la formation continue, pendant son activité professionnelle. Ce travail personnel doit donc porter sur l'analyse d'une situation relative à la qualité. Il fait l'objet d'un document écrit de 5 pages maximum présentant succinctement la problématique étudiée, les éléments de réflexion et d'analyse qui seront développés au cours d'un exposé oral et une bibliographie sommaire.

Le document écrit sera communiqué au jury quelques jours avant l'examen à une date fixée par le recteur.

La présentation du travail personnel ne doit pas excéder 30 minutes. Cette présentation est suivie d'une interrogation par le jury d'une durée de 30 minutes. Cette interrogation porte sur le travail présenté

b) La deuxième phase consiste à résoudre un problème relatif à la qualité : cette résolution aboutit à des propositions concrètes qui complètent le travail d'analyse conduit pendant la première phase. L'étude est conduite à partir d'un dossier technique fourni au candidat. Le candidat dispose de 4 heures pour traiter ce problème.

Le jury de cette épreuve devra comporter :

- un enseignant de la spécialité
- un professionnel
- un enseignant susceptible d'apprécier les qualités de communication du candidat
- un enseignant d'Économie-Gestion si le contenu du rapport l'impose.

Sujets 2008

E1- ANGLAIS

2008

Durée : 2 heures Coefficient: 2

L'usage de la calculatrice est interdit. L'usage d'un dictionnaire bilingue est autorisé

Call for 90% cut in carbon emissions

Drastic action is needed if Britain is to have any chance of avoiding catastrophic climate change, a ground-breaking environmental report warned last week.

In the first big study of what households, business and government may have to do to cut carbon emissions, the leading climate change research body has revised upwards by 50% the cuts in 5 greenhouse gas emissions that need to be achieved by 2050.

The government-funded Tyndali Centre for Climate Change Research says this is necessary because successive governments have failed to include aviation or shipping emissions in their calculations.

At the moment the government's estimate is that a 60% cut in emissions is needed to avoid a 2C increase in temperatures by 2050. But the authors of the latest study conclude that a 90% cut in emissions is needed. Their data suggests that when aviation and shipping is factored in, UK carbon emissions have not fallen at all since 1990.

The report, commissioned by Friends of the Earth and the Cooperative Bank, severely criticizes successive governments for misleading the public on what has been achieved and what needs to be done. It proposes radical ideas to effect change, predicting that most buildings will have to generate their own electricity, double-decker trains will transport people to work, and planes might not be allowed to take off unless they are nearly full.

But the report says that 90% cuts are achievable if measures are taken within four years to stabilise emissions. Beyond 2010, it says, annual cuts of 9% will be needed for the next 20 years.

If not, say the authors, much more drastic cuts will be needed later.

The authors also propose that Britain become the first country in the world to introduce a wideranging carbon tax or an emissions trading scheme.

Adapted from John Vidai, The Guardian Weekly, September 22-28, 2006

QUESTIONS

I. COMPREHENSION (10 points)

1. Faire un compte rendu de l'article en français en mettant en évidence les idées essentielles (environ 130 mots \pm 10 %).
2. Traduire en français de la ligne 7 ('At the moment-') à la ligne 9 ('...since 1990').

II. EXPRESSION EN LANGUE ANGLAISE (10 points)

Answer the following questions in English.

1. You are a member of Friends of the Earth. Write a short paragraph (70 words, \pm 10%) explaining the goals of your organization.
2. What can you personally do to limit pollution in your daily life. Give examples. (130 words, \pm 10%).

Durée: 2 heures Coefficient: 2

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.

*L'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé.
Le formulaire de mathématiques est joint au sujet.*

EXERCICE 1 (10 points)

*Dans cet exercice on s'intéresse à l'évolution de la température d'une tasse de thé.
Les deux parties A et B de cet exercice peuvent être traitées de façon indépendante.*

A. Résolution d'une équation différentielle

On considère l'équation différentielle (E): $y' + 0,05 y = 1,05$,
où y est une fonction de la variable réelle t , définie et dérivable sur $[0, +\infty[$, et y' la fonction dérivée de y .

- 1° Déterminer les solutions sur $[0, +\infty[$ de l'équation différentielle (E₀) : $y' + 0,05 y = 0$.
- 2° Soit h la fonction définie sur $[0, +\infty[$ par $h(t) = a$, où a est un nombre réel.
Déterminer le nombre réel a pour que la fonction h soit une solution particulière de l'équation différentielle (E).
- 3° En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (K).
- 4° Déterminer la solution f de l'équation différentielle (E) qui prend la valeur 100 pour $t=0$.

B. Étude d'une fonction et calcul intégral

Soit f la fonction définie sur $[0, +\infty[$ par $f(t) = 79 e^{-0,05 t} + 21$.

On désigne par C la courbe représentative de f dans un repère orthonormal $(O; \vec{i}, \vec{j})$

La courbe C est donnée annexe, à rendre avec la copie.

- 1° a) Déterminer $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t)$.
- b) Déduire du a) que la courbe C admet une asymptote Δ dont on donnera une équation.
Tracer la droite Δ sur la figure de l'annexe.
- 2° Résoudre par le calcul dans $[0, +\infty[$ l'équation $f(t) = 21,1$.
Donner la valeur exacte de la solution, puis une valeur approchée arrondie à 10^{-1} .
- 3° a) On désigne par f' la fonction dérivée de la fonction f
Calculer $f'(t)$ pour tout t de $[0, +\infty[$
b) Établir le tableau de variation de f
- 4° Démontrer que la valeur moyenne V_m de la fonction f sur $[0, 120[$ est:

$$V_m = 21 + \frac{79}{6}(1 - e^{-6})$$

C. Exploitation des résultats des parties A et B

Du thé est mis à infuser dans une tasse placée dans une pièce où la température ambiante, supposée constante, est de 21°C .

Dans ce qui suit, t est le temps exprimé en minutes.

On admet que la température du thé exprimée en degrés Celsius est $f(t)$, où f est la fonction définie au début de la partie B.

- 1° En utilisant le résultat de la question B. 2°, donner, à la minute près, l'instant au-delà duquel la température du thé est inférieure à $21,1^\circ\text{C}$.
- 2° Déterminer graphiquement, à la minute près, l'instant où la température du thé est de 60°C .
On fera apparaître les constructions utiles sur la figure.

EXERCICE 2 (10 points)

Les trois parties de cet exercice sont indépendantes.

Un industriel de l'agroalimentaire conditionne du ketchup dans des bouteilles en verre.

Dans cet exercice, les résultats approchés sont à arrondir à 10^{-2}

A. Loi normale

On désigne par X la variable aléatoire qui à chaque bouteille prélevée au hasard dans la production d'une journée associe la masse de sauce, exprimée en grammes, contenue dans cette bouteille.

On suppose que la variable aléatoire X suit la loi normale de moyenne 570 et d'écart type 4.

Une bouteille n'est commercialisée que si la masse de sauce qu'elle contient est comprise entre 560 grammes et 580 grammes.

1° Calculer la probabilité qu'une bouteille prélevée au hasard dans la production de la journée soit commercialisée.

2° Calculer la probabilité que la masse de sauce soit supérieure ou égale à 565 grammes.

B. Loi binomiale et approximation d'une loi binomiale par une loi de Poisson

1° Dans un stock important de bouteilles destinées aux livraisons en France, 10% des bouteilles contiennent une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

Les bouteilles sont livrées en France par cartons de 16.

On prélève au hasard 16 bouteilles de ce stock pour vérification. Le stock est assez important pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 16 bouteilles.

On considère la variable aléatoire Y qui, à tout prélèvement de 16 bouteilles, associe le nombre de bouteilles de ce prélèvement qui contiennent une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

a) Justifier que la variable aléatoire Y suit une loi binomiale dont on déterminera les paramètres.

b) Calculer la probabilité qu'aucune bouteille de ce prélèvement ne contienne une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

c) Calculer la probabilité que, dans un tel prélèvement, une bouteille au plus, contienne une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

2° Les bouteilles destinées à l'exportation sont conditionnées par colis de 100.

On prélève au hasard 100 bouteilles pour vérification dans le stock destiné à l'exportation. Le stock est assez important pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 100 bouteilles.

On considère la variable aléatoire Z qui, à tout prélèvement de 100 bouteilles, associe le nombre de bouteilles de ce prélèvement qui contiennent une masse de sauce inférieure ou égale à 565 grammes.

On admet que la variable aléatoire Z suit la loi binomiale de paramètres 100 et 0,1.

a) On considère que la loi suivie par Z peut être approchée par une loi de Poisson.

Déterminer le paramètre λ de cette loi de Poisson.

b) On désigne par Z_1 une variable aléatoire suivant la loi de Poisson de paramètre λ , où λ est la valeur obtenue au a).

Calculer $P(Z_1 \leq 5)$.

C. Intervalle de confiance

Dans cette partie, on s'intéresse à la masse de sucre, exprimée en grammes, contenue dans chaque bouteille.

On prélève au hasard et avec remise un échantillon de 25 bouteilles dans un lot important.

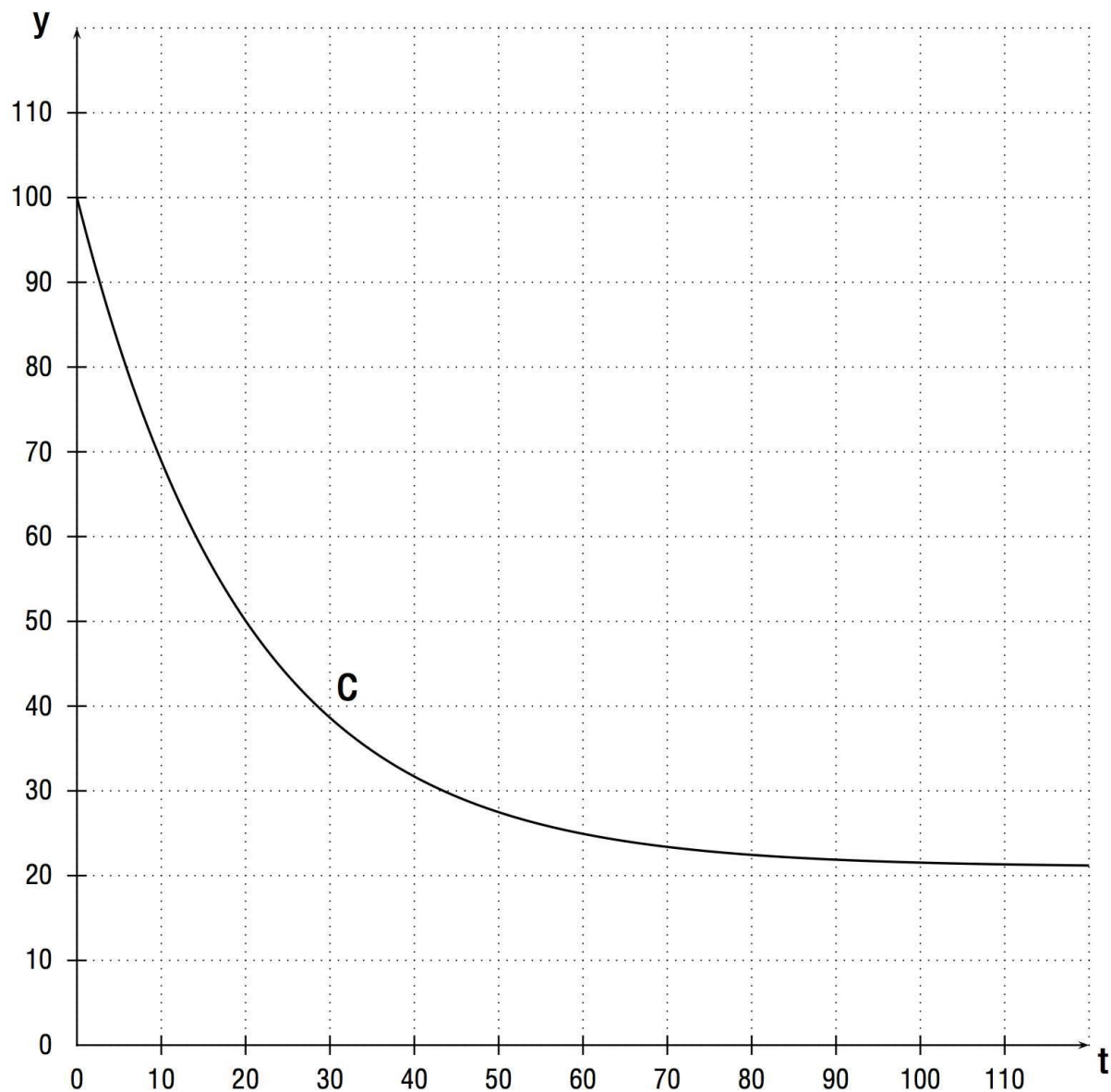
Soit \bar{S} la variable aléatoire qui, à tout échantillon de 25 bouteilles prélevées au hasard et avec remise dans ce lot, associe la moyenne des masses de sucre contenue dans les bouteilles de cet échantillon.

On suppose que \bar{S} suit la loi normale de moyenne inconnue μ et d'écart type $\frac{\sigma}{\sqrt{25}}$ avec $\sigma = 7$.

Pour l'échantillon prélevé, la moyenne obtenue, arrondie à 10^{-1} , est $\bar{s} = 137,7$.

Déterminer un intervalle de confiance centré sur \bar{s} de la moyenne μ des masses de sucre contenu dans chacune des bouteilles de ce lot, avec le coefficient de confiance 95 %.

ANNEXE À RENDRE AVEC LA COPIE



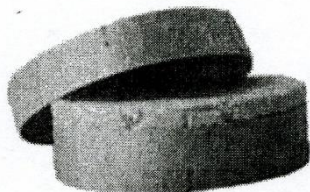
Durée : 2 heures

Coefficient: 3

Les calculatrices de poche sont autorisées conformément à la circulaire n° 99-186 du 16 novembre 1999.

Tout autre document est interdit.

La clarté du raisonnement et la qualité de la rédaction interviennent pour une part importante dans l'appréciation des copies.

EXERCICE I : DOSAGE DU SEL DANS LE CAMEMBERT (6 points)

«Ce fromage est fabriqué à partir de lait de vache caillé et égoutté (on élimine le petit lait) »... « les camemberts, une fois démoulés, sont salés sur les deux faces et le pourtour.

Le salage a un triple rôle:

Il permet la sélection des microorganismes nécessaires à l'affinage.

Il complète l'égouttage du caillé.

Il relève la saveur du fromage. »

Ce sont les ions sodium du chlorure de sodium qui donnent la saveur salée au fromage.

On se propose de doser les ions chlorure dans une solution de camembert par la méthode de Charpentier-Volhard. Cette méthode consiste à doser les ions Ag^+ restant en excès après qu'on a fait réagir les ions Cl^- du fromage avec une grande quantité d'ions Ag^+ .**Préparation de la solution de camembert**On mixe 5,00 g de coeur de camembert dans 50 mL d'eau distillée bouillante. On laisse refroidir le mélange afin de pouvoir retirer la couche de matières grasses qui surnage. Tout le chlorure de sodium présent dans le fromage est dissout dans l'eau. On place toute la phase aqueuse dans une fiole jaugée de $V_0 = 250$ mL et on complète avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge (solution A).**Étapes du dosage**

- Prélever $V = 25,0$ mL de la solution (A) de camembert préparée et la placer dans un erlenmeyer.
- Ajouter 2 mL d'acide nitrique à 50%,
- Ajouter $V_1 = 10,0$ mL de solution de nitrate d'argent ($\text{Ag}^+\text{-NO}_3^-$) de concentration $C_1 = 5,00 \cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.
- Ajouter 2 mL d'une solution d'ions fer III (Fe^{3+}), indicateur de fin de réaction.

La solution titrante est une solution de thiocyanate de potassium (K^+SCN^-) de concentration $C_2 = 2,00 \cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. On l'introduit dans une burette.Après avoir versé $V_{2\text{eq}} = 16,8$ mL de solution de thiocyanate de potassium, une coloration rose orangée persistante apparaît.**Données à 25°C**Masses molaires atomiques: Na : $23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ Cl: $35,5 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Produits de solubilité:

Précipité entre Ag^+ et Cl^- : précipité blanc. $\text{p}K_{\text{S}1} = 9,7$ Précipité entre Ag^+ et SCN^- : précipité blanc. $\text{p}K_{\text{S}2} = 12,0$

Complexe thiocyanate-fer III:

 $[\text{FeSCN}]^{2+}$ rose orangé. Dissociation du complexe: $\text{p}K_{\text{D}3} = 3,0$

1.
 - a) Écrire l'équation de la réaction (1) qui a lieu quand on ajoute la solution de nitrate d'argent à la solution de camembert.
 - b) L'excès d'ions argent réagit avec les ions thiocyanate SCN^- lors du dosage. Écrire l'équation de cette réaction (2).
 - c) Expliquer la coloration rose orangé persistante qui apparaît lorsque l'on atteint un volume versé de 16,8 mL. Écrire l'équation de la réaction (3) qui a lieu.

2. Montrer que la quantité de matière en ion chlorure dans la solution de camembert est donnée par: $n_{Cl^-} = C_1 \cdot V_1 - C_2 \cdot V_{2eq}$. Calculer la concentration c en ions chlorure de la solution de camembert.

3. Calculer la masse de sel (NaCl) présente dans 5,00 g de camembert. En déduire la teneur en sel du camembert (c'est-à-dire le pourcentage massique de sel dans le fromage).

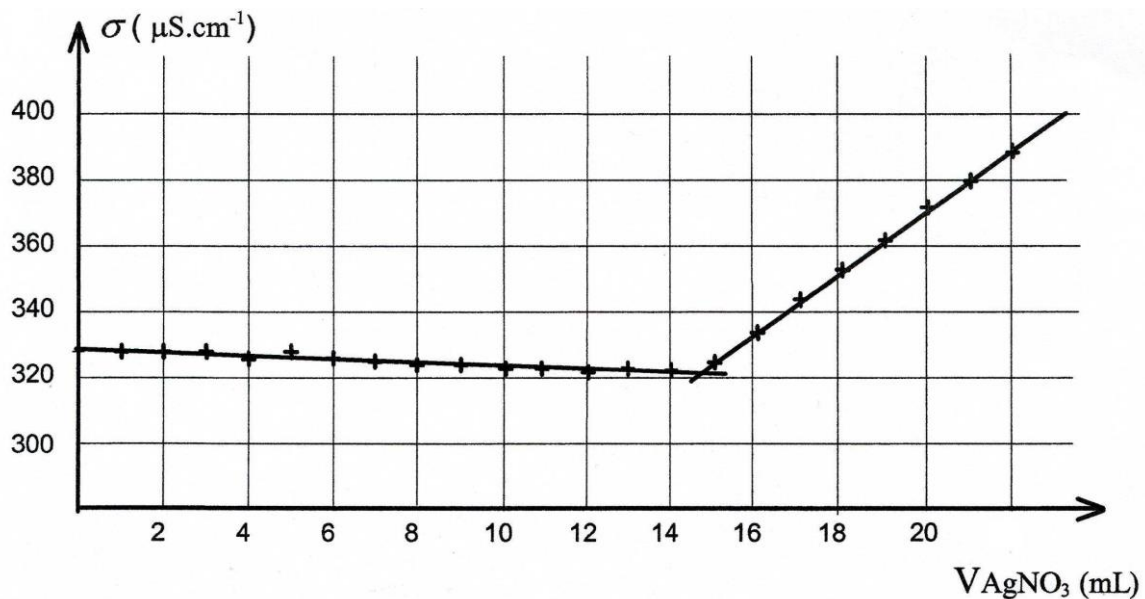
EXERCICE II DOSAGE DU SEL DANS LE LAIT (4,5 points)

On se propose maintenant de comparer la teneur en sel du camembert avec celle de sa matière première, le lait de vache. Pour cela on réalise un dosage conductimétrique des ions chlorure dans le lait.

Étapes du dosage

- Prélever $m = 25,0$ g de lait, les introduire dans une fiole jaugée de 100 mL et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée.
- Dans un bécher, verser 20,0 mL de lait dilué de la fiole et ajouter 250 mL d'eau distillée.
- Verser à l'aide d'une burette, millilitre par millilitre, la solution titrante de nitrate d'argent de concentration $C_{AgNO_3} = 1,50 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot L^{-1}$.
- Relever pour chaque ajout de solution titrante la conductivité de la solution.

Représentation graphique : variations de la conductivité en fonction du volume V_{AgNO_3} versé de solution de nitrate d'argent : (1 division sur l'axe des abscisses = 2 mL)



Données à 25°C

Masses molaires atomiques: Na : $23 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ Cl: $35,5 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

pK_s (AgCl) = 9,7

1. L'équation de la réaction du dosage est $Ag^+ + Cl^- = AgCl(s)$

Exprimer la constante K , de la formation du précipité de chlorure d'argent, de cet équilibre en fonction du produit de solubilité K_s de AgCl. Calculer K .

En déduire que cette réaction peut servir de support à un dosage.

2. Déterminer la concentration molaire en ions chlorure de la solution de lait.

3. En déduire la teneur en sel du lait (c'est-à-dire le pourcentage massique de sel dans le lait). On prendra pour masse volumique du lait: $1 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

EXERCICE III LES MOISSURES DU CAMEMBERT (5,5 pts)

« Après le salage, les camemberts sont affinés pendant une douzaine de jours. Au bout du 8ème jour de l'affinage, on retourne les camemberts afin d'assurer une pousse homogène du *Penicillium camembertii* (fine moisissure blanche)

sur toute la surface du camembert. Ses filaments de mycélium se développent en un feutrage blanc qui transforme la surface en croûte, le cœur en pâte molle, voire coulante.»

On peut observer sa structure en pinceau au microscope. La préparation est colorée au bleu de méthylène.

Le microscope est formé d'un objectif de distance focale 4 mm et d'un oculaire de distance focale 2 cm. Son intervalle optique Δ est de 16 cm.

1. Donner le schéma de principe du microscope pour une observation à l'infini (inutile de respecter l'échelle). On représentera le trajet d'au moins deux rayons lumineux issus de l'objet.

2. Calculer le grossissement commercial du microscope.

3. Calculer l'angle θ sous lequel on voit à l'œil nu une spore du pénicillium de diamètre 4 μm , située à 25 cm. Faire un schéma simple.

4. Calculer l'angle θ' sous lequel on voit cette spore à travers le microscope.

5. Comparer θ et θ' au pouvoir de résolution de l'œil ($3 \cdot 10^{-4}$ rad); conclure.

$$\text{Formulaire} = G_C = \frac{\Delta \cdot d_m}{f'_{obj} \cdot f'_{oc}} \cdot G_C = \frac{\theta}{\theta'}$$

$d_m = 25$ cm (distance minimale de vision distincte pour un œil normal)

EXERCICE IV : TRAÇABILITÉ D'UN FROMAGE (4 points)

L'INRA développe des techniques de pointe visant à déterminer le territoire d'origine d'un produit et son année de production. La spectroscopie infra-rouge et la spectroscopie de masse sont utilisées pour refléter la composition des aliments analysés.

Les traceurs utilisés sont les terpènes, les carotènes et les acides gras (révélateurs de la composition du fourrage, les carotènes donnant la coloration jaune au fromage).

Partie A: La spectroscopie infrarouge

Vous trouverez ci-joint en annexe I le spectre infrarouge de l'acide hexanoïque.

1. Quelle est la relation entre le nombre d'onde et la longueur d'onde ? En déduire l'unité du nombre d'onde, si la longueur d'onde est exprimée en cm.

2. La grandeur mesurée est-elle une transmittance ou une absorbance?

3. Quel phénomène en jeu au sein de la molécule est responsable de l'absorption ?

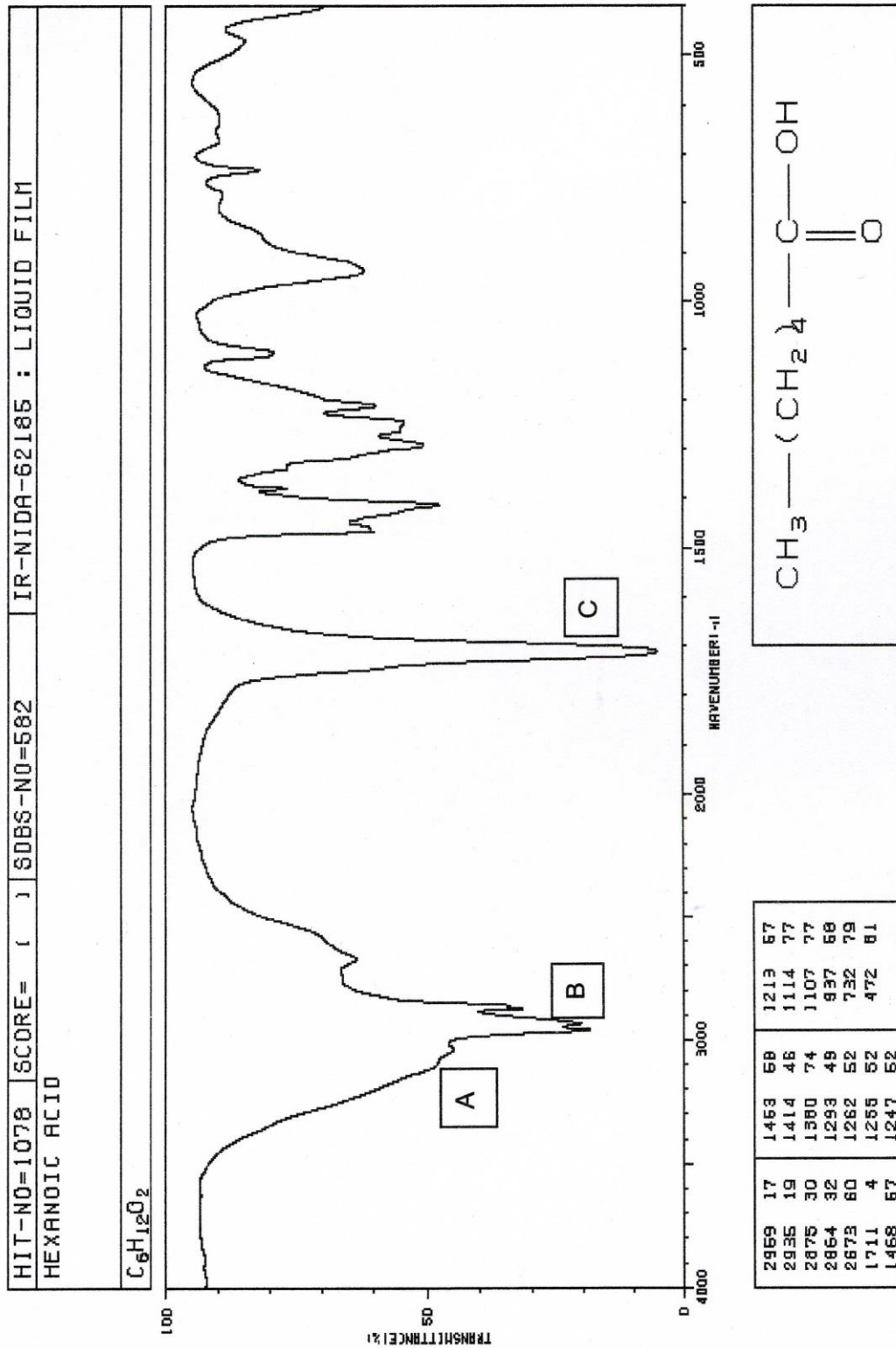
4. Identifier les groupes d'atomes de la molécule d'acide hexanoïque qui sont responsables des pics A (environ 3150 cm^{-1}), B (environ 2900 cm^{-1}) et C (environ 1710 cm^{-1}) visibles sur le spectre infrarouge de l'acide hexanoïque (annexe 1). On pourra s'aider des spectres de la butan-2-one, et du 2,4,4-triméthylpentan-1-ol fournis en annexe 2.

PARTIE B - Spectroscopie visible des carotènes

D'après le spectre en annexe 3, expliquer la couleur du fromage.

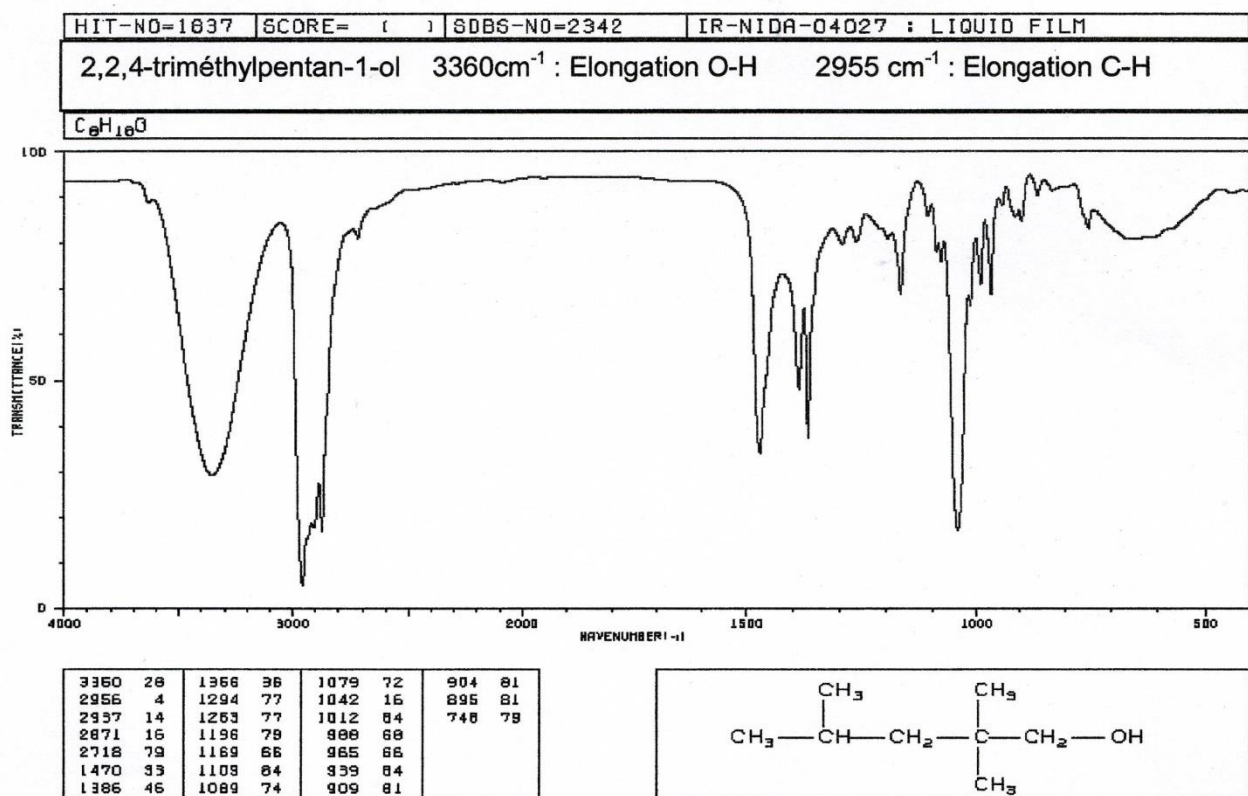
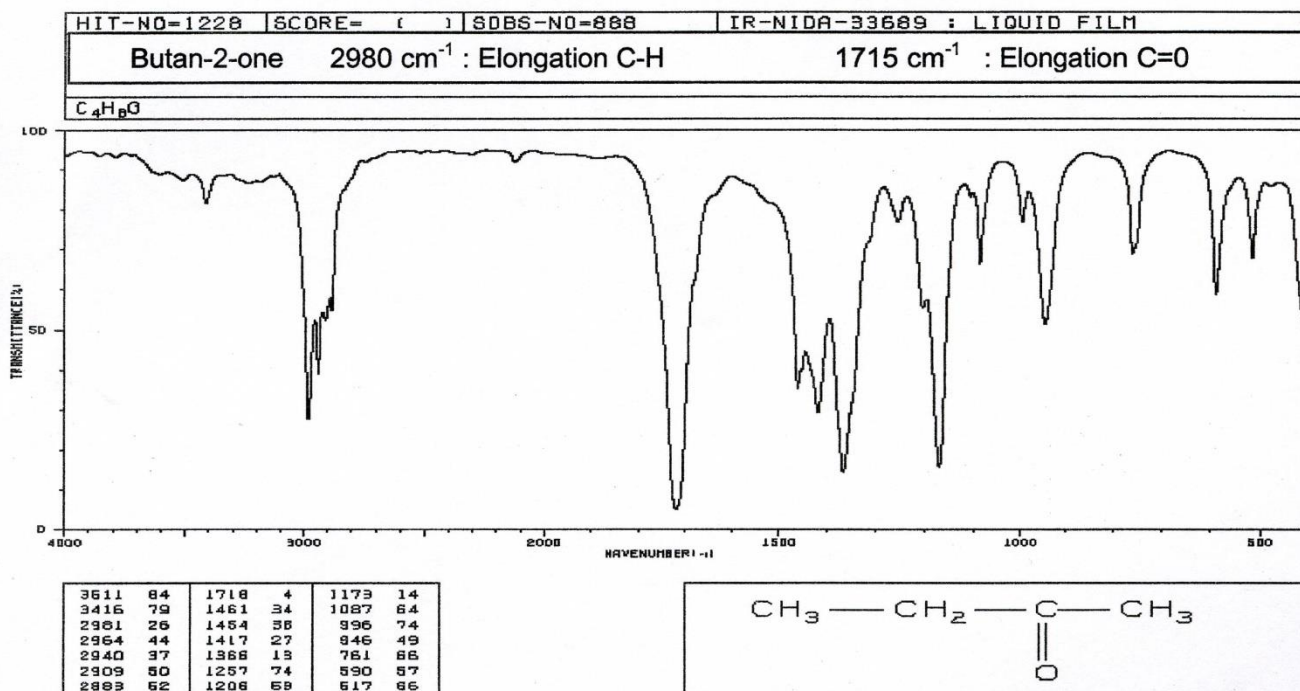
ANNEXE 1 : Spectres infrarouge de l'acide hexanoïque

ANNEXE 1. Spectre Infrarouge de l'acide hexanoïque

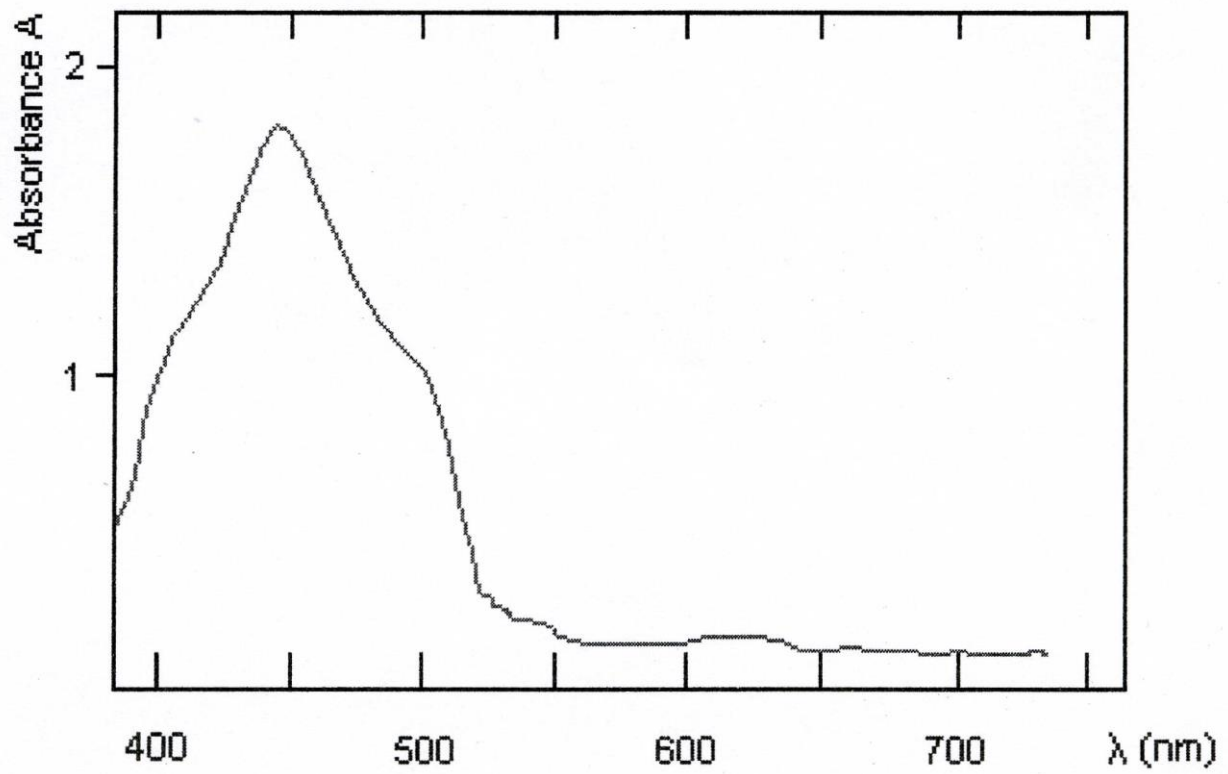


ANNEXE 2 : Spectres infrarouge de la butan-2-one et du 2,4,4-triméthylpentan-1-ol

ANNEXE 2.:Spectres infrarouge de la butan-2-one et du 2,4,4-triméthylpentan-1-ol



ANNEXE 3 : Spectre visible du β -carotène

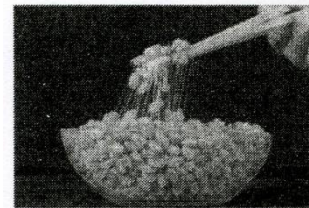


LE NATTO

Le natto est un plat traditionnel japonais préparé à partir de fèves de soja cuites à la vapeur puis fermentées. La fermentation génère des arômes spécifiques recherchés par les amateurs de natto et de longs filaments (voir photo ci-contre).

Depuis quelques années, le natto suscite l'intérêt des occidentaux de par ses qualités nutritionnelles et ses propriétés pharmaceutiques. En effet, des activités antibiotiques, fibrinolytiques voire anticancéreuses ont été attribuées à certains de ses composés. C'est pourquoi le natto est à présent produit à échelle industrielle dans le monde entier.

Il est proposé d'étudier certaines caractéristiques biochimiques, microbiologiques et toxicologiques de ce produit agroalimentaire.



1. BIOCHIMIE (37,5 points)

Le natto est composé d'environ 30% de glucides, 30% de protéines et 40% de lipides.

1.1. Les glucides du natto

Le natto contient des polyosides.

1.1.1. Définir le terme polyoside.

1.1.2. Donner un exemple en précisant sa composition et sa structure (aucune formule n'est demandée).

Le natto contient aussi des glucides monomères.

1.1.3. Donner un exemple avec sa formule développée cyclique en configuration α .

1.2. Les filaments du natto

Les filaments du natto sont composés d'acide polyglutamique, obtenu par polymérisation via des liaisons peptidiques (de type peptidique) entre les groupements α -aminé et γ -carboxylique de l'acide glutamique.

1.2.1. La chaîne latérale de l'acide glutamique correspond à la séquence: - (CH₂)₂ - COOH. Écrire la formule semi-développée de l'acide glutamique. Citer une propriété de l'acide glutamique, liée à sa chaîne latérale.

1.2.2. Construire une molécule d'acide polyglutamique, telle qu'elle existe dans le natto, comportant au moins trois molécules d'acide glutamique. Mettre en évidence les liaisons peptidiques.

Les filaments du natto sont utilisés industriellement pour la fabrication de films et de résines très résistants, mais biodégradables.

1.2.3. Citer un type d'enzyme qui pourrait être utilisé pour dégrader ces matériaux.

1.3. Les protéines et les lipides du soja

Les protéines du natto, comme les protéines du soja non fermenté, sont riches en acides aminés essentiels.

1.3.1. Définir le terme « acide aminé essentiel ». Donner un exemple.

Certaines protéines de soja se sont montrées efficaces pour abaisser le taux sanguin de LDL et de cholestérol total.

1.3.2. Donner la signification du sigle LDL.

1.3.3. Faire un schéma légendé d'une LDL. Expliquer la localisation de chaque type de molécule dans la LDL.

1.4. La nattokinase

1.4.1 Caractérisation de l'enzyme

La nattokinase est extraite du natto. Cette enzyme possède en particulier une activité fibrinolytique qui a été mise en évidence in vitro. Elle permet, plus ou moins directement, la dissolution des caillots de fibrine responsables de problèmes circulatoires (infarctus, attaque cérébrale...).

La nattokinase peut être comparée à l'urokinase, une enzyme extraite de l'urine humaine, actuellement utilisée en médecine par voie intra-veineuse pour ses propriétés fibrinolytiques.

L'urokinase porte le numéro de classification EC 3.4.21.73. ; celui de la nattokinase est EC 3.4.21.62.

1.4.1.1. Justifier le fait que ces deux enzymes catalysent des réactions chimiques similaires.

1.4.1.2. En utilisant l'annexe 1, décrire le plus précisément possible le type de réaction catalysée par l'urokinase et la nattokinase.

1.4.2. Calcul d'activité

La nattokinase commercialisée sous forme de gélules pourrait être prescrite aux personnes présentant un risque cardiovasculaire supérieur à la moyenne. On se propose de vérifier, in vitro, l'efficacité de la nattokinase.

Une solution de nattokinase (NK) est préparée à partir du contenu d'une gélule, dissout dans 250 mL de tampon sodium tétraborate: chaque gélule contient 50 mg de nattokinase, correspondant à 650 FU (unités d'activité fibrinolytique).

15 μ L de cette solution (NK) sont placés dans plusieurs puits d'une boîte de Petri contenant un milieu agarose-fibrinogène-thrombine (voir annexe 2a), puis la boîte est incubée 21 heures. La moyenne des diamètres des zones transparentes de fibrinolyse autour des puits est égale à 0,36 cm.

Parallèlement, on effectue une gamme-étalon en disposant 15 μ L de solution de plasmine de concentrations d'activité fibrinolytique allant de 0 à 10 FU/mL dans 6 puits d'une autre boîte de Petri contenant le même milieu. Après incubation, on obtient la courbe de l'annexe 2b.

1.4.2.1. Calculer la concentration d'activité fibrinolytique de la solution NK et l'activité fibrinolytique totale d'une gélule. Conclure.

1.4.2.2. Calculer l'activité spécifique de la nattokinase présente dans la gélule en FU/mg.

Le natto contient entre 20 et 30 FU/g.

1.4.2.3. Calculer le taux de purification de la nattokinase dans la gélule par rapport à la nattokinase présente dans le natto.

1.4.2.4. Calculer la quantité de natto qu'il est nécessaire d'absorber au petit déjeuner pour obtenir les mêmes effets que lors de l'absorption d'une gélule de nattokinase.

2. MICROBIOLOGIE (37,5 points)

2.1. Caractères morphologiques

La figure 1 de l'annexe 3 montre la photographie d'un champ microscopique après coloration de Gram, d'un frottis réalisé à partir d'un prélèvement de natto.

2.1.1. Décrire le champ observé.

2.1.2. Fournir un schéma annoté et orienté de la structure responsable de la coloration observée.

Ce germe peut persister longtemps dans le milieu environnemental, grâce à un phénomène particulier dont quelques étapes sont présentées sur la figure 2 de l'annexe 3.

2.1.3. Classer dans l'ordre chronologique les différentes étapes présentées.

2.1.4. Commenter ces étapes.

2.1.5. Annoter la figure correspondant à la dernière étape présentée.

2.1.6. Indiquer le nom et le principe d'une coloration spéciale permettant de visualiser ce phénomène.

2.2. Propriétés métaboliques

La consommation japonaise annuelle de natto est de 100 à 200 000 tonnes. Les fèves sont cuites à la vapeur dans des containers géants puis recouvertes d'une suspension de *Bacillus natto* pulvérisée et placées dans des conditions propices à la fermentation. Après fermentation, le natto est conservé au réfrigérateur jusqu'à utilisation par le consommateur.

2.2.1. Définir précisément le terme « fermentation ».

2.2.2. Dans le cas de *Bacillus natto*, la fermentation conduit, entre autres produits, à de l'éthanol. Écrire la réaction de formation d'éthanol à partir de l'acide pyruvique (formules demandées).

Bacillus natto produit aussi un polymère d'acide glutamique, constituant de sa capsule.

2.2.3. Préciser les rôles de la capsule bactérienne.

2.3. Attaque phagique de *Bacillus natto*

Certains phages Φ NIT1 ont la possibilité d'infecter les souches de *Bacillus natto*.

2.3.1. Donner la définition détaillée d'un phage. Indiquer les conséquences éventuelles de l'infection du germe, pour la production de natto.

La figure 1 de l'annexe 4 montre une électrographie d'un phage de *Bacillus*.

2.3.2. Retranscrire les lettres A', B', C', D', A'+B' sur la copie et nommer les structures désignées.

Pour étudier l'action des phages sur *Bacillus*, l'expérience suivante est réalisée : quatre flacons de milieu de culture adapté sont ensemencés de la façon suivante

milieu 1: souche de *Bacillus* non capsulées,

milieu 2 : souche de *Bacillus* capsulées,

milieu 3 : souche de *Bacillus* non capsulées,

milieu 4: souche de *Bacillus* capsulées.

Au temps t_0 , on inocule à raison de 10^4 UFP/mL :

les flacons 1 et 2 : avec des phages Φ NIT1,

les flacons 3 et 4: avec des phages BS5.

Pendant l'incubation aux différents temps indiqués sur les courbes de la figure 2 de l'annexe 4, les phages sont numérotés dans chacun des flacons par la technique des plages de lyse.

2.3.3. Donner le principe de cette technique.

2.3.4. Les graphes A et B présentent le nombre d'unités formant plage de lyse (UFP) en fonction du temps.

Analyser les courbes 1 et 2 du graphe A, ainsi que les courbes 3 et 4 du graphe B, de la figure 2 de l'annexe 4. Émettre des hypothèses expliquant l'action des différents phages.

3. TOXICOLOGIE (25 points)

3.1. Production et processus d'intoxication

Le soja peut être contaminé par des moisissures du genre *Fusarium* capables de produire un métabolite secondaire présentant un risque pour le consommateur: la zéaralénone.

3.1.1. Donner le nom de ce type de métabolite secondaire toxique et préciser les facteurs favorisant sa production.

La zéaralénone pénètre facilement dans l'organisme des mammifères où elle subit diverses conversions métaboliques. Certains produits de réduction, notamment le zéaralénol, sont biologiquement plus actifs que la zéaralénone.

3.1.2. Citer et définir les trois phases classiquement décrites du processus d'intoxication.

3.1.3. Citer la phase concernée par la transformation de la zéaralénone en zéaralénol et donner le nom de ce phénomène.

3.2. Effets toxicologiques

La zéaralénone et ses dérivés agissent en se fixant de façon compétitive sur les récepteurs intracellulaires des oestrogènes (hormones sexuelles stéroïdes). Ils favorisent la synthèse d'ARN et de protéines ainsi que la prolifération cellulaire ce qui augmente la masse des organes.

3.2.1. Citer les deux principaux effets toxicologiques résultant du mécanisme d'action de la zéaralénone et de ses dérivés.

La zéaralénone et ses dérivés possèdent une très faible toxicité aiguë.

3.2.2. Donner la définition de «toxicité aiguë ». Indiquer les conditions expérimentales permettant de réaliser une étude de toxicité aiguë. Préciser les paramètres que l'on peut déterminer par une telle étude.

Par ailleurs, il a été mis en évidence que la zéaralénone et ses dérivés ne sont pas génotoxiques mais cancérigènes chez l'animal. Ce sont donc des cancérigènes incomplets.

3.2.3. Définir les termes «génotoxique » et « cancérigène ». Citer les deux catégories de cancérigènes incomplets. Indiquer, en justifiant la réponse, à quelle catégorie appartiennent la zéaralénone et ses dérivés.

Une approche proposée pour l'estimation de la DJT de la zéaralénone chez l'homme est basée sur l'extrapolation de la DSEH (Dose Sans Effet Hormonal) obtenue chez la guénon avec un coefficient de sécurité de 100.

3.2.4. Donner la signification et la définition du terme «DJT ». Définir le coefficient de sécurité. Calculer la DJT de la zéaralénone sachant que la DSEH obtenue chez la guénon est de $50 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

Outre le soja, d'autres aliments, notamment certaines céréales, peuvent également être contaminés par la zéaralénone.

3.2.5. Calculer la limite maximale de résidus (LMR) pour ces aliments, sachant que la masse moyenne d'un être humain est de 70 kg et que sa consommation moyenne journalière est de 250 g.

3.2.6. Citer le nom d'une technique immunologique utilisée en routine pour quantifier les produits toxiques tels que la zéaralénone.

ANNEXE 1: CLASSIFICATION ENZYMATIQUE

EC 3.4.21 Sérine endopeptidases

- EC 3.4.21.1 chymotrypsine
- EC 3.4.21.2 chymotrypsine C
- EC 3.4.21.3 métridine
- EC 3.4.21.4 trypsine
- EC 3.4.21.5 thrombine
- EC 3.4.21.6 Facteur de coagulation Xa
- EC 3.4.21.7 plasmine

En biochimie, les sérine protéases ou sérine endopeptidases (nom le plus récent) appartiennent à une classe de peptidases caractérisée par la présence d'un résidu sérine dans le site actif de l'enzyme. Les sérine protéases sont présentes dans de nombreuses fonctions de l'organisme, comme la coagulation sanguine et l'inflammation. Elles agissent aussi en tant qu'enzymes digestives, aussi bien chez les procaryotes que chez les eucaryotes.

- ...
- EC 3.4.21.62 subtilisine (nattokinase)
- EC 3.4.21.63 oryzine
- EC 3.4.21.64 endopeptidase K
- EC 3.4.21.65 thermomycoline
- EC 3.4.21.66 thermitase
- EC 3.4.21.67 endopeptidase So
- EC 3.4.21.68 activateur du t-plasminogène
- EC 3.4.21.69 protéine C (activée)
- EC 3.4.21.70 endopeptidase pancréatique E
- EC 3.4.21.71 élastase II pancréatique
- EC 3.4.21.72 sérine endopeptidase spécifique des Ig-A
- EC 3.4.21.73 activateur du plasminogène (urokinase)

Classe 3. Les hydrolases

Ces enzymes catalysent la rupture par hydrolyse des liaisons C-O, C-N, C-C et quelques autres, y compris des liaisons ester phosphorique.

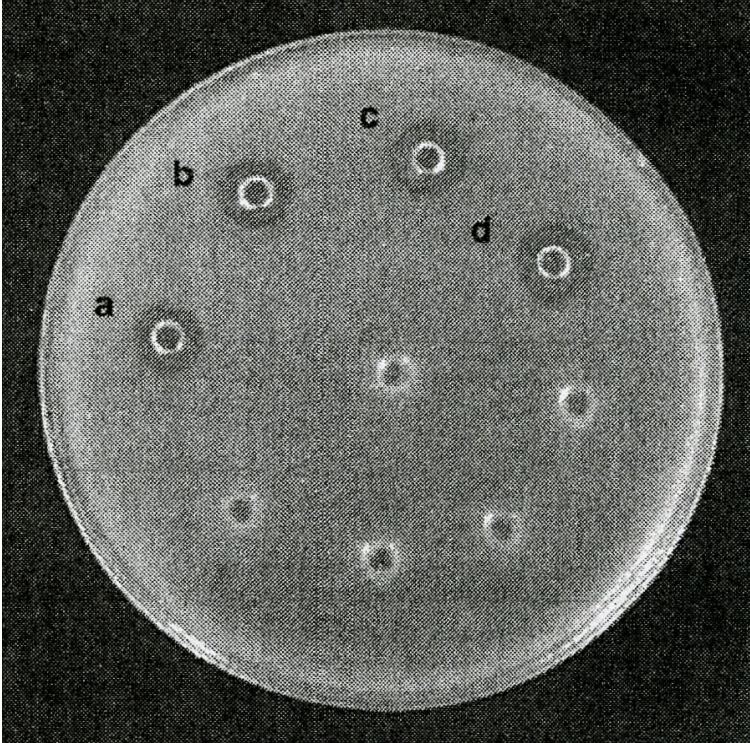
Le second nombre du numéro de code des hydrolases (sous classe), indique la nature de la liaison hydrolysée ; EC 3.1 sont les estérases; EC 3.2 les glycosylases, etc.

Le troisième nombre précise normalement la nature du substrat: par exemple chez les estérases, les hydrolases d'esters carboxyliques (EC 3.1.1), les thioester-hydrolases (EC 3.1.2), les hydrolases de monoesters phosphoriques (EC 3.1.3); Chez les glycosylases, les O-glycosidases (EC 3.2.1), N-glycosylases (EC 3.2.2), etc. Dans le cas des peptidyl-peptides hydrolases, le troisième nombre est basé sur le mécanisme catalytique (c'est le cas pour les sérine-endopeptidases).

ANNEXE 2 : MESURE DE L'ACTIVITÉ FIBRINOLYTIQUE

La mesure de l'activité catalytique se fait en boîtes d'agarose contenant du fibrinogène et de la thrombine. Le fibrinogène est converti en fibrine sous l'action de la thrombine. La fibrine forme rapidement un réseau opalescent dans lequel sont creusés des puits de dépôt (annexe 2a).

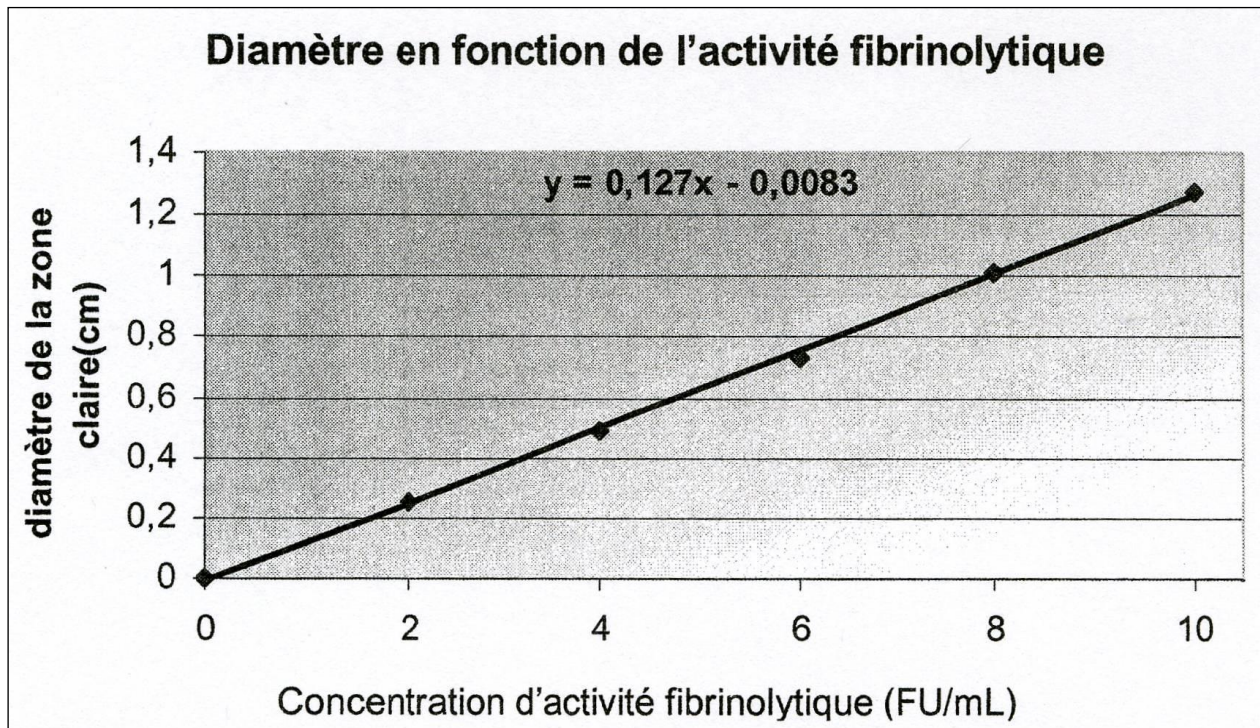
Les solutions dont on veut mesurer l'activité fibrinolytique sont déposées dans les puits, et la boîte est incubée à 37°C pendant 21 heures. La concentration d'activité fibrinolytique de la solution déposée est proportionnelle au diamètre de la zone de fibrinolyse (la zone claire autour du puits, voir annexe 2a).



a- Boîte de Petri avec réseau de fibrine

L'activité fibrinolytique est proportionnelle au diamètre de fibrinolyse (espace transparent) autour du puits. On établit une gamme-étalon à partir de solutions de plasmine de concentration d'activité catalytique connue.

b- Droite d'étalonnage



ANNEXE 3 À RENDRE AVEC LA COPIE

Figure 1 : Observation microscopique de *Bacillus natto* après coloration de Gram (coloration violette)

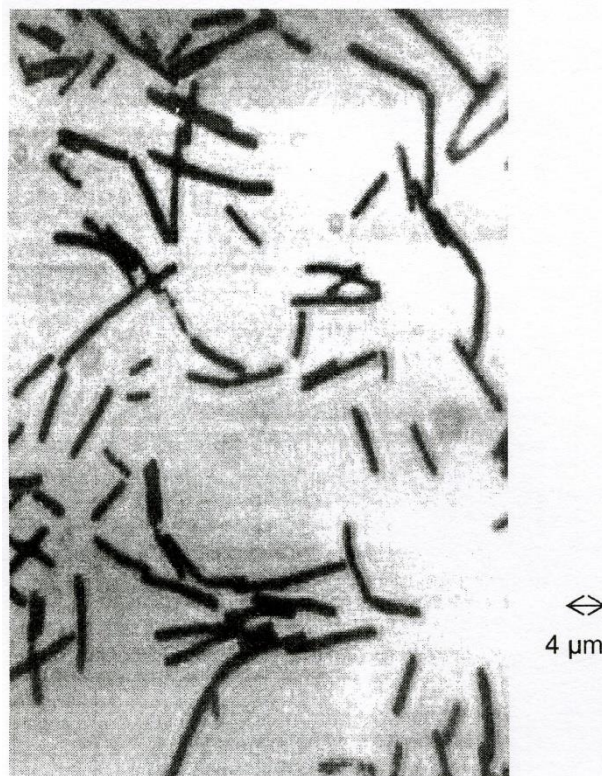
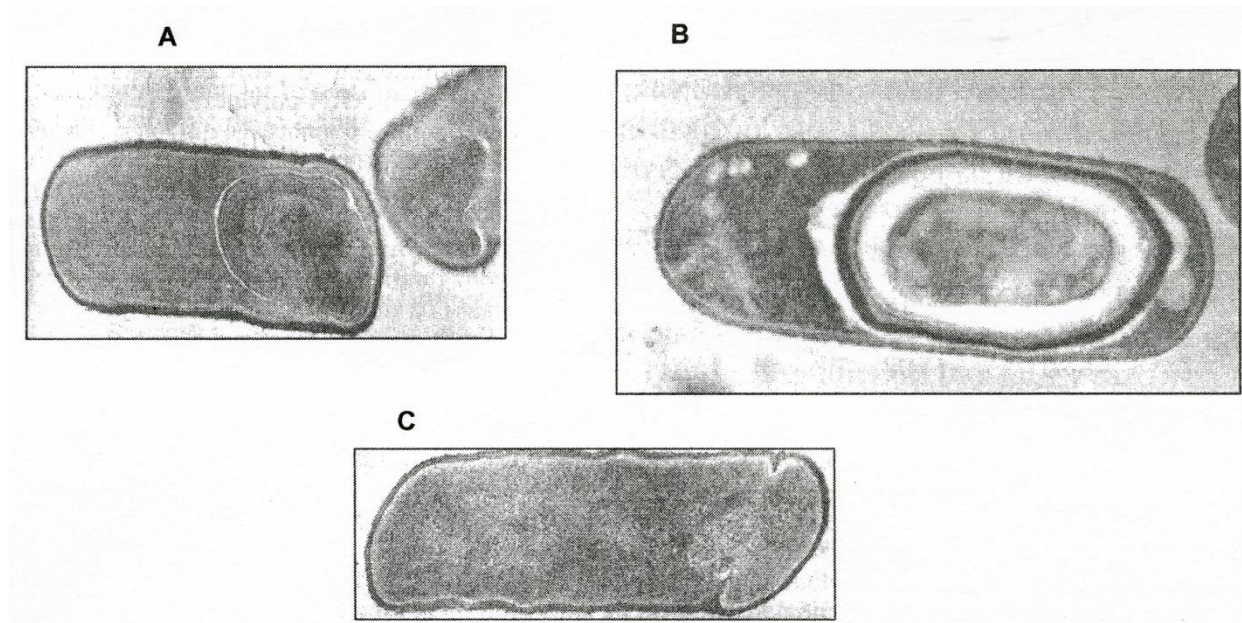


Figure 2 : électronographies de *Bacillus natto*



ANNEXE 4

Figure 1 : électronographie d'un phage de *Bacillus*

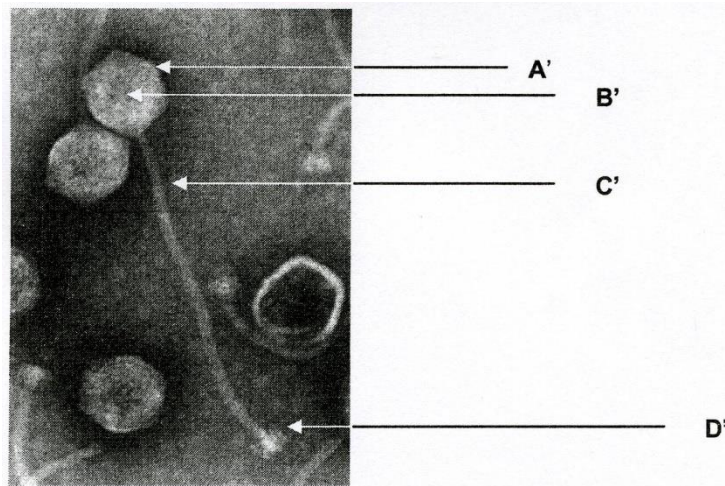
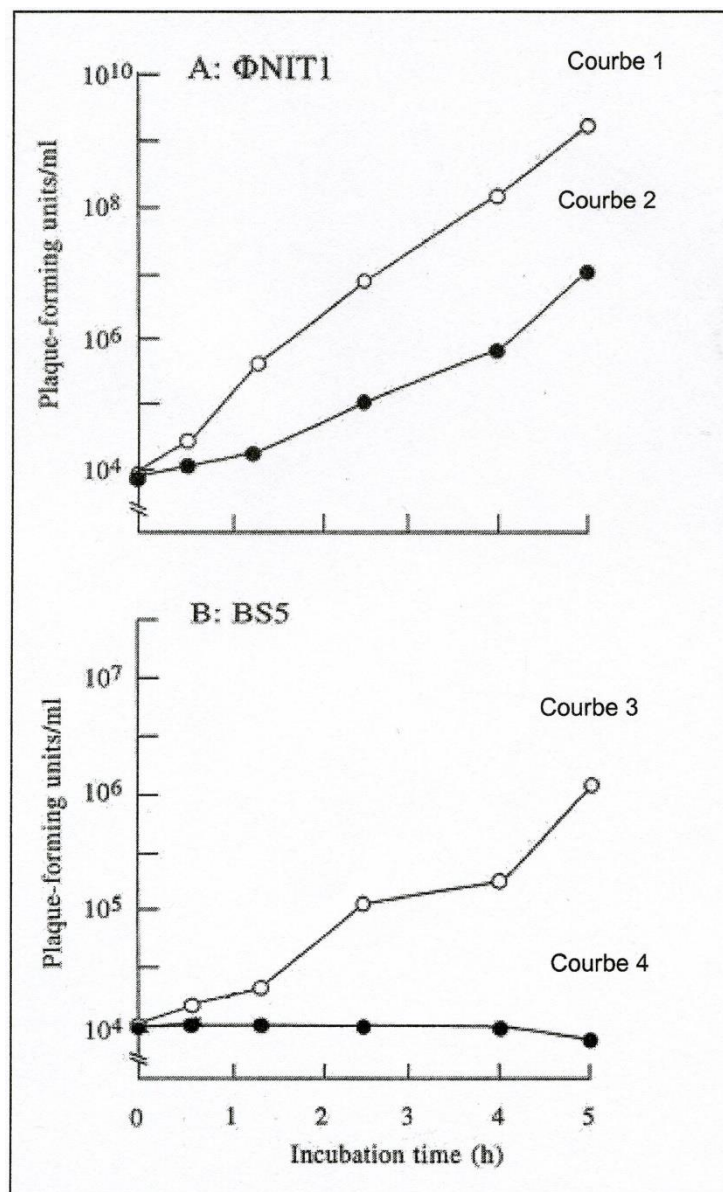


Figure 2 : action de différents phages sur les souches de *Bacillus*



Durée: 4 heures Coefficient : 5
Calculatrice autorisée

ÉTUDE D'UNE QUENELLE DE VOLAILLE

La quenelle est une préparation à base d'oeuf et de farine dans laquelle peuvent être incorporés du poisson ou de la volaille finement broyés. C'est un produit traditionnel de l'univers «traiteur ». Les deux modes de présentation les plus courants sont les quenelles fraîches emballées sous vide ou les quenelles appertisées avec sauce.

PREMIÈRE PARTIE: SCIENCES DES ALIMENTS (50 points)

L'annexe 1 reproduit la liste des ingrédients d'une quenelle de volaille et l'annexe 2 reprend le diagramme de fabrication.

1. ÉTUDE DE QUELQUES INGRÉDIENTS

1.1. L'oeuf (21 points)

L'oeuf est un ingrédient très intéressant pour ses propriétés organoleptiques, nutritionnelles et surtout fonctionnelles. Les « oeufs » utilisés ici peuvent être des ovoproduits liquides pasteurisés, concentrés ou congelés.

1.1.1. Donner la définition d'un ovoproduit.

1.1.2. Comparer sous forme d'un tableau les avantages et les inconvénients de l'oeuf entier liquide pasteurisé et de l'oeuf entier congelé.

1.1.3. Le blanc d'oeuf est une solution aqueuse de protéines, de glucides et de minéraux. Citer trois protéines du blanc d'oeuf.

1.1.4. Les protéines du blanc d'oeuf ont une valeur biologique très élevée, mais un coefficient d'utilisation digestive (CUD) faible si l'oeuf est cru.

Expliciter les termes « valeur biologique » et « CUD ». Expliquer la faible valeur de ce dernier paramètre pour le blanc d'oeuf cru.

1.1.5. Donner les deux propriétés fonctionnelles des protéines du blanc d'oeuf

1.1.6. Le jaune d'oeuf a une composition plus complexe que le blanc. Citer les principaux composants de la matière sèche du jaune.

1.1.7. Les composants de la matière sèche du jaune d'oeuf sont associés pour former des lipoprotéines. Donner le nom de celles rencontrées dans le jaune d'oeuf.

1.1.8. D'après les réponses aux questions précédentes et le diagramme de l'annexe 2, justifier l'intérêt technologique de l'oeuf entier dans les quenelles.

1.2. La chair de volaille (12 points)

Le fabricant incorpore de la chair de poulet à la panade.

Les cellules musculaires d'un muscle de volaille ont une structure très voisine de celles du muscle de mammifère; en particulier elles contiennent les mêmes protéines myofibrillaires.

1.2.1. Donner le nom des principales protéines myofibrillaires et expliquer au moyen d'un schéma leurs inter-relations.

1.2.2. Indiquer les phénomènes biochimiques se produisant au niveau des sarcoplasmes et des protéines myofibrillaires juste après la mort de l'animal.

1.2.3. La chair de poulet ou de dinde est rosée, alors que la chair des oiseaux sauvages est plus foncée. Expliquer cette différence de couleur.

1.2.4. Montrer l'intérêt technologique d'incorporer aux quenelles de la chair d'origine animale.

1.2.5. La chair de poulet broyée ici est obtenue par découpe de carcasses après abattage. Pour les industries de transformation, des carcasses reconnues propres à la consommation humaine, mais présentant des défauts suffisants pour les exclure de la vente directe au consommateur, sont utilisées de préférence. Citer trois défauts visuels possibles d'une carcasse de volaille, liés aux opérations d'abattage.

1.2.6. Au lieu d'utiliser du maigre de poulet, le fabricant peut incorporer à la panade de la viande séparée mécaniquement (VSM), hachis obtenu à partir de cous, de dos, de poitrines ou d'ailes et comportant éventuellement des traces d'os.

Commenter ce choix.

La fabrication de VSM est interdite à partir du boeuf. Justifier.

1.3. La matière grasse (6 points)

1.3.1. L'huile de palme a une température de fusion commençante voisine de 35°C, alors que celle de l'huile de colza est de -10°C.

Décrire l'état de ces deux huiles à 15°C.

La différence d'état physique est liée à une différence de composition des triglycérides constitutifs de ces huiles. Expliciter la relation existant entre la composition des triglycérides et la texture du corps gras.

1.3.2. L'huile de palme utilisée ici est hydrogénée.

Décrire l'hydrogénation d'une huile.

Présenter les intérêts et les inconvénients de ce traitement en envisageant les aspects fonctionnels et nutritionnels.

2. ÉTUDE DU PROCÉDÉ DE FABRICATION ET DE LA QUALITÉ DU PRODUIT (11 points)

2.1. Expliquer l'évolution de la structure biochimique des constituants principaux des ingrédients (viandes, oeufs, farine) lors du pochage.

2.2. Montrer l'intérêt du conditionnement sous-vide.

2.3. La quenelle étudiée est une quenelle de moyenne gamme. Il existe des quenelles Label Rouge, dont quelques impératifs du cahier des charges sont spécifiés dans l'annexe 3. Comparer les données de l'annexe 1 aux exigences du Label Rouge. Justifier la présence des protéines de lait dans le produit étudié.

2.4. Ce type de produit porte une DLC.

Dans la liste des ingrédients, citer les deux ingrédients les plus «à risque » du point de vue microbiologique. Justifier la nécessité d'une DLC.

DEUXIÈME PARTIE: GÉNIE INDUSTRIEL (50 points)

1. HACHAGE DE LA VIANDE ET CUTTERAGE (12 points)

1.1. Le schéma du hachoir est fourni en annexe 4 . Indiquer les légendes correspondant aux lettres V, T, C, G.

Expliquer son fonctionnement en précisant les parties fixes et mobiles. Indiquer comment on peut améliorer la finesse du hachage lors du montage du hachoir.

1.2. La cutter, suite au hachage, est utilisée pour l'étape de mélange et de foisonnement dans cette fabrication.

Par ailleurs la cutter peut servir aussi pour hacher de la viande. Comparer l'utilisation d'un hachoir et d'une cutter.

1.3. Les pertes au hachage sont estimées à 10 % (pourcentage massique). La cutter utilisée pour l'étape de mélange et de foisonnement a une taille de cuve de 100 L, avec un taux de remplissage de 75 %.

Calculer la masse de viande à hacher au hachoir pour remplir la cutter, sachant que le pourcentage de viande à atteindre dans la mêlée est de 13 %.

Donnée : la masse volumique supposée de la mêlée est égale à 1000 kg.m⁻³.

2. CONCENTRATION DE L'OEUF ENTIER (24 points)

Lors de certaines fabrications, l'utilisation d'oeuf concentré est préférée à l'incorporation d'oeufs entiers.

2.1. Définir la concentration et indiquer ses principaux buts. Justifier l'ajout du sel ou du sucre dans certains produits concentrés.

2.2. L'ultrafiltration est la technique la plus utilisée pour concentrer les ovoproduits et l'oeuf entier. Présenter le principe de l'ultrafiltration. Schématiser une installation d'ultrafiltration en indiquant les différents éléments. Expliquer pourquoi ce procédé est peu dénaturant.

2.3. Indiquer l'évolution du débit de perméat lors d'une opération d'ultrafiltration. Présenter l'influence de la température sur ce débit. Justifier la réponse.

Expliquer pourquoi l'ultrafiltration devient impossible pour de l'oeuf entier si le pourcentage de matières sèches dépasse 50 %.

2.4. L'oeuf entier contient 74 % d'eau. On désire concentrer 100 kg d'oeuf entier à 45 % de matières sèches. Le pourcentage de matières sèches du perméat est constant lors de l'opération et égal à 3 %.

Calculer, en établissant des bilans, la masse d'oeuf entier concentré à atteindre.

2.5. Il est possible de concentrer l'oeuf par évaporation sous vide. Comparer le contenu du concentré obtenu avec celui obtenu par ultrafiltration. Pourquoi est-il préférable de travailler sous vide? Une installation est schématisée sur l'annexe 5. De quel type d'évaporateur s'agit-il? Expliquer les notions de double effet et de recompression de vapeur.

3. APPERTISATION DE QUENELLES (14 points)

Les quenelles peuvent être appertisées dans des boîtes métalliques de format 1/2 avec un liquide de couverture très chaud.

3.1. Expliquer pourquoi l'étape de sertissage est une étape critique de la fabrication

3.2. Tracer sur l'annexe 6 (à rendre avec la copie), la courbe donnant l'évolution de la pression dans une boîte lors d'un cycle d'autoclavage, dans un autoclave sans système de surpression régulée. Indiquer les phases de surpression interne et les risques correspondants.

3.3. Après avoir rappelé la définition de la valeur stérilisatrice, calculer la valeur stérilisatrice en minutes lors de l'appertisation de quenelles à partir de l'enregistrement donné dans l'annexe 7.

Données : $T^* = 121,1^\circ\text{C}$

$z = 10^\circ\text{C}$

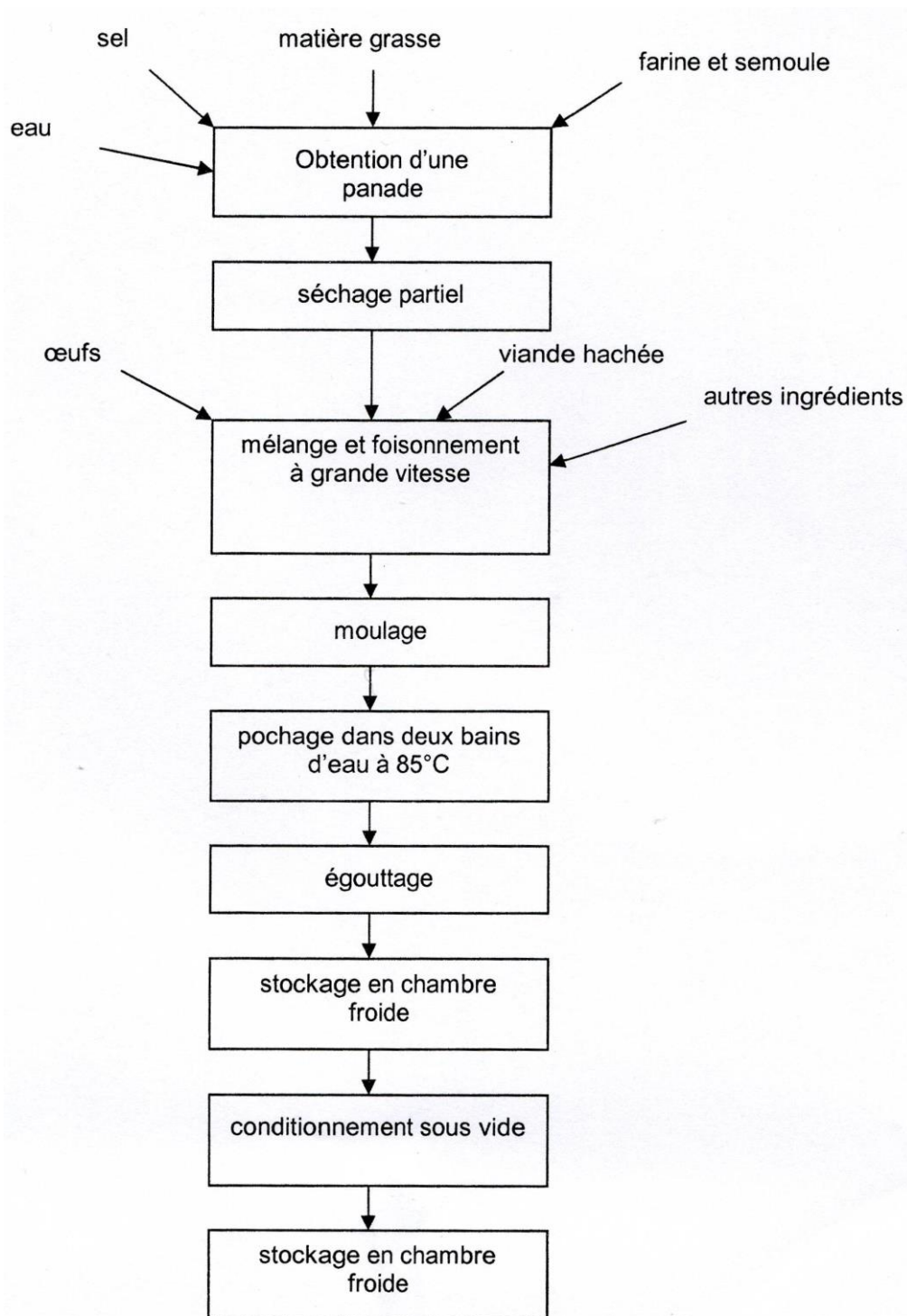
$t^* = 1 \text{ min}$

ANNEXE 1

Ingrédients :

- oeufs entiers 20%,
- eau,
- farine de blé,
- chair de poulet 13%,
- matière grasse végétale hydrogénée (palme),
- semoule de blé dur,
- lactose,
- protéines de lait,
- sel,
- arômes,
- poudre de lait écrémé.

ANNEXE 2 : Diagramme de fabrication

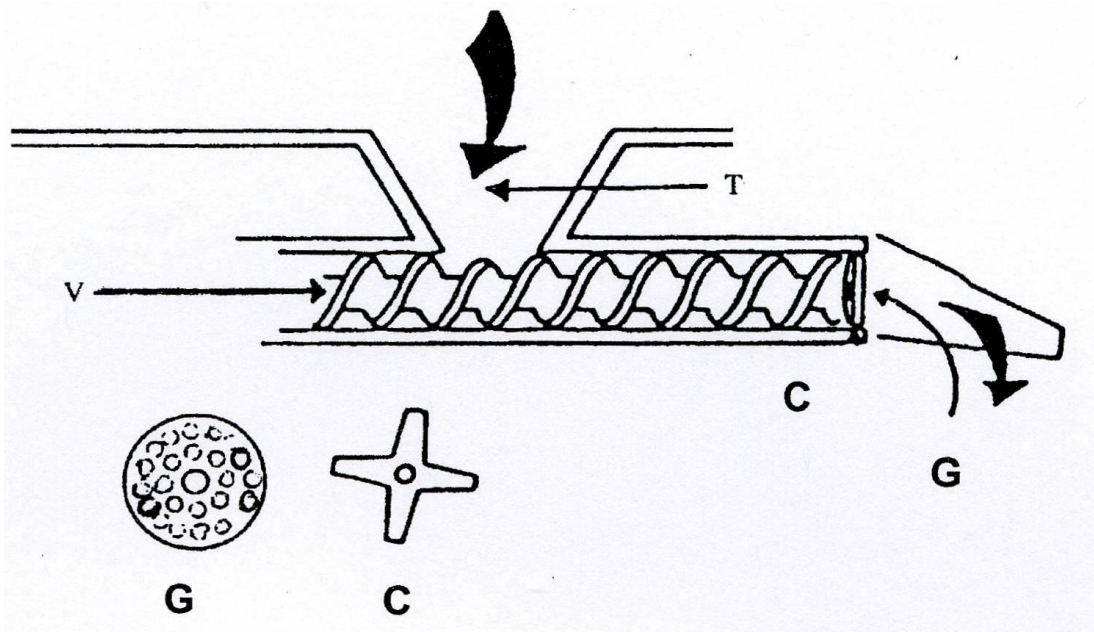


ANNEXE 3

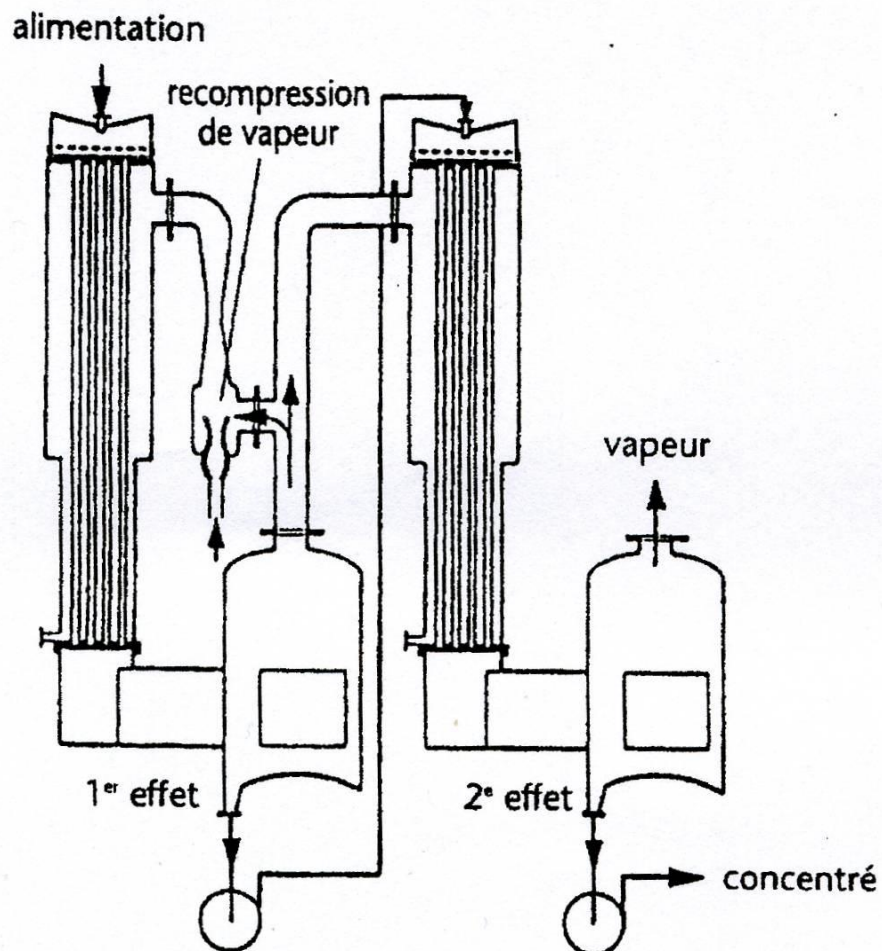
Caractéristiques essentielles des quenelles de volaille Label Rouge

- Volaille 18 % minimum
- Œufsfrais entiers 25 % minimum
- Beurre, à l'exclusion de toute autre matière grasse
- Additions de lactoprotéines et d'arômes interdites

ANNEXE 4 : Schéma d'un hachoir

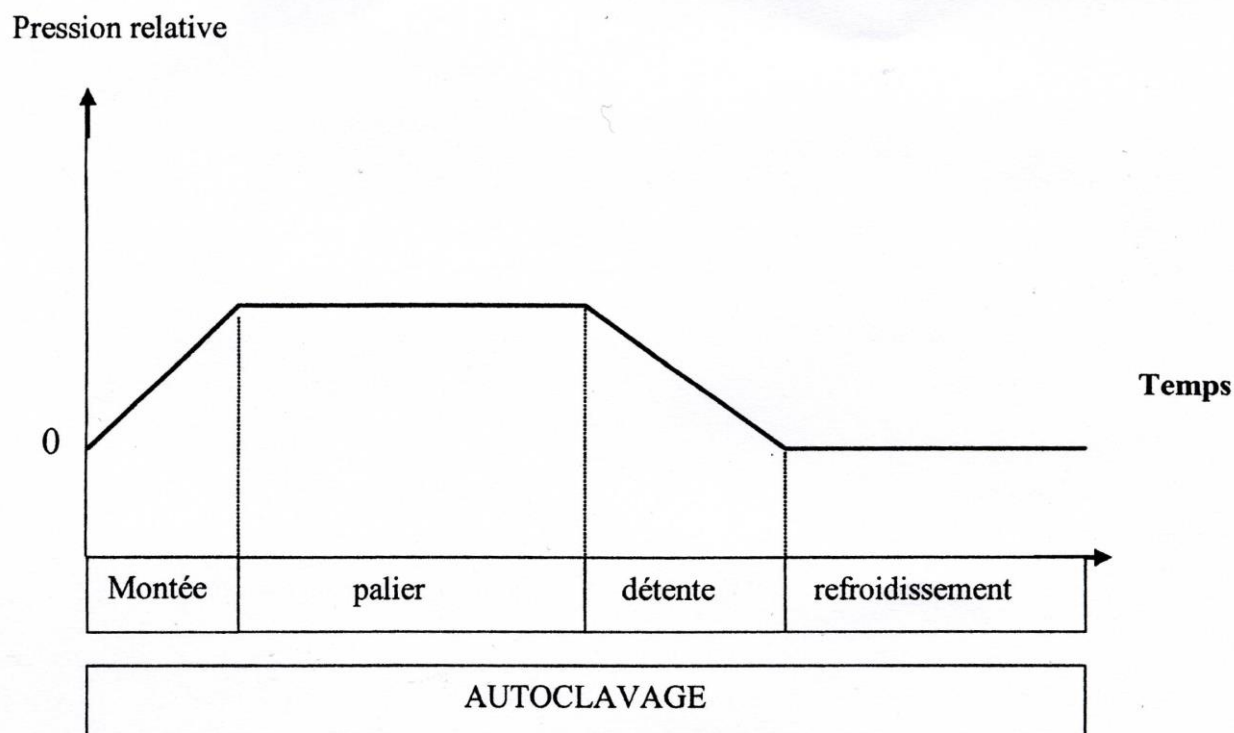


ANNEXE 5 : Évaporateur à double effet à recompression de vapeur



ANNEXE 6 : Variation de la pression relative dans l'autoclave au cours d'un cycle

À compléter et à rendre avec la copie



ANNEXE 7 : Enregistrements des températures données par une sonde placée dans l'autoclave et une sonde placée dans une boîte autoclavée

Temps (en min)	Température ambiante (en °C)	Température à coeur (en °C)
0	30	45
4	60	55
8	90	80
12	122	115
16	123	120
20	122	121
24	123	122
28	123	122
32	80	105
36	60	80
40	30	60

Durée : 6 heures Coefficient : 3

Les calculatrices de poche sont autorisées conformément à la circulaire n°99-186 du 16 novembre 1999

Tout autre document est interdit.

Sujet B : ÉTUDE D'UNE CRÈME GLACÉE RHUM RAISIN

Premier jour : 4 h 30

Lors de la fabrication industrielle de la glace de consommation, on mélange du lait ou des produits laitiers, des jus de fruit, des émulsifiants et des stabilisants, avec éventuellement des matières grasses et des produits à base d'oeuf. Cette mixture de base (« mélange » ou « mix ») est pasteurisée, homogénéisée et stockée pendant quelques heures au froid pour arriver à maturation. Des arômes et des colorants ainsi que des petits morceaux de fruits sont ajoutés ; le mélange est placé en appareil de congélation pour faire descendre sa température entre -5 et -10 °C. On obtient une masse se prêtant à l'aspiration et au dosage, dans laquelle on injecte de l'air en fine dispersion. On peut incorporer ensuite à cette masse partiellement congelée des ingrédients à gros grains, en morceaux, en bouillie ou sirupeux, que ce soit juste avant, pendant ou après le préconditionnement. Une fois coulée dans les préemballages, la glace est soumise à la dernière phase de congélation (entre -20 et -40°C) dans des installations frigorifiques.

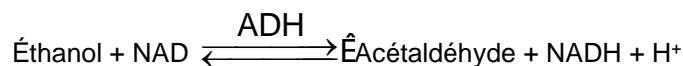
Différents contrôles biochimiques et microbiologiques permettent de vérifier la qualité d'une crème glacée.

1. DÉTERMINATION DE L'ÉTHANOL PAR VOIE ENZYMATIQUE (9,5 points)

Lors de la fabrication d'une crème glacée à la vanille, les raisins macèrent longuement dans du rhum avant d'être ajoutés au mix. Dans le cadre d'un autocontrôle en cours de fabrication, la détermination du taux d'éthanol dans la glace est effectuée afin de vérifier le bon dosage de spiritueux dans le mix.

1.1. Principe

L'éthanol de la glace est extrait avec de l'eau. La solution obtenue est clarifiée avec une solution de Carrez I et II. Sa concentration est déterminée par voie enzymatique : l'éthanol est oxydé en acétaldéhyde par la nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) sous l'action de l'enzyme alcool-déshydrogénase (ADH).



L'équilibre de la réaction tend vers la formation de l'éthanol. En choisissant des conditions adéquates, l'équilibre est déplacé dans le sens de formation de l'acétaldéhyde (NDLR : Éthanal).

1.2. Matériels et réactifs

1.2.1 Matériel

- Spectrophotomètre, réglé sur 340 nm
- Macrocuves jetables, d'épaisseur 1 cm
- Micropipettes 20- 1000 µL

1.2.2 Réactifs

Kit de test enzymatique pour la détermination de l'éthanol comprenant:

- réactif 1 : Tampon Glycylglycine, pH 10,0 (solution prête à l'emploi).
- réactif 2 : NAD et alcool-deshydrogénase (solution prête à l'emploi).

Filtrat à doser, noté « filtrat »

1.3. Mode opératoire

1.3.1 Préparation de l'échantillon (déjà effectuée)

Prélever exactement 5,0 g d'échantillon préparé conformément aux prescriptions (fondu et homogénéisé) dans un ballon gradué de 100 mL.

- ajouter environ 60 mL d'eau, bien fermer le ballon gradué avec un bouchon et une bride de fixation ou installer un tube ascendant de montée et bien mélanger.
- extraire pendant 15 minutes au bain thermostaté à 50 °C, en agitant de temps à autre.
- refroidir jusqu'à 20°C, ajouter respectivement 2 mL de solutions de Carrez I et II bien mélanger chaque fois.
- avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,2 mol/L, neutraliser au pH 7,0 - 7,5 et remplir d'eau jusqu'au repère.
- filtrer à travers un filtre à plis. On obtient ainsi un filtrat.
- récupérer le filtrat dans une fiole jaugée et compléter à $V_f = 1$ L. Cette solution est appelée « Filtrat complété ».

1.3.2. Dosage

Réaliser le dosage du filtrat sur un blanc et 2 essais conformément au protocole suivant :

Introduire dans la cuve:	Blanc	Essai
Réactif 1 (µL)	2000	2000
Échantillon (µL)	0	100
H ₂ O (µL)	100	0
Fermer les cuves avec du parafilm, mélanger, incuber pendant 3 minutes à température ambiante, lire l'absorbance A1 à 340 nm contre l'air, puis ajouter		
Réactif 2 (µL)	500	500
Fermer les cuves avec du parafilm, mélanger, attendre la fin de la réaction (environ 15 minutes) et lire l'absorbance A2 à 340 nm contre l'air.		

1.4. Résultats et compte rendu

Compléter le tableau de l'annexe 1.

Soit la relation C_f (mmol.L⁻¹) = 4,127 x ΔAE : justifier le coefficient multiplicateur 4,127.

Calculer la concentration molaire puis la concentration massique en éthanol dans le filtrat complété.

Déterminer le pourcentage massique en éthanol dans la crème glacée.

Exprimer le résultat en utilisant l'annexe 2.

Sachant que le produit est conforme s'il ne dépasse pas 1% m/m d'éthanol, conclure sur sa conformité.

Données

$\epsilon_{\text{NADH } 340 \text{ nm}} = 6300 \text{ L. mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

Masse molaire de l'éthanol = 46 g.mol⁻¹

Coefficient de variation de répétabilité : $cv = 3 \%$

Coefficient de variation de reproductibilité : $i = 4,5 \%$

Annexe 2 : validation et expression d'un résultat

2. DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN PROTÉINES PAR LA MÉTHODE KJELDAHL (15,5 points)

La composition nutritionnelle pour 100 g de crème glacée est spécifiée par étiquetage : Protéines 2,8 g, Glucides 25,2 g, Lipides 8,2 g.

On cherche à vérifier la conformité de ces indications en déterminant la teneur en azote du produit. Pour calculer le pourcentage de protéines à partir de la teneur en azote, on utilise le facteur 6,25.

2.1. Principe

L'échantillon est minéralisé avec de l'acide sulfurique et un catalyseur; le sulfate d'ammonium résultant est libéré avec de la soude caustique, sous forme d'ammoniaque. L'ammoniaque est distillé au moyen de vapeur d'eau dans un récipient contenant de l'acide sulfurique en excès. L'acide sulfurique restant est ensuite dosé.

2.2. Matériel et réactifs

2.2.1 Matériel

Automate de distillation

2.2.2 Réactifs

Deux matras de minéralisation notés « Minéralisat ».

Acide sulfurique à environ $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$

Hydroxyde de sodium : la concentration est précisée par le centre d'examen

Flacon d'hydrogencarbonate de potassium en poudre pur et anhydre

2.3. Mode opératoire

2.3.1 Étalonnage de la solution d'acide sulfurique à environ $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$

- Peser exactement une masse m d'hydrogencarbonate de potassium voisine de $0,1 \text{ g}$.
- Introduire cette pesée dans une fiole d'Erlenmeyer et dissoudre avec environ 30 mL d'eau désionisée.
- Ajouter quelques gouttes d'hélianthine.
- Doser par la solution d' H_2SO_4 à étalonner. Réaliser 2 essais concordants.

2.3.2 Minéralisation (déjà effectuée)

La minéralisation a été effectuée sur une prise d'essai de $1,5 \text{ g}$ de crème glacée en présence d'acide sulfurique à 98% et d'un comprimé de catalyseur.

Le minéralisat noté « Minéralisat » est présenté dans le matras de minéralisation.

On dispose de 2 essais.

2.3.3 Alcalinisation du minéralisat et déplacement de l'ammoniac

L'entraînement à la vapeur se fera soit à l'aide d'un distillateur automatique soit avec un appareillage classique. Le distillat est récupéré dans un excès d'acide sulfurique.

Pour cela, préparer une fiole d'Erlenmeyer contenant :

- 20 mL de solution d'acide sulfurique à environ $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$,
- 25 mL d'eau désionisée.

Effectuer la manipulation sur les 2 essais.

2.3.4 Dosage de l'excès d'acide sulfurique

L'acide sulfurique en excès est dosé par la solution d'hydroxyde de sodium en présence de bleu de bromothymol.

2.4. Résultats et compte rendu

Déterminer la concentration en mol.L^{-1} de la solution d'acide sulfurique.

Déterminer n_N , le nombre de moles d'azote présentes dans le matras de minéralisation.

Établir la relation littérale donnant la teneur en azote en mg.g^{-1} de la crème glacée analysée.

Calculer cette teneur en azote. Calculer la teneur en protéine en $\text{g}/100 \text{ g}$ de crème glacée. Conclure.

Données

Masse molaire de l'hydrogencarbonate de potassium = $100,1 \text{ g.mol}^{-1}$

Étalonnage de l'acide sulfurique:

Coefficient de variation de répétabilité : $cv = 1 \%$

U_c (fournie par le centre)

Dosage par la méthode de Kjeldahl

Coefficient de variation de répétabilité : $cv = 3 \%$

U_c (fournie par le centre)

Masse molaire atomique de l'azote = 14 g.mol^{-1}

3. COMPARAISON DE DEUX MÉTHODES DE DÉNOMBREMENT DE CONTAMINANTS (21 points)

L'élaboration de la crème glacée rhum-raisin demande d'introduire de la crème liquide pasteurisée. Un dénombrement de contaminants est réalisé sur cette matière première.

La méthode utilisée jusqu'à présent par le laboratoire consistait à dénombrer les coliformes par ensemencement dans la masse d'un milieu VRBL (Annexe 3) avec double couche, puis à isoler voire à identifier les colonies suspectes.

Dans le cadre de la mise en place du paquet hygiène, la nouvelle méthode prévoit le dénombrement de *E. coli* dans la masse d'un milieu TBX sans double couche (Annexe 3).

Les résultats obtenus sont 100 fois supérieurs à la norme.

Données : critères microbiologiques pour la crème pasteurisée

Coliformes selon arrêté ministériel du 14/01/80	<i>E. coli</i> selon règlement n°2073/2005 du paquet hygiène
10 UFC par gramme	10 UFC par gramme

On se propose d'évaluer la contamination de la crème liquide pasteurisée par ces deux méthodes.

3.1. Matériel et réactifs

Un échantillon de crème pasteurisée noté « crème pasteurisée » maintenu au froid (à demander à l'examineur).

Environ 100 mL de milieu TBX en surfusion, noté « TBX » (à demander à l'examineur)

Environ 100 mL de milieu VRBL en surfusion, noté « VRBL » (à demander à l'examineur)

Environ 50 mL de milieu TBX en surfusion, noté « TBX »

Environ 50 mL de milieu VRBL en surfusion, noté « VRBL »

3 tubes de 9 mL d'eau physiologique stérile

7 pipettes de 1 mL stériles ou équivalent

12 boîtes de Petri vides stériles

3.2. Préparation des dilutions

Déterminer les trois dilutions successives à réaliser, afin de déterminer le taux de contamination de la crème liquide pasteurisée.

Réaliser les dilutions.

Montrer la réalisation d'une dilution à un examinateur.

Justifier par écrit le choix des dilutions testées.

3.3. Ensemencements

Milieu VRBL

Réaliser l'ensemencement des trois dilutions successives nécessaires au dénombrement des coliformes et effectuer deux essais par dilution.

Milieu TBX

Réaliser l'ensemencement des trois dilutions successives nécessaires au dénombrement des *E. coli* et effectuer deux essais par dilution.

Préciser le temps et la température d'incubation des milieux.

4. IDENTIFICATION D'UN CONTAMINANT (4 points)

Au cours du contrôle de surface dans l'usine, le laboratoire a retrouvé un contaminant. Ce contaminant est présenté dans la boîte de Petri ou le tube noté(e) « contaminant ».

Réaliser l'observation macroscopique et microscopique nécessaire à l'identification du contaminant, en vous aidant de l'annexe 4.

Montrer à l'examineur l'observation microscopique.

5. CONTRÔLE DES LAITS DANS UNE NOUVELLE RECETTE (10 points)

Le service de recherche et développement de l'entreprise veut mettre au point une crème glacée à base de lait de chèvre.

Au cours de leurs recherches, le service de R&D a mis au point une recette qui utilise un mélange de lait de vache et de lait de chèvre, à raison de 7 volumes de lait de chèvre pour 1 volume de lait de vache.

Lors de la fabrication des crèmes glacées au lait de chèvre, le laboratoire de contrôle doit vérifier le pourcentage de lait de vache.

Pour cela il utilise un kit immunologique de dosage du lait de chèvre : le CVT est II.

5.1. Réactifs

Gélose CVTest II

Tube Eppendorff d'étalon 0%, noté « 0 »

Tube Eppendorff d'étalon 10 %, noté « 10 »

Tube Eppendorff d'étalon 20%, noté « 20 »

Tube Eppendorff d'étalon 30%, noté « 30 »

Tube Eppendorff d'étalon 40 %, noté « 40 »

Tube Eppendorff d'étalon 50%, noté « 50 »

Tube Eppendorff de lait de vache, noté « T+ »

Tube Eppendorff de lait à tester, noté « test »

5.2. Manipulation

Déposer 10 µL de chacun des étalons.

Montrer la réalisation d'un dépôt à un examinateur.

Incuber en chambre humide à 37°C pendant 24 heures.

Remplir l'annexe 5.

ANNEXE 2

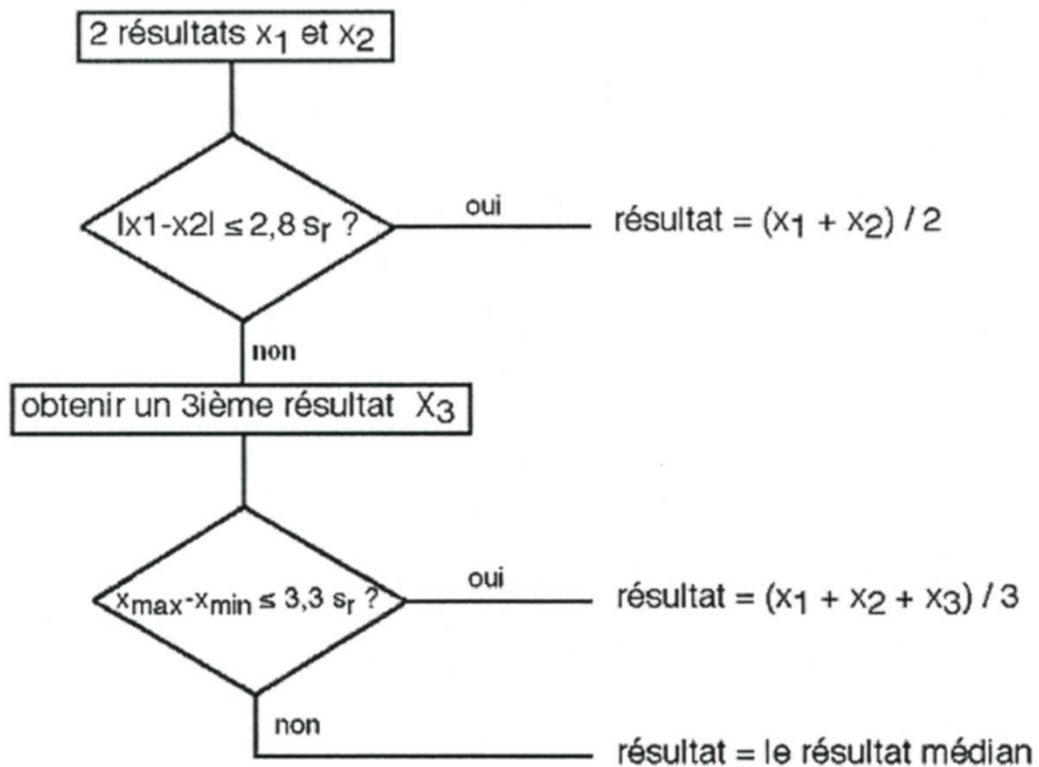
Établissement d'examen	Centre	INSTRUCTION DE TRAVAIL	RÉF.
		VALIDATION ET EXPRESSION D'UN RÉSULTAT	Version :1.0 Date: session 2008 Révisée le: page 1/2
Rédacteurs : membres de la commission de sujets Date : session 2008 Visa :		Vérificateur Approbateur : inspection générale Date : session 2008 Visa :	

1 - Vérification de la concordance entre résultats expérimentaux

- Utiliser l'écart type de répétabilité « S_r » donné avec l'unité de la grandeur
- Calculer l'écart-type de répétabilité « S_r » si le texte donne le coefficient de variation « CV » ($S_r = CV \times \text{valeur}$). L'arrondir avec 2 chiffres significatifs. On entend par « valeur » soit celle approximative proposée dans le texte, soit l'un des résultats trouvés.

Exemple: $CV = 1,2\%$; résultat : $C_m = 0,723 \text{ g/L}$; $s_r = (1,21100) \times 0,723 = 0,0087 \text{ g/L}$

- Traiter les résultats en utilisant le logigramme ci-dessous sans arrondir les valeurs des calculs intermédiaires.



Établissement d'examen	Centre	INSTRUCTION DE TRAVAIL	RÉF.
		VALIDATION ET EXPRESSION D'UN RÉSULTAT	
Rédacteurs : membres de la commission de sujets Date : session 2008 Visa :		Vérificateur Approbateur : inspection générale Date : session 2008 Visa :	

2 - Expression finale du résultat

L'expression du résultat nécessite de disposer de l'incertitude type composée notée « u_c » qui est donnée avec l'unité de la grandeur.

Exemple: $n = 0,3457 \mu\text{mol}$; $u_c = 0,018 \mu\text{mol}$

- Calculer l'incertitude élargie en multipliant par 2 l'incertitude type composée, ce qui donne un niveau de confiance de 95 %.

Incertitude élargie = $2 u_c$

- Arrondir le résultat final
 - Le dernier chiffre significatif doit être à la même position décimale que la dernière décimale de l'incertitude élargie.
 - Les règles usuelles mathématiques d'arrondi s'appliquent. Si la décimale est inférieure à 5, on conserve la décimale immédiatement à gauche, sinon on la majore d'une unité.

Exemple 1: résultat validé $c = 0,24319 \text{ mmol/L}$; $2 u_c = 0,0051 \text{ mmol/L}$
rendre le résultat sous la forme : $c = (0,2432 \pm 0,0051) \text{ mmol/L}$

Exemple 2 : résultat validé : $c = 0,24314 \text{ mmol/L}$; $2 u_c = 0,0051 \text{ mmol/L}$
rendre le résultat sous la forme : $c = (0,2431 \pm 0,0051) \text{ mmol/L}$

- Rendre le résultat final avec sa valeur numérique, son incertitude, son unité et accompagné de la phrase suivante : « L'incertitude proposée est une incertitude élargie qui donne un niveau de confiance d'environ 95 % ».

Exemple: $c = (0,2431 \pm 0,0051) \text{ mol/L}$
L'incertitude proposée est une incertitude élargie qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %.

ANNEXE 1

À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

N° du candidat :

N° de poste :

	Blanc	E1	E2
A1			
A2			
$\Delta A = A2 - A1$			
$\Delta A \text{ essai} - \Delta A \text{ blanc}$			

ANNEXE 3

Coliforme

Entérobactérie fermentant le lactose (avec gaz) à 30°C

Coliforme thermotolérant

Coliforme fermentant le lactose à 44°C

E. coli

Coliforme thermotolérant produisant de l'indole à 44°C, possédant une β -galactosidase et β -glucuronidase

TBX

L'enzyme β -D-glucuronidase différencie *E coli* des autres coliformes. *E coli* absorbe le substrat chromogénique 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide (X- β -D-glucuronide).

L'enzyme rompt les ponts entre les chromophores 5-bromo-4-chloro-3-indolyle- et β -Dglucuronide.

Les colonies d'*E. coli* sont colorées en bleu-vert.

La croissance de la flore d'accompagnement gram-positif est largement inhibée par la présence de sels biliaires et la haute température d'incubation à 44°C.

E. coli : les colonies sont bleu-vert.

Attention Les souches d'*E. coli* β -Glucuronidase-négative (3-4%) forment des colonies incolores, comme par exemple *E. coli* O157, ou bien elle ne peuvent pas pousser à 44°C, comme *E. coli* O157 :H7.

VRBL

Le milieu VRBL (violet cristal, rouge neutre, bile, lactose, agar) est utilisé dans les méthodes de routine de dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants à 44°C. Ce milieu est sélectif des coliformes par la présence des sels biliaires et de cristal violet et permet la lecture du lactose.

La présence simultanée de cristal violet et des sels biliaires assure l'inhibition des bactéries Gram positif. La fermentation du lactose se traduit par une acidification révélée par virage au rouge de l'indicateur de pH et par la précipitation d'acide biliaire autour des colonies.

Les coliformes présentent des colonies violacées de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm après 24 heures d'incubation.

Les entérobactéries lactose négatif sont incolores.

Volume de milieu dans les boîtes de Petri

Pour une simple couche compter entre 15 et 20 mL.

Pour une deuxième couche, compter environ 5 mL.

ANNEXE 5 À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

N° du candidat :

N° de poste :

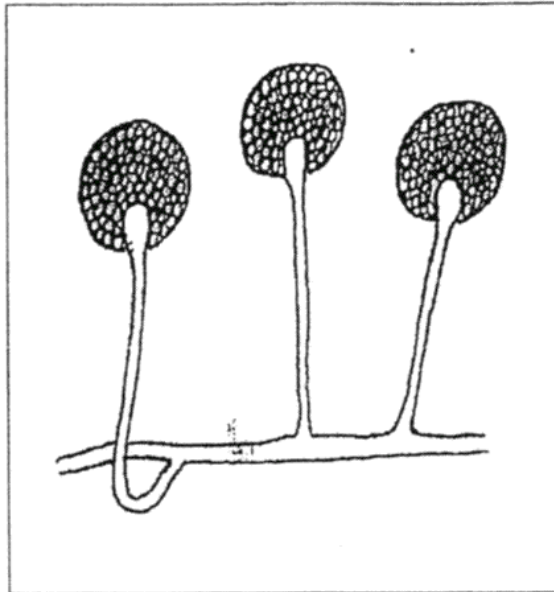
Puits	Dépôt (μ L)	Diamètre (mm)	Pourcentage de lait de vache
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			

Le gabarit sera distribué par chaque centre.

Conclusion

ANNEXE 4

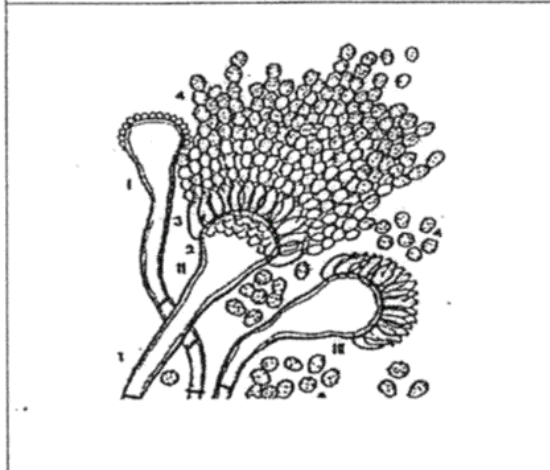
Schémas d'organes de fructification de moisissures



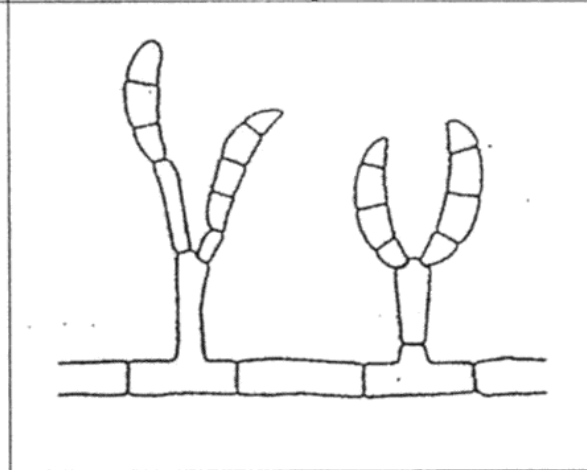
Mucor



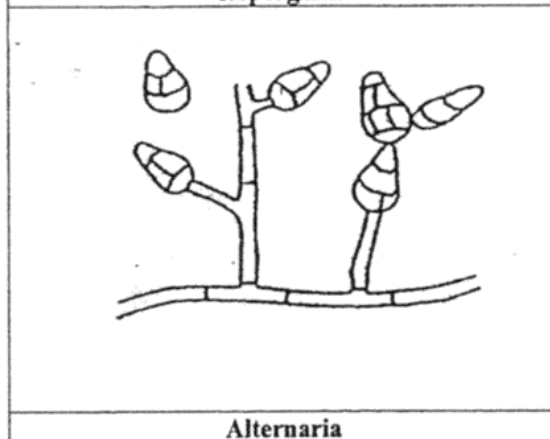
Rhizopus



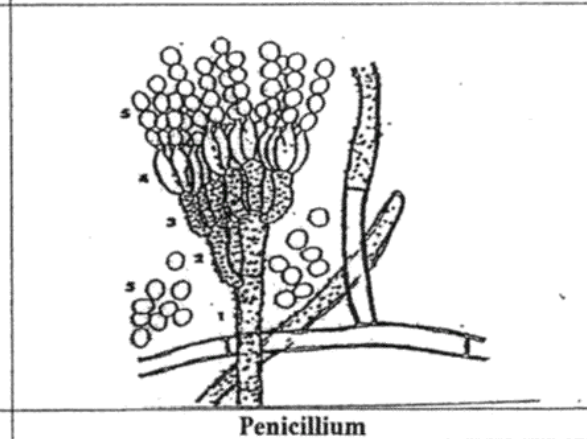
Aspergillus



Fusarium



Alternaria



Penicillium

Deuxième jour : 1 h 30

1. COMPARAISON DE DEUX MÉTHODES DE DÉNOMBREMENT DE CONTAMINANTS

Rappel : L'annexe 1 donne la composition des milieux utilisés.

1.1. Milieu VRBL

Déterminer le nombre de coliformes contenus dans la crème glacée à l'aide de l'annexe 2.

Conclure sur la qualité de la crème glacée vis-à-vis des coliformes et *d'E.coli*.

Rappel des critères microbiologiques :

Coliformes	<i>E. coli</i>
selon arrêté ministériel du 14/01/80	selon règlement n°2073/2005 du paquet hygiène
10 UFC par gramme	10 UFC par gramme

1.2. Milieu TBX

Déterminer le nombre d' *E.coli* contenu dans la crème glacée à l'aide de l'annexe 2.

1.3. Conclusion

Comparer les techniques et les résultats obtenus.

2. CONTRÔLE DES LAITS DANS UNE NOUVELLE RECETTE

Examiner la boîte en lumière oblique.

Relever les diamètres d des cercles de précipitation et compléter l'annexe 5 du premier jour, à demander à l'examineur.

Tracer la droite $d^2(\text{mm}^2) = f$ (% en lait de vache), à l'aide du papier millimétré fourni.

Déterminer le pourcentage de lait de vache dans le lait de chèvre.

Conclure sur la qualité du lait employé par l'entreprise pour la fabrication de la crème glacée au lait de chèvre.

Rappel : le service de R&D a mis au point une recette qui utilise un mélange de lait de vache et de lait de chèvre, à raison de 7 volumes de lait de chèvre pour 1 volume de lait de vache.

ANNEXE 1 (voir annexe 3 du 1^e jour)

ANNEXE 2 : EXTRAIT DE LA NORME NF ISO 7218/A1 DE DÉCEMBRE 2001

Mode de calcul : Cas général (comptage des colonies en totalité ou des colonies caractéristiques).

Calculer le nombre N de microorganismes présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée à partir de deux dilutions successives, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum C}{v.(n_1 + 0,1.n_2).d}$$

où

- $\sum C$ est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives dont au moins une contient au minimum 15 colonies;
- v est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;
- n_1 est le nombre des boîtes retenues à la première dilution;
- n_2 est le nombre des boîtes retenues à la deuxième dilution;
- d est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue [d = 1 dans le cas où l'échantillon pour essai (produits liquides)ensemencé directement est retenu].

Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs. Pour cela, si le troisième chiffre est inférieur à 5 le chiffre précédent n'est pas modifié ; si le troisième chiffre est supérieur ou égal à 5 le chiffre précédent est augmenté d'une unité.

Retenir comme résultat un nombre compris de préférence entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance appropriée de 10, ou un nombre entier avec 2 chiffres significatifs.

Exprimer le résultat comme suit:

- nombre N de microorganismes par millilitre (produits liquides) ou par gramme (autres produits).

Cas de deux boîtes (échantillon pour essai ou suspension mère ou première dilution) contenant moins de 15 colonies.

Si les deux boîtes, au niveau de l'échantillon pour essai (produits liquides) ou de la suspension mère (autres produits) ou de la première dilutionensemencée ou retenue, contiennent moins de 15 colonies (colonies en totalité, colonies caractéristiques ou colonies répondant aux critères d'identification ou de confirmation), calculer le nombre estimé N_E de microorganismes présents dans l'échantillon pour essai en tant que moyenne arithmétique des colonies comptées sur les deux boîtes à l'aide de l'équation suivante :

$$N_E = \frac{\sum C}{V \times n \times d}$$

où $\sum C$ est la somme des colonies comptées sur les 2 boîtes;

V est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;

n le nombre de boîtes retenues;

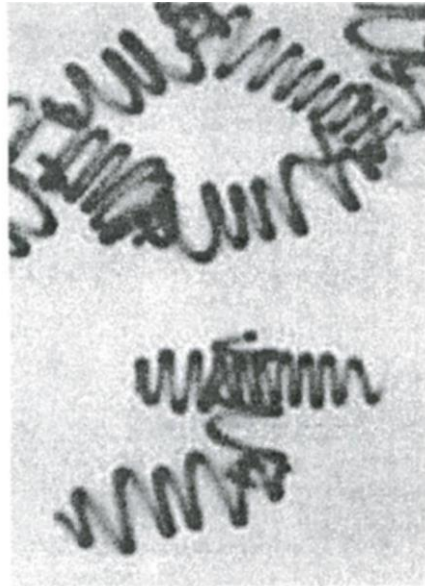
d le taux de dilution correspondant à la dilution retenue.

Durée : 6 heures Coefficient : 3

**ANALYSE DE POUDRE DE SPIRULINE ET
DE PRODUITS COSMÉTIQUES À BASE DE SPIRULINE**

Premier jour : 5 h

Spirulina, autrefois appelée microalgue bleu-vert, est une cyanobactérie vivant dans les eaux froides des océans. Sa richesse en protéines, acides aminés, acides gras essentiels, vitamines, minéraux et anti-oxydants, en fait un complément alimentaire intéressant pour soigner ou prévenir les carences nutritionnelles.



Spirulines (spirales de 100 à 200 μm)

Ces bactéries sont aujourd'hui cultivées et on les retrouve dans les rayons diététiques et cosmétiques. Après culture, récolte et séchage, le résidu déshydraté est l'objet de plusieurs contrôles avant commercialisation. Quelques uns de ces contrôles sont réalisés dans le cadre de cette étude :

- détermination de la teneur en protéines,
- dosage de la phycocyanine,
- contrôle immunotoxicologique,
- contrôle du pouvoir antimicrobien d'une préparation dérivée.

1. DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN AZOTE TOTAL PAR LA MÉTHODE DE KJELDHAL

L'analyse proposée a pour objectif de déterminer le taux en azote de la spiruline brute. L'analyse est effectuée sur un minéralisat, réalisé de la manière suivante : 5 g de spiruline déshydratée ont été minéralisés et recueillis dans un volume de 20 mL. C'est cette solution, notée « minéralisat de spiruline », qui est fournie pour la détermination de la teneur en azote.

1.1. Étalonnage de l'acide sulfurique fourni à environ 0,10 mol.L⁻¹

1.1.1 Mode opératoire

Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire

- m_{KHCO₃} exactement pesée, voisine de 0,200 g
- eau désionisée environ 50 mL
- 3 gouttes de vert de bromocrésol (VBC). Verser à la burette la solution d'acide sulfurique jusqu'au virage.

Soit V' mL le volume de solution d'acide sulfurique versé. Réaliser 2 essais.

1.1.2 Résultats

Établir la formule littérale donnant la concentration molaire en H₂SO₄ en mol.L⁻¹. La calculer.

1.2. Dosage de l'azote total dans un minéralisat de spiruline déshydratée par la méthode de Kjeldahl semi directe

1.2.1 Principe

Après minéralisation, l'ammoniac est entraîné par la vapeur dans une fiole d'Erlenmeyer contenant de l'acide borique : l'alcalinité est ainsi stabilisée. Elle est ensuite dosée par une solution d'acide sulfurique préalablement étalonnée.

1.2.2 Matériel

Automate de distillation

Verrerie volumétrique

1.2.3 Mode opératoire (1 seul essai)

Le minéralisat fourni est noté « minéralisat de spiruline » il est incolore.

Dans un matras adapté à l'appareil d'entraînement de NH₃, introduire 2 mL de minéralisat.

Préparer une fiole d'Erlenmeyer de 250 mL contenant 50 mL d'acide borique à 40 g.L⁻¹ et l'indicateur duplex.

Placer le matras et la fiole sur leur support respectif dans l'appareil d'entraînement de NH₃.

Après entraînement, doser NH₃ par H₂SO₄. Soit V'' mL le volume versé.

1.2.4 Résultats

Exprimer et calculer la concentration molaire en N dans le minéralisat (en mol.L⁻¹).

Exprimer et calculer la teneur en N en g d'azote pour 100 g de spiruline déshydratée.

La teneur massique moyenne des protéines des cyanobactéries en azote est d'environ 14%.

En considérant que l'azote protéique représente 95% de l'azote total, déterminer la teneur en protéines de la poudre de spiruline.

Conclure par rapport aux valeurs annoncées.

Données

La spiruline renferme entre 55 et 70 g de **protéines** pour 100 g de produit déshydraté.

M_N = 14 g.mol⁻¹

M_{KHCO₃} = 100,1 g.mol⁻¹

		Sr (écart-type de répétabilité de la méthode)	U incertitude élargie
Étalonnage H ₂ SO ₄	mmol.L ⁻¹	0,2	0,5
Dosage N	g.L ⁻¹	0,08	0,2

Un résultat sera rendu à X±U

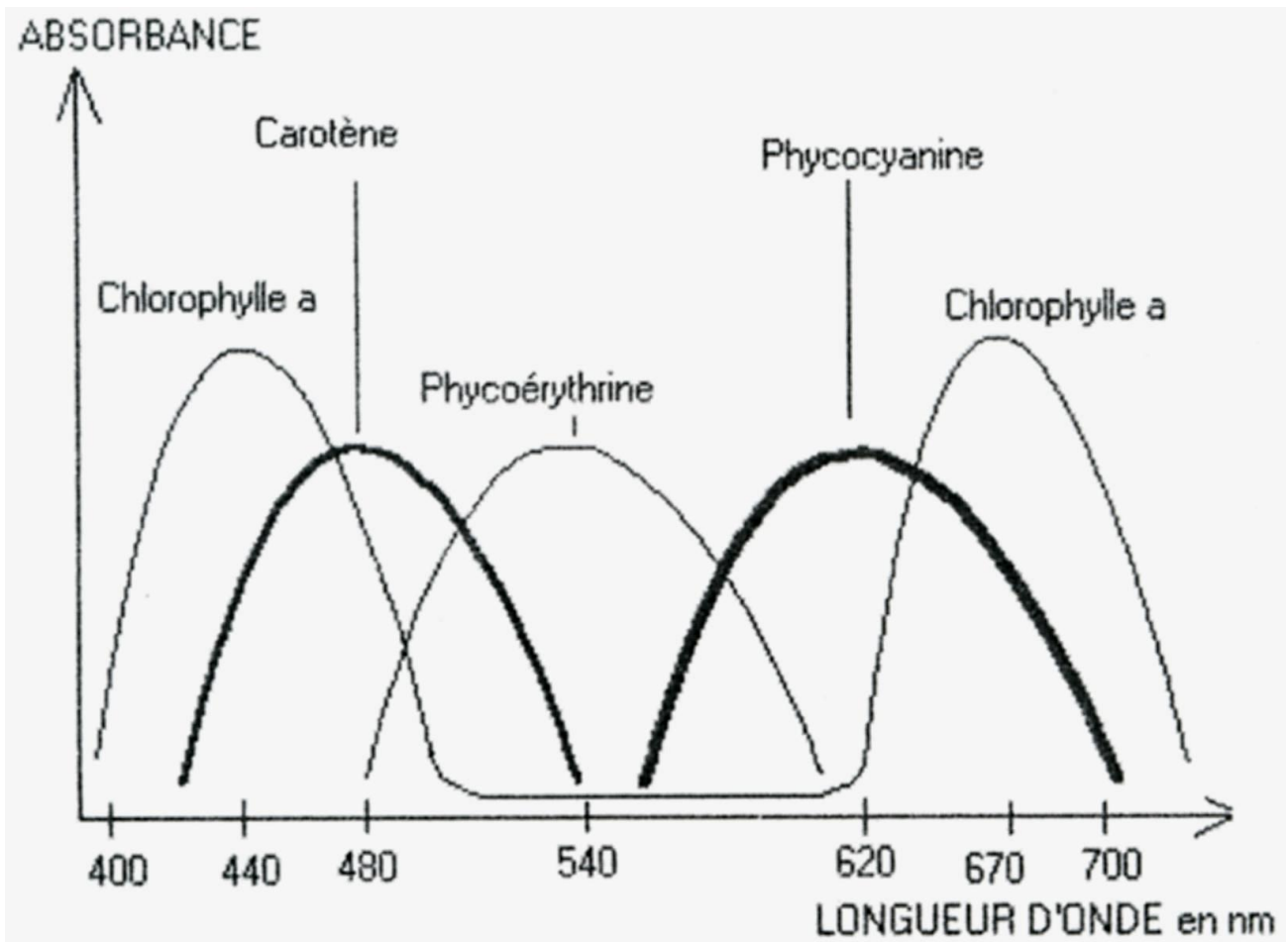
Annexe 1 : la validation et expression des résultats (voir sujet B, annexe 2)

2. DOSAGE DE LA PHYCOCYANINE

Cette protéine complexe est présente à environ 10 à 15 % dans la spiruline déshydratée (% massique). La phycocyanine est spécifique de cette bactérie.

2.1. Principe

D'après les spectres d'absorption des pigments photosynthétiques, un dosage spectrophotométrique direct à 620 nm, relativement spécifique de cette protéine est possible.



2.2. Mode opératoire

Préparer, directement en macrocuvette, à partir de l'étalon de phycocyanine (noté « Phyco. étalon ») à 25 mg. L⁻¹, une gamme-étalon de concentration de 0 à 25 mg.L⁻¹ de phycocyanine sous un volume final de 2 mL (6 concentrations dont celle égale à 0 seront testées). Le diluant utilisé sera de l'eau désionisée.

Réaliser 2 essais sur la solution fournie (notée « extrait »), réalisée en dissolvant 5 mg de spiruline déshydratée dans 50 mL).

Mesurer l'absorbance à 620 nm contre un blanc adéquat.

2.3. Résultats

Présenter le tableau de colorimétrie.

Traiter les résultats par l'outil informatique et donner les paramètres de régression.

Exprimer la concentration massique de l'extrait.

Donner la valeur de la teneur en phycocyanine de la spiruline déshydratée (unités non imposées).

Conclure.

Données :

		S _r	U
Dosage de la phycocyanine par spectrophométrie directe (avec le protocole fourni)	mg.L ⁻¹	0,25	0,60

s_r écart type de répétabilité de la méthode

U: incertitude élargie

Un résultat X sera rendu à X±U

Annexe 1 : validation et expression d'un résultat (*voir annexe 2 du sujet B*)

3. CONTRÔLE IMMUNOTOXICOLOGIQUE

En proliférant, les cyanobactéries ont la potentialité de libérer des toxines parmi lesquelles les microcystines. Ces toxines peuvent être recherchées, voire dosées par voie immunoenzymatique.

Un test ELISA par compétition sera réalisé sur un échantillon de spiruline.

3.1. Matériel et réactifs

- 1 barette ou une microplaque de cupules sensibilisées par les microcystines
- 1 film autoadhésif
- 1 pipette automatique P200-1000 + cônes
- 1 pipette automatique P40-200 + cônes
- 1 tube Eppendorff noté **Étalon** contenant 2 mL de microcystines à 1 mg.L⁻¹
- 1 tube Eppendorff noté **Échantillon** contenant 250 µL d'échantillon de spiruline dilué au 1/100
- 1 flacon noté **tampon PBS** contenant 10 mL de tampon PBS pH 7,2
- 1 flacon noté **tampon PBS-Tween** contenant 50 mL de tampon PBS-Tween 20
- 1 tube à hémolyse noté **Conjugué** contenant 2 mL de solution d'anticorps anti-microcystines conjugués à la phosphatase alcaline
- 1 tube à hémolyse noté **Substrat** contenant 2 mL de paranitrophényl phosphate (PNPP) à 1 g.L⁻¹
- 1 tube à hémolyse noté **NaOH** contenant 1,5 mL de NaOH à 5 mol.L⁻¹ (produit corrosif)

3.2. Protocole opératoire

3.2.1. Sensibilisation de la microplaque (déjà effectuée)

Distribuer 100 µL de microcystines de sensibilisation dans les cupules A1 à H1 et B2 à D2.

Distribuer 100 µL de tampon de sensibilisation dans A2.

Recouvrir la barrette d'un film autocollant.

Incuber 2 heures à 37°C puis placer à 4°C jusqu'au lendemain.

3.2.2. Saturation (déjà effectuée)

Vider le contenu des cupules par retournement.

Procéder à 3 lavages successifs avec 200 µL de PBS-Tween dans chaque cupule.

Déposer 200 µL d'albumine bovine (SAB) dans chaque cupule et incuber 30 minutes à 37°C.

À la fin des 30 minutes d'incubation, procéder à 3 lavages successifs de la double barrette avec 200 µL de PBS-Tween dans chaque cupule.

3.2.3. Gamme d'étalonnage

Préparer en tubes à hémolyse une gamme-étalon de microcystines à partir du tube de solution étalon de microcystines à 1 mg.L⁻¹. Pour cela, réaliser 7 dilutions successives de raison 1/2 en tampon PBS pH 7,2 en se conformant au tableau ci-dessous.

N° Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
Volume tampon PBS (µL)	0	500	500	500	500	500	500	500
Solution étalon microcystines à 1 mg.L ⁻¹ (µL)	500	500						
Redistribution (µL)			500	500	500	500	500	500

3.2.4. Immunocompétition

Distribuer dans les cupules A1 à H1, 50 µL de chacune des solutions de la gamme de microcystines, en commençant par la plus diluée et en terminant par la solution initiale à 1 mg.L⁻¹.

Distribuer dans les cupules C2 et D2, 50 µL de l'échantillon à doser, fourni au 1/100, (E).

Distribuer dans les cupules témoins A2 et B2, 50 µL de tampon PBS.

Ajouter aussitôt dans chacune des cupules A1 à H1 et B2 à D2, 50 µL de conjugué antimicrocystines.

Ne pas ajouter de conjugué dans la cupule A2.

Couvrir et agiter 1 minute à température ambiante à environ 200 tours.min⁻¹. Incuber 1 heure à 37°C.

3.2.5. Révélation

Vider le contenu des cupules par retournement.

Procéder à 3 lavages successifs avec 200 µL de PBS-Tween dans chaque cupule et terminer par un lavage au tampon PBS.

Ajouter ensuite 100 µL de substrat.

Incuber 5 minutes à 37°C.

Arrêter la réaction enzymatique par addition de 50 µL de solution d'hydroxyde de sodium (NaOH).

Mélanger en appliquant un léger mouvement de rotation.

Lire les absorbances de chaque cupule à 405 nm (zéro contre l'air) dans le lecteur à microplaque.

3.3. Compte rendu

Présenter sous forme d'un schéma légendé le principe de la méthode mise en oeuvre pour ce dosage.

Préciser le rôle des lavages.

Indiquer le rôle des différents témoins A2 et B2.

Compléter le tableau de résultats (Annexe 2).

Tracer la représentation graphique $A = f(\log \rho_{\text{microcystines}})$ à l'aide de l'outil informatique.

Déterminer la concentration en µg.L⁻¹ de microcystines dans l'extrait fourni.

4. MISE EN OEUVRE D'UN CHALLENGE-TEST

La spiruline, produit de la mer et des algues, est maintenant incorporée dans une lotion cosmétique dans laquelle on se propose de contrôler l'efficacité des agents conservateurs, celle-ci pouvant être modifiée par la composition de la préparation.

Une première formulation de lotion à base de spiruline a été réalisée, le produit obtenu est confié au laboratoire de microbiologie pour effectuer un challenge test qui va permettre d'effectuer ce contrôle.

4.1. Principe du challenge test

Une contamination artificielle de la préparation cosmétique est réalisée avec un nombre déterminé de micro-organismes connus ; après un temps de contact précis, sont dénombrés les micro-organismes survivants pour déterminer le taux de réduction des germes. Le taux de réduction décimal (TRD) ou taux de réduction logarithmique obtenu est comparé à celui attendu. L'efficacité du conservateur sera validée si on obtient un taux de réduction logarithmique supérieur ou égal à 2 après 5 minutes de contact.

4.2. Matériel et méthode

4.2.1 Matériel et réactifs

- 2 géloses GTS en grande boîte
- 2 géloses GTS en petite boîte
- 120 mL de gélose GTS en surfusion
- 5 tubes d'eau physiologique de 9 mL
- pipettes graduées de 1 mL stériles ou équivalent
- 6 boîtes de Petri vides et stériles
- 2 tubes de diluant neutralisant de 9,9 mL notés « DN 9,9 mL »
- 1 tube de suspension « *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 » à environ 1.10^6 bactéries par mL
- Lotion à tester (9,9 mL)

4.2.2 Méthode

- Contamination : 5.10^3 à 1.10^5 bactéries par cm^3 de produit
- Temps de contact : 5 minutes
- Technique de numération : filtration sur membrane après neutralisation
- Milieu de numération : GTS (Gélose Trypticase Soja)

4.3. Mode opératoire

4.3.1 Vérification de la pureté de la suspension *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

- Isoler la suspension sur une GTS en boîte.
- Incuber 24 h à $36 \pm 2^\circ\text{C}$.

4.3.2 Dénombrement de la suspension de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

À partir de la suspension en tube notée « *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 » à environ 1.10^6 bactéries par mL, réaliser le dénombrement en profondeur en GTS (technique : 1 seule couche, 2 essais par dilution) en testant 3 dilutions successives appropriées.

- Montrer la réalisation d'une dilution à un examinateur.
- Incuber 24 h à $36 \pm 2^\circ\text{C}$.

4.3.3 Vérification de la stérilité de la lotion

- Isoler sur GTS un aliquote de la lotion fournie notée « lotion LX ».

4.3.4 Contamination de la lotion et numération des bactéries survivantes

- Ajouter 0,1 mL de la suspension notée « *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 » aux 9,9 mL de lotion.
- Agiter.
- Incuber 5 minutes précisément à température ambiante.
- Prélever 0,1 mL de la lotion contaminée et le déposer dans 9,9 mL de diluant neutralisant, milieu noté « DN 9,9 mL » ; on obtient le tube 1.
- Refaire de même à partir du tube 1 pour obtenir le tube 2 (voir schémas Annexe 3);
- Filtrer successivement le contenu des 2 tubes de DN sur une membrane filtrante de nitrate de cellulose ($0,45 \mu\text{m}$) en commençant par le tube 2.
- Montrer la deuxième filtration à un examinateur.
- Déposer chaque membrane sur une petite boîte de milieu GTS. Incuber 24 h à $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

4.3.5 Compte rendu

- Justifier le choix des dilutionsensemencées.

Justifier le volume de suspension inoculé (0,1 mL) sachant que la contamination finale attendue doit être de $5 \cdot 10^3$ à $1 \cdot 10^5$ bactéries par mL de produit et que le volume introduit ne doit pas dépasser 1% du volume du produit.

ANNEXE 1 : validation et expression d'un résultat (non reproduite voir dans le sujet B précédent)

ANNEXE 2

N° poste

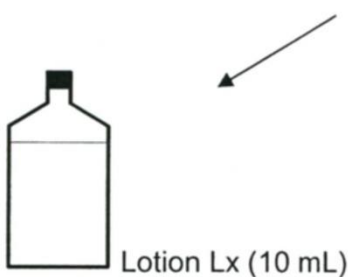
À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE RÉSULTATS DU DOSAGE IMMUNOENZYMATIQUE

Cupules	Concentration (ρ) en microcystines ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$\log \rho$	Absorbance brute	Absorbance nette
A1				
B1				
C1				
D1				
E1				
F1				
G1				
H1				
A2				
B2				
C2				
D2				

ANNEXE 3 : RAPPEL SCHÉMATIQUE DE LA MANIPULATION "CHALLENGE TEST"

→ ISOLEMENT DE LA LOTION SUR GTS

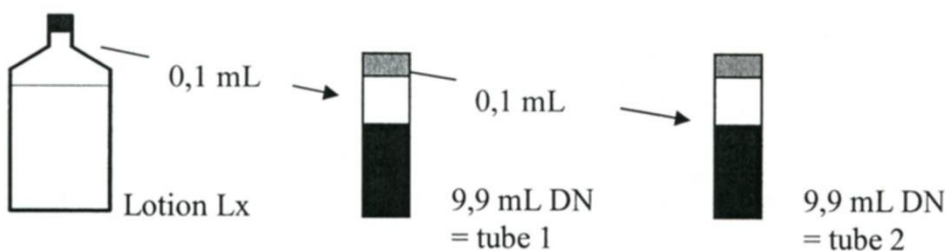
→ INOCULATION DE LA LOTION À TESTER :



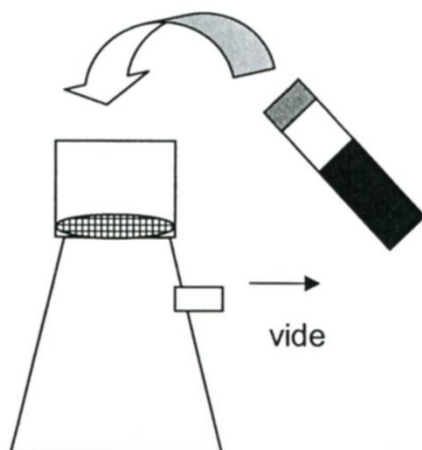
Ensemencer avec **0,1 mL** de la suspension de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
Homogénéiser.
Incuber 5 minutes précises à température ambiante.

→ TEST D'EFFICACITÉ

À 5 minutes précisément, prélever **0,1 mL** de la lotion contaminée
Introduire le prélèvement dans 9,9 mL de DN : on obtient le tube 1.
Renouveler l'opération à partir du tube 1 pour obtenir le tube 2.



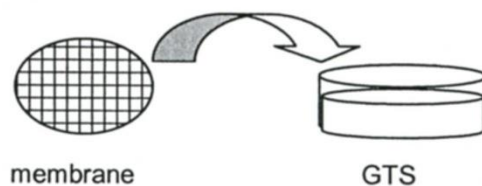
Dénombrement par filtration sur membrane des dilutions obtenues



Appareil de filtration

La totalité de chaque tube de dilution est filtrée sur membrane de nitrate de cellulose en **commençant par le tube 2**.

Chaque membrane est déposée sur GTS en veillant à ne pas introduire de bulles d'air.



Incuber 24 h à 36 +/- 2°C

Deuxième jour : 1 h

Le challenge test a été réalisé pour la lotion à la spiruline vis à vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

L'efficacité du conservateur sera validée si on obtient un taux de réduction logarithmique (TRD) supérieur ou égal à 2 après 5 minutes de contact.

Le schéma du protocole opératoire est donné en annexe 1 (voir jour 1).

1. VALIDATION DES CONDITIONS OPÉRATOIRES

Les résultats seront interprétables :

- si la suspension test est pure,
- si la lotion est stérile,
- si la contamination de la lotion avec *Staphylococcus aureus* est bien comprise entre $5 \cdot 10^3$ et $1 \cdot 10^5$ bactéries/mL.

1.1. Procéder à la lecture des boîtes d'isolement et au dénombrement de la suspension mère de la souche-test (300 colonies maximum par boîte) et rendre compte des résultats sur le compte rendu en suivant les recommandations de la norme AFNOR donnée en annexe 2.

1.2. Déterminer la contamination de la lotion réellement réalisée en calculant la concentration bactérienne de la lotion contaminée (bactéries/mL).

1.3. Conclure sur la validité des conditions opératoires.

2. INTERPRÉTATION DU CHALLENGE TEST

2.1. Procéder au dénombrement des colonies de *Staphylococcus aureus* sur les membranes filtrantes (150 colonies maximum par boîte).

2.2. Calculer le nombre de bactéries survivantes par mL de lotion après 5 minutes de contact.

2.3. Calculer le taux de réduction décimal TRD (ou taux de réduction logarithmique).

$$TRD \hat{=} \log \frac{N_i}{N_s}$$

N_i $\hat{=}$ nombre initial de bactérie par mL de lotion

N_s $\hat{=}$ nombre de bactéries survivantes par mL de lotion

Remarque : si $N_s \hat{=} 0$ bactérie par mL, utiliser dans l'application numérique $N_s < \hat{=} 1$

2.4. Comparer la valeur du TRD calculé à celle du TRD attendu et conclure quant à l'efficacité du conservateur présent dans la lotion.

ANNEXE 1 (RAPPEL SCHÉMATIQUE DE LA MANIPULATION "CHALLENGE TEST") (voir jour 1)

ANNEXE 2 (extrait de la norme NF ISO 7218/A1 de décembre 2001) (voir sujet B pages précédentes)

Durée : 6 heures Coefficient : 3

CONTRÔLE QUALITÉ DE COQUILLAGES

Premier jour : 4 heures 30

Les coquillages et crustacés interviennent dans de nombreuses préparations culinaires (soupes, jus, sauces, plats cuisinés, compléments alimentaires ...) de par leurs propriétés organoleptiques mais aussi diététiques. Ce sont néanmoins des produits très fragiles, qui doivent faire l'objet de nombreux contrôles lors de leur préparation et de leur conditionnement.

Le lyophilisat de palourdes (*Ruditapes decussatus*) sert à la fabrication d'un complément alimentaire stimulant les capacités cognitives.

Un contrôle qualité est réalisé sur ce produit.

BIOCHIMIE (26 points)

1. DOSAGE COLORIMÉTRIQUE DU PHOSPHORE TOTAL DU COMPLÉMENT ALIMENTAIRE

Les coquillages sont d'excellentes sources de phosphore organique, entrant dans la composition des métabolites énergétiques et notamment des phospholipides.

Le fabricant pharmaceutique garantit pour ce complément alimentaire une teneur minimale en phosphore.

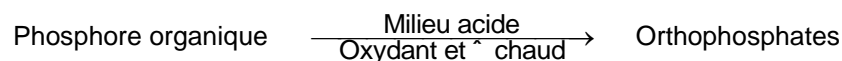
1.1. Principe

Le phosphore dans les organismes vivants se présente sous deux formes:

- une forme libre minoritaire (ions orthophosphoriques provenant, pour les coquillages, principalement de la pollution des eaux marines),
- une forme liée majoritaire (phosphate organique).

Une étape de minéralisation est indispensable car le dosage colorimétrique par la méthode de Briggs permet le dosage des seuls ions orthophosphoriques minéraux.

Minéralisation :



La réaction de dosage est basée sur une combinaison spécifique entre les ions orthophosphoriques et le réactif sulfomolybdique en milieu réducteur (acide ascorbique). On obtient un dérivé coloré bleu, stable, soluble, qui absorbe à 700 nm.

1.2. Matériel et réactifs

Acide sulfurique à 50 % (V/V) en distributeur automatique délivrant 1 mL

Acide ascorbique 20 g.L⁻¹

Réactif sulfomolybdique

Solution de minéralisat notée «minéralisat dilué M »

Dihydrogénophosphate de potassium en poudre

Cupule de pesée et spatule

Fiole jaugée de 100 mL

Fiole jaugée de 250 mL

Pipettes jaugées de 1 et 2 mL

Pipette graduée de 2 mL

Pipettes automatiques

Macrocuves

1.3. Mode opératoire

1.3.1. Minéralisation (déjà réalisée)

Dans une fiole d'Erlenmeyer, on introduit:

- une gélule de complément alimentaire,
- 20 mL d'acide sulfurique concentré,
- 20 mL de solution de persulfate de sodium (oxydant).

Après chauffage durant 1 heure à 120°C puis refroidissement, le pH est ajusté entre 1,5 et 2,5.

La solution est transférée dans une fiole jaugée de 100 mL et ajustée avec les eaux de rinçage puis de l'eau déminéralisée. Elle est ensuite diluée au 1/3000 et notée « minéralisat dilué M ».

1.3.2. Préparation des solutions étalons

- Préparation d'une solution à 2 mg.L⁻¹ en phosphore.

Préparer par pesée à 1 mg près 100 mL d'une solution de dihydrogénophosphate de potassium KH₂PO₄ contenant 0,500 g de phosphore par litre. Ajouter 1 mL d'acide sulfurique à 50% afin de faciliter la dissolution du produit avant de compléter au trait de jauge.

Montrer cette étape à un examinateur.

À partir de cette solution à 0,5 g de P par litre, préparer une solution étalon à 2 mg de P par litre.

Données : $M_p = 31 \text{ g.mol}^{-1}$

$M_{\text{KH}_2\text{PO}_4} = 136,1 \text{ g.mol}^{-1}$

- Préparation de solutions de différentes concentrations en phosphore

Préparer des solutions contenant de 0 à 2 mg.L⁻¹ de phosphore P directement en macrocuvettes de spectrophotométrie selon le tableau fourni en annexe 1.

1.3.3. Réaction colorée

Réaliser la réaction colorée pour les solutions préalablement préparées en macrocuvettes et sur le minéralisat dilué M (2 essais) selon le tableau présenté en annexe 1.

1.4. Exploitation des résultats et compte-rendu

Expliquer succinctement la préparation de la solution à 0,50 g.L⁻¹ de phosphore et celle à 2 mg de P par litre.

Compléter le tableau de colorimétrie de l'annexe 1.

Après traitement informatique, donner l'équation de la droite de régression et le coefficient de corrélation.

En déduire la concentration massique en phosphore du minéralisat en mg.L⁻¹ en utilisant l'annexe 3.

Données :

CV = 3 % ou Sr = 0,05 mg.L⁻¹

Uc (fournie par le centre d'examen)

Annexe 3 : validation et expression d'un résultat

Déterminer la quantité de phosphore (en mg) contenue dans une gélule de complément alimentaire.

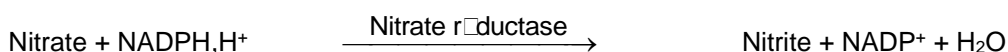
2. DOSAGE DES NITRITES ET NITRATES PAR MÉTHODE ENZYMATIQUE

Les coquillages possèdent d'énormes capacités de filtration de l'eau de mer et leur contamination par des polluants est rapide. Ils se développent généralement près des estuaires où les risques de pollution sont importants. Les concentrations en polluants dans ces organismes destinés à la consommation humaine sont étroitement surveillées.

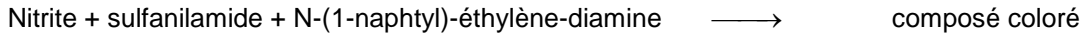
Les nitrates et nitrites sont en particulier recherchés ; la pollution est avérée si la concentration en nitrites est supérieure à 0,1 mg.kg⁻¹ de coquillage et si la concentration en nitrates est supérieure à 50 mg.kg⁻¹ de coquillage.

2.1. Principe

Les nitrates sont d'abord réduits en nitrites par la nitrate réductase en présence de NADPH :



Les nitrites formés, ainsi que ceux du milieu, réagissent avec le sulfanilamide et le dihydrochloro N-(1-naphtyl)-éthylène-diamine pour donner un composé coloré violet rosé qui absorbe à 540 nm.



2.2. Matériel et réactifs

Réactif	Composition	Vol à disposition (mL)
R1	NADPH, FAD, tampon phosphate pH 7,5 et stabilisants	1,5
R2	Nitrate réductase	0,1
R3	Sulfanilamide	2,0
R4	Dihydrochloro N-(1-naphtyl)-éthylène-diamine	2,0

Filtrat à doser noté « Filtrat »

Pipettes automatiques

Microcuves

2.3. Mode opératoire

2.3.1. Solubilisation des nitrites et nitrates (déjà réalisée)

3,0 g de palourdes fraîches sont broyées en présence de 50 mL d'eau déminéralisée puis bouillies pendant 15 minutes.

Après refroidissement, 3 mL de solution de Carrez I ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3 H_2O$ à 150 g.L^{-1}) et 3 mL de solution de Carrez II ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ à 300 g.L^{-1}) sont ajoutés.

Le pH est ajusté à 8 avec de l'hydroxyde de sodium à 1 mol/L. la solution est enfin transférée dans une fiole jaugée de 100 mL et ajustée avec les eaux de rinçage puis de l'eau déminéralisée. Elle est filtrée et centrifugée. la solution obtenue est notée « Filtrat »

2.3.2. Conditions opératoires

Longueur d'onde: 540 nm

Trajet optique: 1 cm

Température: 20 - 25°C

Mesure contre l'air ou l'eau

2.3.3. Protocole du dosage

Réaliser un témoin et 2 essais pour chaque dosage.

Introduire directement dans les microcuves :

Réactifs et solutions	Dosage des nitrites		Dosage des nitrites + nitrates	
	Témoin (nitrites)	Essai (nitrites)	Témoin (nitrites + nitrates)	Essai (nitrites + nitrates)
Filtrat (mL)	-	0,500	-	0,500
H ₂ O (mL)	0,770	0,270	0,500	-
R1 (mL)	-	-	0,250	0,250
R2 (mL)			0,020	0,020
Mélanger. Incuber 30 min à température ambiante. Lire les absorbances A1. Ajouter:				
R3 (mL)	0,250	0,250	0,250	0,250
R4 (mL)	0,250	0,250	0,250	0,250
Mélanger. Incuber à l'obscurité, 10 à 15 min, à température ambiante. Lire les absorbances A2.				

2.4. Exploitation des résultats et compte-rendu

Compléter la feuille de résultats en annexe 2.

Calculer:

- $\Delta A_{\text{nitrite}} = (A_2 - A_1)_{\text{essai nitrite}} - (A_2 - A_1)_{\text{témoin nitrite}}$
- $\Delta A_{[\text{nitrite} + \text{nitrate}]} = (A_2 - A_1)_{\text{essai [nitrite + nitrate]}} - (A_2 - A_1)_{\text{témoin [nitrite + nitrate]}}$
- $\Delta A_{\text{nitrate}} = \Delta A_{[\text{nitrite} + \text{nitrate}]} - \Delta A_{\text{nitrite}}$

Utiliser la loi de Beer-Lambert: $\Delta A = \varepsilon \cdot l \cdot c$

Établir l'expression littérale donnant la concentration massique en nitrites (en mg.L⁻¹) dans le filtrat. La calculer pour chaque essai et présenter le résultat final en utilisant l'annexe 3.

Établir l'expression littérale donnant la concentration massique en nitrates (en mg.L⁻¹) dans le filtrat. La calculer pour chaque essai et présenter le résultat final en utilisant l'annexe 3.

Calculer les teneurs en nitrates et nitrites, exprimées en mg.kg⁻¹, des coquillages analysés.

Conclure sur l'utilisation possible de ces palourdes comme ingrédients du complément alimentaire.

Données : $M_{\text{NO}_2^-} = 46 \text{ g/mol}$
 $M_{\text{NO}_3^-} = 62 \text{ g/mol}$
 ε : du composé coloré (fourni par le centre)
CV = 5 % ou Sr = 0,015 mg.L⁻¹ pour les nitrites et 0,045 mg.L⁻¹ pour les nitrates
Uc (à fournir par le centre d'examen)
Annexe 3 : validation et expression d'un résultat

MICROBIOLOGIE (24 points)

L'élevage des palourdes est soumis à un dispositif de surveillance régulière par les laboratoires de l'IFREMER. Ils vérifient que le niveau de contamination microbiologique de chaque zone de production reste conforme aux classements définis par les arrêtés préfectoraux et dépistent les épisodes inhabituels de contamination.

L'analyse microbiologique des prélèvements de palourdes et des eaux d'élevage correspond à la détection, le dénombrement et l'identification de microorganismes pathogènes.

1. DÉNOMBREMENT d'*Escherichia coli* β-GLUCURONIDASE +

1.1. Matériel

- 1 tube de 5 mL d'échantillon noté « P1 » : préparé à partir de 100 g de chair de palourde introduit dans 900 mL de tryptone sel et broyé durant 20 secondes
- 4 tubes de 9 mL de tryptone sel
- 6 boîtes de Petri stériles
- 6 tubes de 12 mL de gélose TBX en surfusion
- 5 pipettes de 1 mL stériles

1.2. Mode opératoire

À partir de l'échantillon fourni P1, réaliser 4 dilutions décimales.

Montrer à l'examineur la réalisation d'une dilution.

Ensemencer dans la masse les 3 dernières dilutions, deux boîtes par dilution.

Incuber à 44°C durant 24 h.

1.3. Compte rendu

Justifier sur le compte rendu le choix de la température.

Justifier sur le compte rendu l'intérêt de la recherche d'*E. coli*.

2. IDENTIFICATION D'UN MICROORGANISME CONTAMINANT

Le contrôle régulier des eaux d'élevage a permis d'isoler un microorganisme souvent rencontré dans ce type d'élevage. Ce contaminant a été repiqué sur gélose trypticase-soja noté « C + n° ». À partir de cette souche, réaliser les examens macroscopiques et microscopiques.

Montrer à un examinateur les résultats obtenus.

Réaliser devant un examinateur le test enzymatique utile à l'orientation de l'identification de la souche.

Proposer par écrit une orientation justifiée de l'identification du contaminant bactérien à identifier.

Indiquer par écrit le(s) milieu(x) et la galerie miniaturisée nécessaires à l'identification du contaminant bactérien, avant l'heure limite qui sera indiquée par les examinateurs.

Les milieux seront distribués par les examinateurs 30 minutes avant la fin de l'épreuve.

Ensemencer ces milieux.

Les incuber 24 h à 37°C.

IMMUNOLOGIE (10 points)

Certains bassins de culture de bivalves ont été contaminés par une souche bactérienne responsable de la maladie de l'anneau brun (MAS) chez la palourde.

Cette maladie entraîne des baisses de rendement et génère des problèmes de commercialisation, bien que leur consommation soit sans risque.

La souche bactérienne responsable de la MAS a été isolée et identifiée comme étant *Vibrio tapetis*. Pour remplacer le diagnostic microbiologique sur milieu de culture sélectif, une méthode immunologique a été testée pour mettre en évidence *Vibrio tapetis*.

Elle est mise en oeuvre sur l'eau de deux bassins de culture dans lesquels des souches suspectes de *Vibrio* ont été isolées.

1. MATÉRIEL ET RÉACTIF

- 1 boîte de gel d'agarose à 1,5 %
- sérum anti *Vibrio tapetis* noté: « Ac anti Vt »
- peptides membranaires de *Vibrio tapetis* noté « Vt »
- peptides membranaires de *Vibrio* spp noté « Vs »
- extrait de peptides membranaires de *Vibrio* de l'eau du bassin 1 noté « E1 »
- extrait de peptides membranaires de *Vibrio* de l'eau du bassin 2 noté « E2 »
- emporte pièce pour creuser les puits
- pipette automatique P10 + cônes adéquats

2. MODE OPÉRATOIRE

- Creuser les puits à l'aide d'un emporte pièce selon le gabarit fourni en annexe 4.
- Déposer 5 µL par puits.
- Mettre en chambre humide à température ambiante pendant 24 à 48 heures.

3. COMPTE RENDU

Donner le nom de la méthode.

Compléter le gabarit de l'annexe 4 en identifiant clairement la nature et la localisation des différents dépôts.
Donner le rôle de « Vt » et « Vs ».

ANNEXE 1

Nom et Prénom du candidat:

N° Poste:.....

À compléter et à rendre avec la copie
Feuille de résultats - dosage du phosphore total

masse de KH_2PO_4 pesée	
-----------------------------------------	--

Tubes	0	1	2	3	4	5	E1	E2
Concentration P en mg.L^{-1}	0					2		
Vsolution étalon à 2 mg.L^{-1} (mL)								
V H_2O déminéralisée (mL)								
Vminéralisat (mL)							2	2
V _{acide ascorbique} (μL)	←————— 150 —————→							
V _{réactif molybdique} (μL)	←————— 500 —————→							
Attendre 30 minutes								
Absorbance à 700 nm								

ANNEXE 2

Nom et Prénom du candidat:

N° Poste:.....

À compléter et à rendre avec la copie
Feuille de résultats - dosage des nitrites et des nitrates

A à 540 nm	Dosage des nitrites			Dosage des (nitrites + nitrates)		
	Témoin (nitrites)	Essai 1 (nitrites)	Essai 2 (nitrites)	Témoin (nitrites + nitrates)	Essai 1 (nitrites + nitrates)	Essai 2 (nitrites + nitrates)
A1						
A2						
ΔA						

ANNEXE 3 : VALIDATION ET EXPRESSION D'UN RÉSULTAT (voir annexe 2 sujet B)

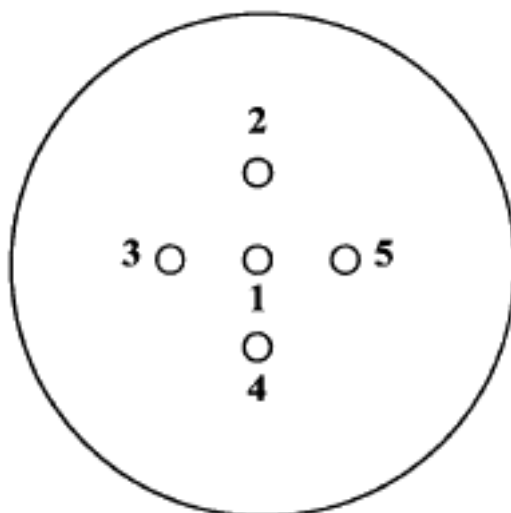
ANNEXE 4 : FEUILLE DE RÉSULTATS IMMUNOLOGIE

Nom et Prénom du candidat:

N° Poste:.....

À compléter et à rendre avec la copie

GABARIT :



Nature des dépôts:

1 :

2 :

3 :

4 :

5 :

Deuxième jour : 1 h 30

MICROBIOLOGIE

1. DÉNOMBREMENT d'Escherichia coli β-GLUCURONIDASE +

Dénombrer les colonies. Présenter les résultats dans un tableau.

Calculer le nombre d'*E. coli* présents selon la formule recommandée par la norme AFNOR:

$$N = \frac{\sum C}{v.(n_1 + 0,1.n_2).d}$$

- $\sum C$ est la somme des colonies suspectes sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives dont au moins une contient au minimum 15 colonies;
- v est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;
- n_1 est le nombre des boîtes retenues à la première dilution;
- n_2 est le nombre des boîtes retenues à la deuxième dilution;
- d est la dilution correspondant à la première dilution retenue.

Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs.

Retenir comme résultat un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance appropriée de 10.

Données:

- Échantillon P1 : préparé à partir de 100 g de chair de palourde introduit dans 900 ml de tryptone sel et broyé durant 20 secondes
- Conclure suivant l'annexe jointe.

2. IDENTIFICATION D'UN MICROORGANISME CONTAMINANT

Vérifier la pureté de la souche à identifier.

Effectuer la lecture des milieux et de la galerie d'identification.

Identifier le contaminant en justifiant votre choix.

IMMUNOLOGIE

Représenter sous la forme d'un schéma légendé les résultats.

Valider la technique.

Analyser les résultats obtenus.

Conclure.

ANNEXE : Grille de classement

CRITÈRES MICROBIOLOGIQUES PERMETTANT LA DÉTERMINATION DE LA QUALITÉ SANITAIRE DES ZONES DE PRODUCTION DE MOLLUSQUES (Depuis l'arrêté interministériel du 21 mai 1999)

N : Nombre d'<i>E. coli</i> pour 100 g de chair et de liquide intervalvaire	Zone	Exploitation	
Seuil microbiologique	Classement	Élevage	Pêche professionnelle sur gisement naturel
N < 230	A	Autorisé .Consommation directe	Autorisée. Consommation directe
230 < N < 4600	B	Autorisé: reparcage ou purification	Autorisée après reparcage ou purification
4600 < N < 46000	C	Interdit sauf dérogation préfectorale	Autorisée si reparcage de longue durée - 2 mois minimum
N > 46.000	D	Interdit	Interdite

NB : purification: immersion dans des bassins de traitements appropriés avant la mise en vente

E6-U62 Qualité appliquée aux industries alimentaires et aux bioindustries - ÉTUDE DE CAS 2008

Durée : 4 heures Coefficient : 4

Calculatrice interdite

FABRICATION DE LARDONS FUMÉS SURGELÉS

Petite entreprise de la filière viande, la société « X » fabrique des lardons fumés surgelés qu'elle conditionne en sacs de 2,5 kg et 10 kg avec une DLUO de 18 mois à -18°C.

Le directeur de cette société charge le responsable qualité de procéder à un état des lieux du système qualité.

Quatre aspects de la réalisation de cet état des lieux seront étudiés ici: - le système HACCP, -le contrôle de conformité d'opération unitaire, - les audits internes, - le plan de contrôle « produit fini ».

Le diagramme de fabrication des lardons fumés surgelés est donné dans l'annexe 1.

1. ÉTUDE HACCP DANS L'ATELIER « DÉCOUPE » (25 points)

L'étude porte sur les dangers microbiologiques inhérents aux opérations unitaires de cet atelier.

1.1. Définir le terme « HACCP », en préciser la méthodologie et les objectifs.

1.2. Donner les caractéristiques de l'équipe HACCP et proposer un exemple de composition de cette équipe dans le cas présent. Justifier.

1.3. Identification des CCP correspondant aux dangers microbiologiques

1.3.1. Expliquer le sigle « CCP » et le définir.

1.3.2. A l'aide des données des annexes 1, 2 et 3, procéder à l'identification des CCP dans l'atelier de découpe. Justifier.

1.4. Poursuivre l'étude HACCP en précisant les limites critiques et les éléments de surveillance.

2. CONTRÔLES AUX POSTES DE « SURGÉLATION » (20 points)

Deux étapes du process font appel à la surgélation:

- le « raidissage », 12 à 17 heures à -18°C ou 20 min en cellule à azote,
- la surgélation après découpe des lardons et avant conditionnement.

2.1. Une visite récente de la DGCCRF a montré des dysfonctionnements concernant le respect des températures à ces postes. En utilisant les données de l'annexe 4, expliquer ces dysfonctionnements et proposer des actions correctives.

2.2. Divers documents devront être rédigés. Leur maîtrise est une des exigences de la Norme ISO 9001 : 2000. Citer les dispositions permettant d'assurer cette maîtrise.

3. AUDIT INTERNE DANS L'ATELIER « TRANCHAGE DES LARDONS » (19 points)

3.1. Définir le terme « audit ». Préciser les caractéristiques de l'audit interne.

3.2. Un audit interne relatif à la maîtrise du produit non-conforme est réalisé. Indiquer les documents que le service audité devra fournir pour répondre aux exigences de la Norme ISO 9001 : 2000 (extrait présenté en annexe 5). Préciser les éléments contenus dans ces documents.

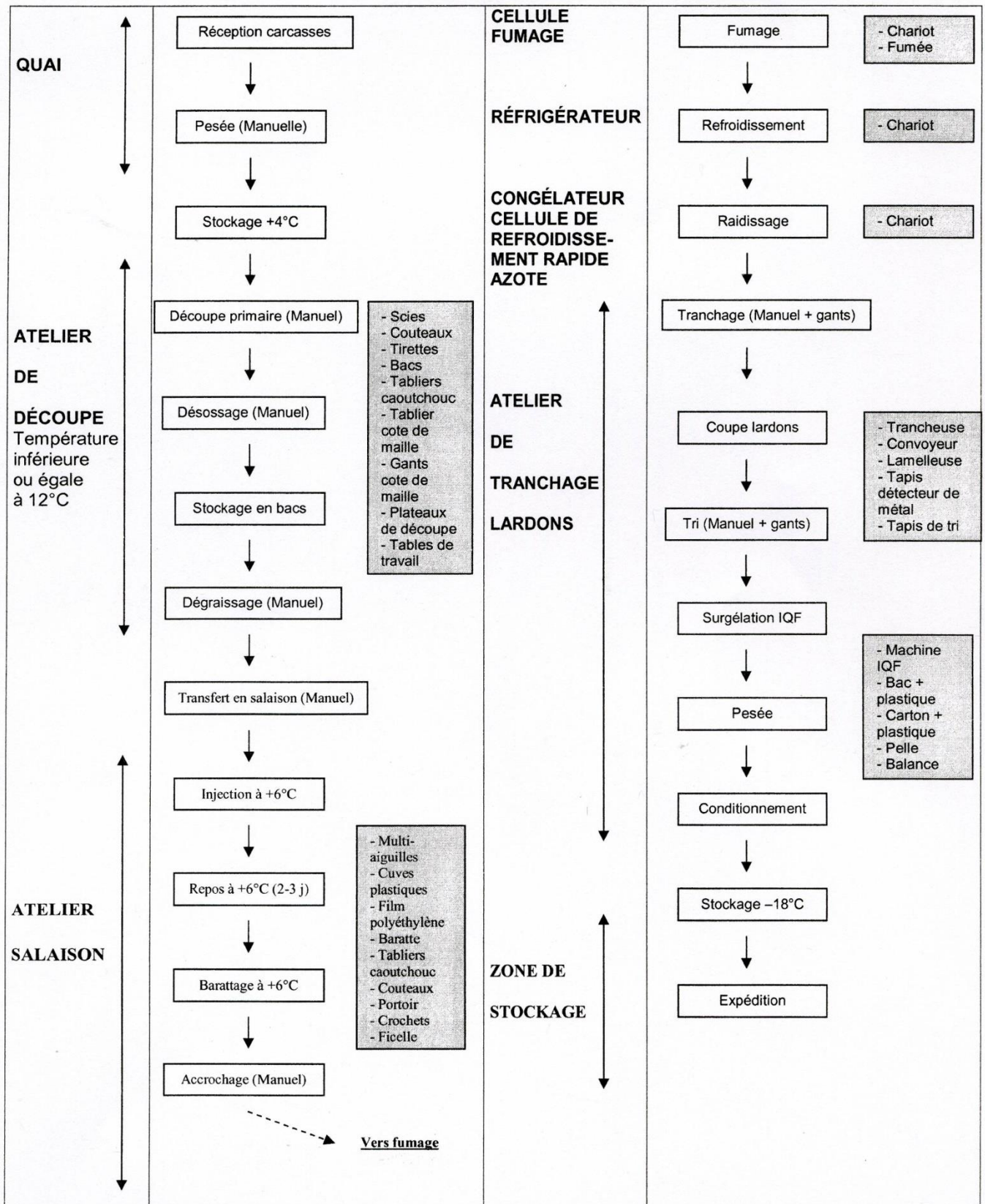
4. VÉRIFICATION DU PLAN DE CONTRÔLE « PRODUIT FINI » (16 points)

Le plan de contrôle concerne le produit fini conditionné en barquettes doubles de 2 x 100 g. Il s'agit d'un échantillonnage simple, contrôle à usage général, normal au départ, sur des lots de 20000 pièces avec un NQA de 1,5.

4.1. Définir le terme « NQA » en précisant ce qu'il représente.

4.2. Le tableau en annexe 6 présente les différents lots examinés, et pour chacun, la taille de l'échantillon prélevé et le nombre de non-conformes détectés. En utilisant les données des annexes 7, 8 et 9, compléter le tableau de l'annexe 6 qui est à rendre avec la copie. Justifier les décisions prises.

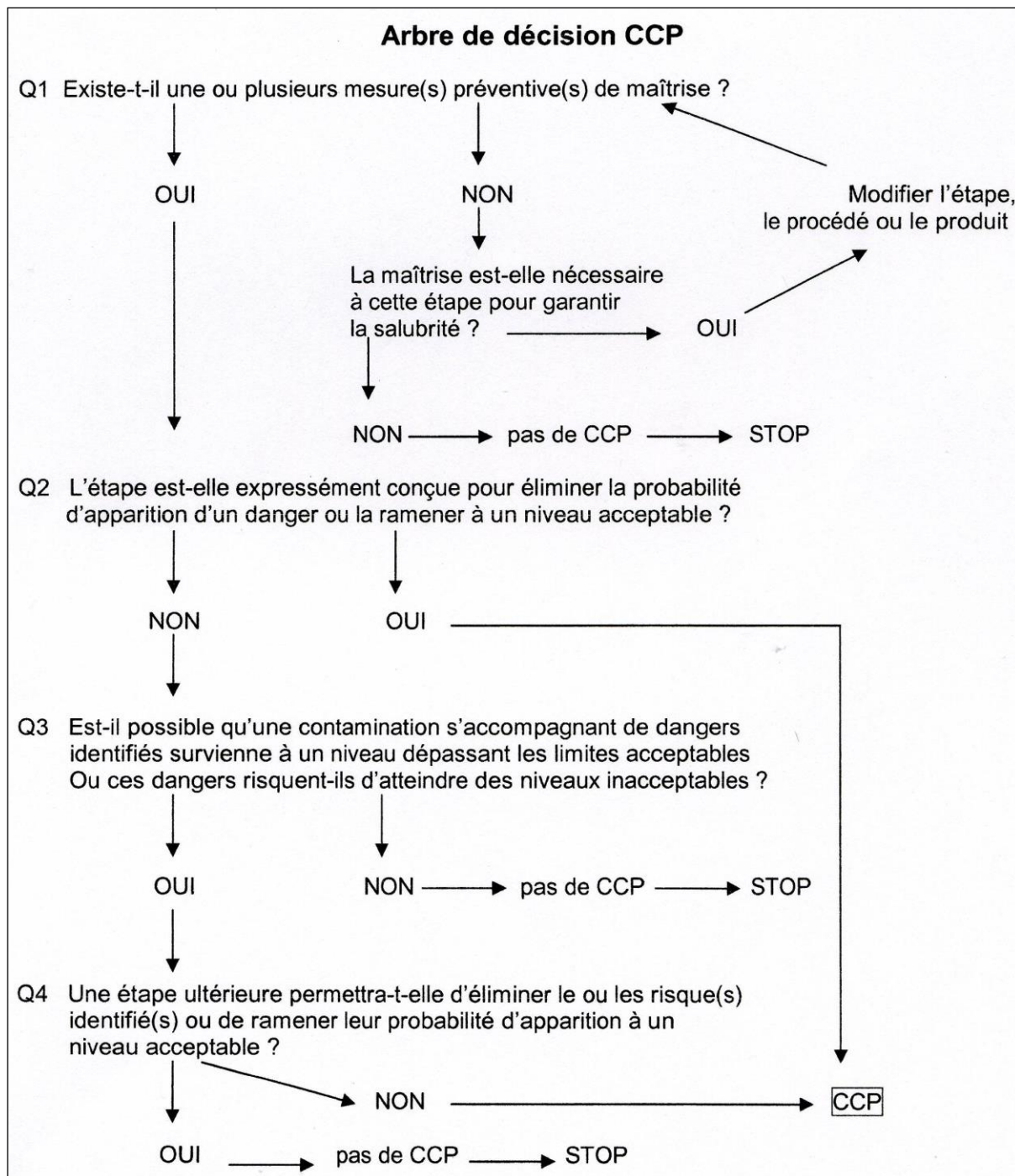
ANNEXE 1 : Diagramme de fabrication des lardons fumés surgelés



ANNEXE 2 : Mesures en place dans l'atelier de découpe

Activités	Modalités	Responsabilités
Nettoyage des locaux	Journalier, procédure en place	Chef d'atelier
Nettoyage des tenues et outils	Journalier, procédure affichée	Autocontrôle
Nettoyage des bacs	Journalier, procédure affichée	Agent de nettoyage intérimaire
Hygiène des mains	Instruction de travail affichée	Autocontrôle

ANNEXE 3 : Arbre de décision CCP



ANNEXE 4 : État des lieux

Intitulé	Matériel	Document	Opérateur	Responsable
Cellule à azote	Ancienne	Procédure en place	Récemment embauché, en cours de formation	Mme « I. », responsable surgélation
Congélateur	Ancien Révision annuelle non effectuée	Procédure en place	Intérimaire	Mme « I... », responsable surgélation
Machine à surgélation IQF	Neuve	Procédure en cours de rédaction	Mme « I... » responsable surgélation	Mme « I... », responsable surgélation

ANNEXE 5 :

Extrait Norme ISO 9001 : 2000: Système de management de la qualité: exigences Paragraphe 8.3 « Maîtrise du produit non-conforme »

L'organisme doit assurer que le produit qui n'est pas conforme aux exigences relatives au produit est identifié et maîtrisé de manière à empêcher son utilisation ou fourniture non intentionnelle. Les contrôles ainsi que les responsabilités et autorités associées pour le traitement des produits non conformes doivent être définis dans une procédure documentée.

L'organisme doit traiter le produit non conforme de l'une ou plusieurs des manières suivantes :

- a) en menant les actions permettant d'éliminer la non-conformité détectée;
- b) en autorisant son utilisation, sa libération ou son acceptation par dérogation accordée par une autorité compétente ou, le cas échéant, par le client;
- c) en menant les actions permettant d'empêcher son utilisation ou son application prévue à l'origine.

Les enregistrements de la nature des non-conformités et de toutes les actions ultérieures entreprises, y compris les dérogations obtenues, doivent être conservés.

Lorsqu'un produit non conforme est corrigé, il doit être vérifié de nouveau pour démontrer la conformité aux exigences.

Lorsqu'un produit non conforme est détecté après livraison ou après que son utilisation a commencé, l'organisme doit mener les actions adaptées aux effets, réels ou potentiels, de la non-conformité.

ANNEXE 6 : Tableau du contrôle « produit fini »

À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

N° du lot	n effectif de l'échantillon	A	R	Nombre de non-conformes	Décision	Poursuite du contrôle
1	315			7		
2	315			2		
3	315			7		
4	315			11		
5	315			9		
6	315			4		
7	315			7		
8	315			3		
9	315			2		
10	315			12		
11	315			8		
12	315			11		
13	315			7		
14	315			8		
15	315			9		
16	315			3		
17	315			5		
18	315			2		
19	315			7		
20	315			6		
21	315			9		

ANNEXE 7 : Correspondance effectif du lot / taille de l'échantillon en contrôle général

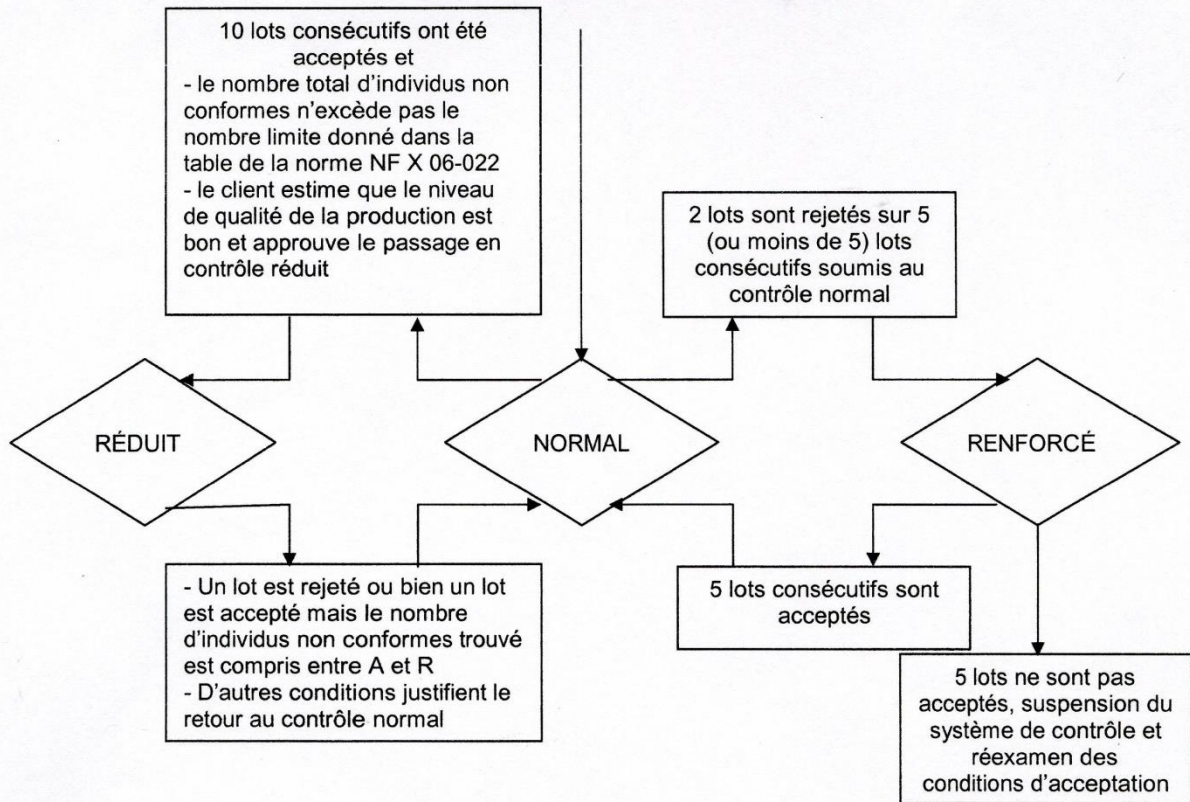
Effectif des lots	Niveaux de contrôle pour usages généraux		
	I	II	III
2 à 8	A	A	B
9 à 15	A	B	C
16 à 25	B	C	D
26 à 50	C	D	E
51 à 90	C	E	F
91 à 150	D	F	G
151 à 280	E	G	H
281 à 500	F	H	J
501 à 1200	G	J	K
1201 à 3200	H	K	L
3201 à 10 000	J	L	M
10 001 à 35 000	K	M	N
35 001 à 150 000	L	N	P
150 001 à 500 000	M	P	Q
500 001 et au-dessus	N	Q	R

Correspondance lettre-code / n, effectif de l'échantillon (échantillonnage simple)

Code	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K	L	M	N	P	Q	R
n	2	3	5	8	13	20	32	50	80	125	200	315	500	800	1250	2000

ANNEXE 8 : Règles de modification de contrôle

Règles de modification de contrôle



ANNEXE 9 : Critères d'acceptation (norme NF X 06-022)

Critères d'acceptation (norme NF X 06-022)

		Critères d'acceptation pour le contrôle réduit															
		A=0 R=1	A=0 R=2	A=1 R=3	A=1 R=4	A=2 R=5	A=3 R=6		A=5 R=8		A=7 R=10		A=10 R=13				
Contrôle		Critères d'acceptation pour le contrôle normal et renforcé												Contrôle			
Lettre code	Normal n	A=0 R=1	A=1 R=2	A=2 R=3	A=3 R=4	A=5 R=6	A=7 R=8	A=8 R=9	A=10 R=11	A=12 R=13	A=14 R=15	A=18 R=19	A=21 R=22	Réduit n	Lettre code		
A	2	2,53 6,5 68,4						C O N T R Ô L E R E N F O R C E S E U L		C O N T R Ô L E R E N F O R C E S E U L		C O N T R Ô L E R E N F O R C E S E U L		2	A		
B	3	1,7 4,0 53,6														2	B
C	5	1,02 2,5 36,9	7,63 10 58,4													2	C
D	8	0,64 1,5 25,0	2,64 6,5 40,6	11,1 10 53,9												3	D
E	13	0,394 1,0 16,1	2,81 4,0 26,8	6,63 6,5 36,0	11,3 10 44,4											5	E
F	20	0,256 0,65 10,9	1,80 2,5 18,1	4,22 4,0 24,5	7,13 6,5 30,4	14,0 10 41,5										8	F
G	32	0,161 0,4 6,94	1,13 1,5 11,6	2,59 2,5 15,8	4,39 4,0 19,7	8,50 6,5 27,1	13,1 10 34,1									13	G
H	50	0,103 0,25 4,50	0,712 1,0 7,56	1,66 1,5 10,3	2,77 2,5 12,9	5,34 4,0 17,8	8,20 6,5 22,4		9,39 10 26,0		12,9 10 29,1					20	H
J	80	0,064 0,15 2,84	0,444 0,65 4,78	1,03 1,0 6,52	1,73 1,5 8,16	3,32 2,5 11,3	5,06 4,0 14,2	5,87 6,5 16,2	7,91 6,5 18,6	9,61 10 22,2	11,9 10 24,2		32	J			
K	125	0,041 0,10 1,84	0,284 0,4 3,11	0,654 0,65 4,26	1,09 1,0 5,35	2,09 1,5 7,42	3,19 2,5 9,42	3,76 4,0 10,4	4,94 4,0 12,3	6,15 6,5 14,2	7,40 6,5 16,1	9,95 10 19,8	11,9 10 22,5	50	K		
L	200	0,0256 0,065 1,15	0,178 0,25 1,95	0,409 0,40 2,66	0,683 0,65 3,34	1,31 1,0 4,64	1,99 1,5 5,89	2,35 2,5 6,50	3,09 2,5 7,70	3,85 4,0 8,89	4,62 4,0 10,1	6,22 6,5 12,4	7,45 6,5 14,1	80	L		
M	315	0,0163 0,040 0,731	0,112 0,15 1,23	0,259 0,25 1,69	0,433 0,40 2,12	0,829 0,65 2,94	1,26 1,0 3,74	1,49 1,5 4,13	1,96 1,5 4,89	2,44 2,5 5,65	2,94 2,5 6,39	3,95 4,0 7,86	4,73 4,0 8,95	125	M		
N	500	0,0103 0,025 0,461	0,071 0,10 0,778	0,164 0,15 1,06	0,273 0,25 1,34	0,523 0,40 1,86	0,796 0,65 2,35	0,939 1,0 2,60	1,23 1,0 3,08	1,54 1,15 3,56	1,85 1,15 4,03	2,49 2,5 4,95	2,98 2,5 5,64	200	N		
P	800	0,0064 0,015 0,288	0,044 0,065 0,486	0,102 0,10 0,665	0,171 0,15 0,835	0,327 0,25 1,16	0,498 0,40 3,47	0,587 0,65 1,62	0,771 0,65 1,93	0,961 1,0 2,22	1,16 1,0 2,52	1,56 1,5 3,09	1,86 1,5 3,52	315	P		
Q	1250	0,0041 0,010 0,184	0,028 0,040 0,310	0,065 0,065 0,426	0,109 0,10 0,534	0,209 0,15 0,742	0,318 0,25 0,942	0,376 0,40 1,04	0,494 0,40 1,23	0,615 0,65 1,42	0,740 0,65 1,61	0,995 1,0 1,98	1,19 1,0 2,25	500	Q		
R	2000	0,0026 0,0041 0,115	0,0018 0,025 0,195	0,041 0,040 0,266	0,068 0,065 0,334	0,131 0,10 0,464	0,199 0,15 0,589	0,235 0,25 0,650	0,309 0,25 0,770	0,385 0,40 0,889	0,462 0,40 1,01	0,622 0,65 1,24	0,745 0,65 1,41	800	R		

* En contrôle réduit, lorsque le critère d'acceptation est dépassé, mais que le critère de rejet n'est pas atteint, le lot est accepté, mais le contrôle normal est rétabli.

* La flèche donne la correspondance entre le contrôle normal et le contrôle renforcé correspondant.

Sujets 2009

E1-

ANGLAIS

2009

Durée : 2 heures Coefficient: 2

L'usage de la calculatrice est interdit. L'usage d'un dictionnaire bilingue est autorisé

The world's wild places are falling silent

For decades, the chief threat to the world's wildlife was habitat destruction. Whether it was from impoverished locals burning a forest to raise cattle or a multinational denuding a tree-covered Malaysian hillside, wildlife was dying because species were being driven from their homes. Yes, poachers killed tigers and other trophy animals and subsistence hunters took
5 monkeys for bushmeat to put on their tables, but they were not a primary danger.

That has changed. "Hunting, especially in Central and West Africa, is much more serious than we imagined," says Russel Mittermeier, president of Conservation International. "It's huge," with the result that hunting now constitutes the pre-eminent threat to some species. That threat has been escalating over the past decades largely because the opening of forests to
10 logging and mining means that roads connect once impenetrable places to towns. "It's easier to get to where wildlife is and then to have access to markets," says conservation biologist Elizabeth Bennett of the Wildlife Conservation Society. Economic forces are also at play. Thanks to globalization, meat, fur, skins and other animal parts "are sold on an increasingly massive scale across the world," she says. Smoked monkey carcasses travel from Ghana to
15 New York and London, while gourmets in Hanoi and Guangzhou feast on turtles and pangolins from Indonesia. There is a thriving market for bushmeat among immigrants in Paris, New York, Montreal, Chicago and other points in the African diaspora, with an estimated 13,000 pounds of bushmeat - much of it primates - arriving every month in seven European and North American cities alone. "Hunting and trade have already resulted in widespread local
20 extinctions in Asia and West Africa," says Bennett. "The world's wild places are falling silent."

The problem now is that hunting, even of supposedly protected animals, is a global multimillion-dollar business. Eating bushmeat "is now a status symbol," says Thomas Brooks of Conservation International. "It's not a subsistence issue. It's not a poverty issue. It's
25 considered supersexy to eat bushmeat."

However the situation is not hopeless. With governments and conservationists recognizing the extinction threat posed by logging, mining and hunting, they are taking steps to ensure that animals do not come out along with the wood and minerals. In one collaboration, the government of Congo and the WCS work with a Swiss company, Congolaise Industrielle
30 des Bois, to ensure that employees and their families hunt only for their own needs; the company also makes sure that bushmeat does not get stowed away on logging trucks as illegal hunters try to take their haul to market.

Abridged and adapted from Sharon Begley, 'Africa', Newsweek, August 6, 2007

QUESTIONS

I. Compréhension (10 points)

1. Faire un compte rendu de l'article en français en mettant en évidence les idées essentielles (environ 120 mots, $\pm 10\%$).

2. Traduire en français le texte de la ligne 16 ("There is a thriving market..." à la ligne 21 ("...are falling silent. ").

II. Expression en anglais (10 points)

Answer the following questions in English.

1. What sorts of threats is the world's wildlife facing nowadays and why? (120 words, $\pm 10\%$)

2. Are there any solutions to the problem of the extinction of animal species? (100 words, $\pm 10\%$)

E2-U21 MATHÉMATIQUES

2009

Durée: 2 heures

Coefficient: 2

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.

*L'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé.
Le formulaire de mathématiques est joint au sujet (NON REPRODUIT ICI).*

Durée : 2 heures Coefficient 1

EXERCICE 1 (9 points)

Les deux parties de cet exercice sont indépendantes.

Un industriel fabrique des tuyaux en PVC destinés à l'évacuation des eaux sanitaires des habitations.

A. Loi binomiale et approximation d'une loi binomiale par une loi de Poisson

Dans cette partie, les résultats approchés sont à arrondir à 10^{-3} .

1. On s'intéresse à une livraison importante de tuyaux en PVC pour un grand groupe du secteur de la construction.

On note E l'événement « un tuyau prélevé au hasard dans la livraison est défectueux ».

On suppose que $P(E) = 0,015$.

On prélève au hasard 20 tuyaux dans la livraison pour vérification. La livraison est assez importante pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 20 tuyaux.

On considère la variable aléatoire X qui, à tout prélèvement ainsi défini, associe le nombre de tuyaux défectueux de ce prélèvement.

a) Justifier que la variable aléatoire X suit une loi binomiale dont on déterminera les paramètres.

b) Calculer la probabilité que, dans un tel prélèvement, aucun des tuyaux ne soit défectueux.

c) Calculer la probabilité que, dans un tel prélèvement, deux tuyaux au plus soient défectueux.

2° Les tuyaux sont expédiés dans les dépôts régionaux par lots de 200.

On prélève au hasard 200 tuyaux pour vérification dans un stock important. Le stock est assez important pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 200 tuyaux.

On considère la variable aléatoire Y qui, à tout prélèvement de 200 tuyaux, associe le nombre de tuyaux de ce prélèvement qui sont défectueux.

On admet que la variable aléatoire Y suit la loi binomiale de paramètres 200 et 0,015.

a) On considère que la loi de Y peut être approchée par une loi de Poisson. Déterminer le paramètre λ de cette loi de Poisson.

b) On désigne par Z une variable aléatoire suivant la loi de Poisson de paramètre λ , où λ a la valeur obtenue au a).

Calculer $P(Z \leq 4)$

B. Loi normale

Dans cette partie, les résultats approchés sont à arrondir à 10^{-2} .

Dans cette partie, on s'intéresse au diamètre extérieur des tuyaux, exprimé en millimètres.

1. On note D_1 la variable aléatoire qui, à tout tuyau prélevé au hasard dans la production d'une journée, associe son diamètre extérieur. On suppose que la variable aléatoire D_1 suit la loi normale de moyenne 40 et d'écart type 0,2. Un tuyau ne peut être commercialisé que lorsque son diamètre extérieur est compris entre 39,6 mm et 40,4 mm. Calculer la probabilité qu'un tuyau prélevé au hasard dans la production de la journée soit commercialisable.
2. L'entreprise désire améliorer la qualité de la fabrication des tuyaux : il est envisagé de modifier le réglage des machines produisant les tuyaux. On note D_2 la variable aléatoire qui, à chaque tuyau prélevé au hasard dans la production journalière future, associera son diamètre. On suppose que la variable aléatoire D_2 suit une loi normale de moyenne 40 et d'écart type σ .
Déterminer σ pour que la probabilité qu'un tuyau prélevé au hasard dans la production journalière future puisse être commercialisable soit égale à 0,99.

EXERCICE 2 (11 points)

Les deux parties A et B de cet exercice peuvent être traitées de façon indépendante.

A. Résolution d'une équation différentielle

On considère l'équation différentielle (E) : $2y' + y = 8 e^{-0,5t}$ où y est une fonction de la variable réelle t , définie et dérivable sur $[0, +\infty[$, et y' la fonction dérivée de y .

1. Déterminer les solutions sur $[0, +\infty[$ de l'équation différentielle (E_0) : $2y' + y = 0$.
2. Soit h la fonction définie sur $[0, +\infty[$ par $h(t) = 4t e^{-0,5t}$
Démontrer que la fonction h est une solution particulière de l'équation différentielle (E).
- 3° En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).
- 4° Déterminer la solution f de l'équation différentielle (E) qui vérifie la condition initiale $f(0) = 1$.

B. Étude d'une fonction et calcul intégral

Soit f la fonction définie sur $[0, 15]$ par $f(t) = (4t + 1) e^{-0,5t}$.

On désigne par C la courbe représentative de f dans un repère orthogonal $(O; \vec{i}, \vec{j})$

Unités graphiques: 1 cm sur l'axe des abscisses, 4 cm sur l'axe des ordonnées.

1. On désigne par f' la fonction dérivée de la fonction f .
On admet que, pour tout nombre réel t de $[0, 15]$, $f'(t) = (3,5 - 2t) e^{-0,5t}$.
Ce résultat n'a pas à être démontré

- a) Étudier le signe de $f'(t)$ sur $[0, 15]$.
- b) Établir alors le tableau de variation de f

2. Tracer la courbe C sur une feuille de papier millimétré.

3. Soit F la fonction définie sur $[0, 15]$ par : $F(t) = (-18 - 8t) e^{-0,5t}$

- a) Démontrer que la fonction F est une primitive de la fonction f sur $[0, 15]$.

- b) On note $I = \int_0^{11} f(t).dt$.

Démontrer que $I = 18 - 106 e^{-5,5}$.

C. Application des parties A et B

Dans une usine, on se propose de tester un nouveau modèle de hotte aspirante pour les laboratoires.

Avant de lancer la fabrication en série, on a réalisé l'expérience suivante avec un prototype: dans un local clos de volume 500 m^3 , équipé du prototype de hotte aspirante, on diffuse du dioxyde de carbone (CO_2) à débit constant.

Dans ce qui suit, t est le temps exprimé en minutes.

À l'instant t_0 , la hotte est mise en marche. Les mesures réalisées permettent d'admettre qu'au bout de t minutes de fonctionnement de la hotte, avec $0 \leq t \leq 15$, le volume de dioxyde de carbone, exprimé en m^3 , contenu dans le local est $f(t)$, où f est la fonction définie dans la partie B.

1. Déterminer le volume de dioxyde de carbone, en m^3 , présent dans le local au moment de la mise en marche de la hotte aspirante.
2. L'atmosphère « ordinaire » contient 0,035 % de dioxyde de carbone, ce qui correspond pour le local où a été réalisé l'expérience à un volume de $0,175 \text{ m}^3$ de dioxyde de carbone.
À l'aide d'une lecture graphique sur la figure réalisée à la question B.2., déterminer au bout de combien de temps de fonctionnement de la hotte aspirante l'atmosphère dans le local clos contenait un volume de dioxyde de carbone inférieur ou égal à $0,175 \text{ m}^3$.
3. Calculer le volume moyen V_m de dioxyde de carbone présent dans le local pendant les 11 premières minutes de fonctionnement de la hotte aspirante. Donner la valeur exacte de V_m , puis la valeur approchée de V_m arrondie à 10^{-1} .

La formule donnant la valeur moyenne d'une fonction est dans le formulaire ci-joint.

Durée: 2 heures Coefficient: 3

Calculatrice autorisée.

ÉTUDE D'UN SORBET À LA POIRE

La composition d'un sorbet à la poire est la suivante :

Poire (46%), (purée et morceaux), eau, sucre inverti, sucre, acide citrique, oligofructose, stabilisants (farine de graines de caroube, pectine, carraghénanes), protéines de lait et lactose, arôme.

Le mélange des ingrédients qui est pasteurisé, homogénéisé et mûri avant d'être congelé, est appelé le « mix ».

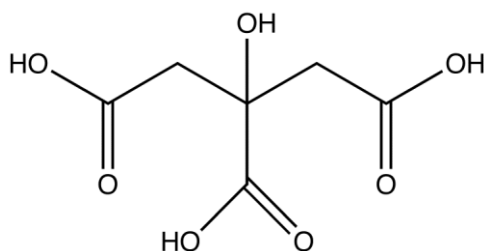
La congélation maintient la température au coeur du sorbet jusqu'à -18°C . Ce procédé provoque la cristallisation en glace de l'eau contenue dans les aliments.

1. Étude de l'acide citrique (4 points)

Données :



L'acide citrique est le nom courant de l'acide 3-carboxy-3-hydroxy-pentanedioïque, de masse molaire $192 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. On donne sa formule semi-développée :



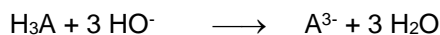
1.1. Entourer et nommer les groupes fonctionnels.

1.2. Écrire les équations des réactions de dissociation observées lors de sa mise en solution dans l'eau. (L'acide citrique peut être noté H_3A)

1.3. Établir le diagramme de prédominance de ces différentes espèces.

Le service qualité de l'entreprise souhaite contrôler la teneur en acide citrique de la solution qui va être ajoutée au mix. Le mix ne doit pas contenir plus de 5 g/kg d'acide citrique pour être conforme à la législation.

On dose 10 mL de la solution d'acide citrique par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH à $1,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. On donne l'équation du dosage :



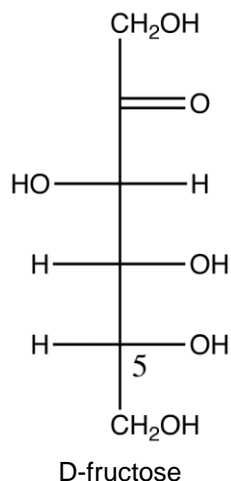
L'équivalence est observée pour un volume $V_{\text{NaOH}} = 7,8 \text{ mL}$.

1.4. Déterminer la concentration molaire puis la concentration massique de la solution d'acide citrique.

1.5. Sachant que la recette indique un ajout de 10 L de solution d'acide citrique pour préparer 100 kg de mix, le mix respectera-t-il la législation ou faut-il modifier la recette ?

2. Étude de la structure du fructose (4 points)

Le principal glucide de la poire est le fructose qui a pour formule linéaire semi-développée :



- 2.1. De quel type de représentation s'agit-il?
- 2.2. Recopier la molécule de fructose. Entourer et nommer les différentes fonctions chimiques en précisant éventuellement la classe.
- 2.3. Définir un carbone asymétrique et repérer sur la molécule le(s) carbone(s) asymétrique(s).
- 2.4. Définir le terme « chiral ».
- 2.5. Classer les substituants du carbone 5 du fructose selon les règles CIP. et déterminer sa configuration absolue.
- 2.6. Donner la représentation de Fischer du L-fructose. L'énantiomère naturel est-il de la série D ou de la série L ?

3. Étude de réactions autour du sucre (5,5 points)

3.1. Combustion du glucose :

- 3.1.1. Écrire et équilibrer la réaction de combustion complète du glucose solide (formule brute: $C_6H_{12}O_6$) sachant qu'il se forme du dioxyde de carbone gazeux et de l'eau liquide.
- 3.1.2. Déterminer la variation d'enthalpie standard de combustion du glucose.
- 3.1.3. Déterminer la variation d'entropie standard de combustion du glucose sachant que la variation d'enthalpie libre standard de combustion du glucose est de $-2\,867,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ à 298 K.

On donne les enthalpies standard de formation:

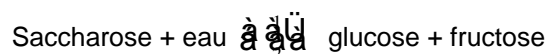
$$\Delta H_f^\circ(\text{CO}_2(\text{g})) = -393,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\Delta H_f^\circ(\text{H}_2\text{O}(\text{l})) = -285,8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\Delta H_f^\circ(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6(\text{s})) = -1\,268 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\Delta H_f^\circ(\text{O}_2(\text{g})) = 0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

3.2. Transformation du saccharose à 298 K



$$\Delta S^{\circ r} = 4,66 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$$

$$\Delta H^{\circ r} = -26,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

- 3.2.1. Déterminer l'enthalpie libre standard de cette réaction.
- 3.2.2. Conclure sur la spontanéité de la réaction dans le sens 1 en justifiant.
- 3.2.3. Déterminer la constante de cet équilibre (sens 1). Que peut-on conclure sur cette réaction?

Donnée :

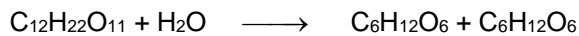
$$R = 8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$$

4. Dosage du sucre inverti par polarimétrie (4,5 points)

On souhaite contrôler une des matières premières par polarimétrie : le sucre inverti.

4.1. Définir le terme « substance optiquement active ».

4.2. Rappeler la loi de Biot, en précisant la signification des grandeurs et leurs unités. Le sucre inverti est obtenu par hydrolyse du saccharose selon la réaction suivante :



4.3 Le saccharose est-il dextrogyre ou lévogyre ? Justifier.

Une mesure de l'angle de rotation est effectuée à 20°C sur le sucre inverti (on estime que l'hydrolyse du saccharose a été totale) et la valeur obtenue est de -9,5°.

4.4. Justifier l'appellation «sucre inverti » donnée au mélange obtenu après hydrolyse du saccharose.

4.5. Calculer les concentrations massiques en glucose et en fructose dans la solution de sucre inverti.

Données :

Longueur du tube optique $l = 1,0 \text{ dm}$

Pouvoir rotatoire spécifique du glucose : $[\alpha]_{20} = + 52^\circ \text{ L.kg}^{-1}.\text{dm}^{-1}$ (ou... $\text{dm}^2. \text{kg}^{-1}$)

Pouvoir rotatoire spécifique du fructose : $[\alpha]_{20} = - 92^\circ \text{ L.kg}^{-1}.\text{dm}^{-1}$ (ou... $\text{dm}^2. \text{kg}^{-1}$)

Pouvoir rotatoire spécifique du saccharose : $[\alpha]_{20} = + 66^\circ \text{ L.kg}^{-1}.\text{dm}^{-1}$ (ou... $\text{dm}^2. \text{kg}^{-1}$)

5. Refroidissement du mix (2 points)

On donne :

- Température de changement d'état du mix : -1,9°C
- Capacité thermique massique du mix avant congélation : 3,55 kJ.kg⁻¹.K⁻¹
- Capacité thermique massique du mix après congélation: 1,88 kJ.kg⁻¹.K⁻¹
- Chaleur latente de changement d'état du mix: 280 kJ.kg⁻¹

Une entreprise a produit 700 kg de mix (poires écrasées, sucre...), à température ambiante (20°C), et elle doit le congeler à -18°C.

5.1. Déterminer la quantité de chaleur nécessaire pour amener le mix de 20°C à son point de congélation (-1,9°C).

5.2. Déterminer la quantité de chaleur nécessaire pour changer d'état le mix.

5.3. Déterminer la quantité de chaleur pour amener le mix de la température de changement d'état (-1,9°C) à la température de stockage (-18°C).

5.4. En déduire la quantité de chaleur totale à retirer au mix par l'entreprise.

LE SOJA, NOUVEL ALIMENT

Les oléagineux sont peu utilisés comme source de protéines, excepté en Extrême-Orient, où les graines de soja sont employées dans la préparation d'aliments traditionnels tels que le tofu, le miso ou la sauce de soja. L'annexe 1 présente le diagramme de fabrication de deux de ces produits. La richesse de ces végétaux en nutriments lipidiques et protéiques et leurs propriétés hypolipémiantes et hypocholestérolémiantes ouvrent des perspectives intéressantes en alimentation humaine. L'utilisation des techniques traditionnelles alliée à la mise au point de nouveaux procédés permettent une évolution notable de leur consommation dans les pays développés.

PARTIE BIOCHIMIE (36 points)

1. LA FRACTION LIPIDIQUE

L'extraction des lipides, essentiellement des lécithines et des triglycérides riches en acides gras $\omega 6$ et $\omega 3$, est réalisée par entraînement par un solvant organique adéquat (n-hexane).

- 1.1. La lécithine de soja utilisée comme additif alimentaire est un agent émulsifiant; c'est en réalité un mélange de glycérophosphatides dans lequel la phosphatidylcholine (ou lécithine) ne représente que 40 % de la composition. D'après les données présentées en annexe 2, écrire la formule de la phosphatidylcholine et justifier son utilisation en tant qu'agent émulsifiant.
- 1.2. Les acides gras $\omega 6$ et $\omega 3$ du soja sont des acides gras à 18 ou 20 atomes de carbone et à deux ou trois doubles liaisons.
Chez les végétaux, leur synthèse se fait à partir de l'acide oléique (C18:1 $\omega 9$).
Compléter le tableau présenté en annexe A (à rendre avec la copie).
Les acides gras marqués d'une astérisque dans cette annexe sont des acides gras indispensables. Définir ce terme.

2. LA FRACTION PROTIDIQUE

La farine délipidée est une source de protéines végétales ; il en dérive par ailleurs des fragments peptidiques présentant une propriété organoleptique particulière, le goût unami. Ainsi le peptide Gly-Glu-Ser, dont le goût unami est très prononcé, apparaît lors de l'hydrolyse enzymatique des protéines de soja.

- 2.1. Indiquer les enzymes catalysant cette transformation.
- 2.2. A l'aide de l'annexe 2, écrire la formule développée de ce peptide.

3. PRODUITS INDÉSIRABLES

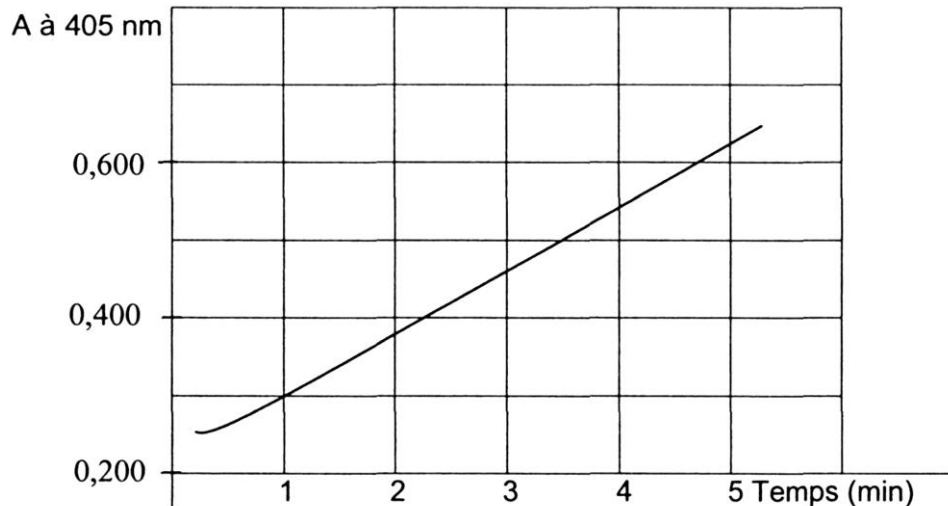
Des produits, tels que le raffinose, sucre non métabolisable, doivent être éliminés.

Le raffinose est l' α -D-galactopyranosyl (1-6) α -D-glucopyranosyl (1-2) β -D-fructofuranoside. Dans les procédés présentés en annexe 1, il est éliminé par lavage. Si on souhaite utiliser le lait de soja, le raffinose peut être dégradé par une α -galactosidase.

- 3.1. Écrire la réaction de dégradation en précisant le nom des produits de la réaction (les formules chimiques sont attendues).
- 3.2. Une enzyme extraite d'*Aspergillus niger* est utilisée pour appliquer ce traitement au niveau industriel. Après extraction et purification partielle, le protocole est appliqué au dosage de l' α -galactosidase:

Orthonitrophényl α -galactoside à 0,1 mol.L ⁻¹	0,48 mL
Tampon acétate pH 7,6	2,00 mL
Incuber à 30°C pendant 5 minutes.	
Extrait	0,02 mL

Dès l'adjonction de l'extrait, la variation de l'absorbance à 405 nm est suivie en fonction du temps. L'enregistrement présenté ci-dessous est obtenu :



3.2.1. Donner le principe de cette technique.

3.2.2. Justifier l'incubation à 30°C et l'utilisation d'une solution tampon.

3.2.3. Déterminer graphiquement $\Delta A/\Delta t$.

3.2.4. La concentration catalytique $cat\ c$ de l'extrait est donnée $cat\ c = k \cdot \Delta A/\Delta t$ avec $cat\ c$ en $U.L^{-1}$.
Établir la formule littérale du facteur multiplicateur k . Déterminer sa valeur numérique.

3.2.5. Calculer la concentration catalytique $cat\ c$ et exprimer le résultat en $U.L^{-1}$.

3.2.6. Sachant qu'un volume de 10 mL d'extrait a été obtenu à partir de 1,45 mg de biomasse sèche, exprimer l'activité de l'extrait en U par g de biomasse sèche.

Donnée : $\epsilon_{ONP} = 1800\ m^2 \cdot mol^{-1}$.

PARTIE TOXICOLOGIE (19 points)

Les graines de soja contiennent en outre des isoflavones biologiquement actives : les phytoœstrogènes qui présentent une analogie structurale avec les œstrogènes.

Les principales phytoœstrogènes en quantité importante dans le soja sont la génistéine et la daidzéine présentées en annexe 3. L'équol est leur produit de métabolisation actif dans l'organisme.

Les extraits de soja, riches en ces substances, sont utilisés comme compléments alimentaires destinés aux troubles de la ménopause et à l'hypercholestérolémie.

Sur saisine de la DGCCRF*, l'AFSSA** a établi un rapport sur les allégations concernant ces troubles et sur les risques liés à la consommation de produits dérivés du soja pour le nourrisson et le jeune enfant. Quelques extraits de ces rapports sont cités en annexe 4.

1. À l'aide de l'annexe 4, décrire et nommer les étapes de la phase toxicocinétique des phytoœstrogènes.

Préciser à quelle étape et de quelle manière se forment les glucuroconjugés. Indiquer leur intérêt métabolique.

2. Donner les définitions de la NOAEL (DSE), de la DJT et justifier la valeur limite chez l'homme retenue par le groupe de travail.

3. Définir les termes « génotoxicité » et « cancérogénicité ».

4. Une forte proportion d'enfants nord-américains (30%) est nourrie au lait de soja. Les concentrations en isoflavones à activité phytoœstrogène dans ces préparations sont en moyenne de $40\ mg.L^{-1}$.

Sachant qu'un nourrisson de 4 mois consomme quotidiennement environ 1 L de lait de soja, calculer pour une masse corporelle moyenne de 5 kg la quantité ingérée d'isoflavones (exprimée par kg de masse corporelle).

Conclure.

5. Le soja contient d'autres substances aux effets indésirables, tels que les STI (Inhibiteur antiTrypsine du Soja) et l'acide phytique (ester phosphorique d'un polyalcool cyclique).

Indiquer à quelle catégorie de toxiques appartiennent ces substances et préciser leur mode d'action.

* Direction Générale de la Concurrence de la Consommation et de la Répression des Fraudes

**Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

PARTIE MICROBIOLOGIE (45 points)

La sauce de soja est produite par la transformation du soja et du blé en présence de chlorure de sodium. Les différentes étapes de cette transformation sont détaillées dans l'annexe 1. Différents microorganismes (moisissure, levure et bactérie) interviennent dans cette transformation. La moisissure a un rôle important dans l'amylolyse et la protéolyse du substrat. Une double fermentation lactique et alcoolique est provoquée par la levure et la bactérie. Chacune des étapes de cette fabrication est analysée.

ÉTAPE 1: FABRICATION DU KOJI

- 1.1. *Aspergillus* est un champignon microscopique. Il s'agit d'une moisissure appartenant aux Septomycètes
 - 1.1.1. Définir les termes soulignés.
 - 1.1.2. Donner un exemple d'une moisissure n'appartenant pas aux Septomycètes.
- 1.2. Réaliser un schéma légendé d'un *Aspergillus*.
- 1.3. Schématiser les différentes étapes du développement asexué de ce champignon (de la spore à l'appareil fructifère caractéristique du genre).
- 1.4. Le blé apporte de nombreux glucides au mélange.
Préciser le(s) rôle(s) de ces glucides pour *Aspergillus*.
Nommer les grandes voies métaboliques de dégradation de ces glucides par la moisissure.
- 1.5. Le soja est très riche en protéines. Préciser comment *Aspergillus* dégrade ces molécules et le(s) rôle(s) qu'elles peuvent avoir pour lui.

2. ÉTAPE 2 : FABRICATION DU MOROMI

- 2.1. Le levain ajouté au koji contient une levure et une bactérie. Préciser à quels types cellulaires appartiennent respectivement ces deux cellules et justifier la réponse.
- 2.2. Les microorganismes se développant lors de cette deuxième étape ont un pH optimal de 5,5 et une température optimale de 28°C. Qualifier ces microorganismes.
- 2.3. NaCl ajouté à 18% intervient en tant qu'exhausteur de goût mais également en tant que conservateur.
 - 2.3.1. Donner la définition d'un conservateur alimentaire.
 - 2.3.2. Expliquer comment une concentration en NaCl de 18% peut jouer le rôle de conservateur alimentaire.
 - 2.3.3. Préciser le nom des microorganismes capables de se développer en sa présence à de telles concentrations.
 - 2.3.4. D'après l'annexe 1, proposer une hypothèse quant à la capacité d'*Aspergillus* à se développer dans le moromi. Justifier la réponse.
- 2.4. L'ajout du levain (levure, bactérie) permet un abaissement du pH du moromi. Expliquer ce phénomène en écrivant les réactions bilan de la fermentation homolactique et de la fermentation alcoolique à partir d'une molécule de glucose (les formules chimiques ne sont pas attendues).

3. ÉTAPE 3 : FABRICATION DE LA SAUCE DE SOJA

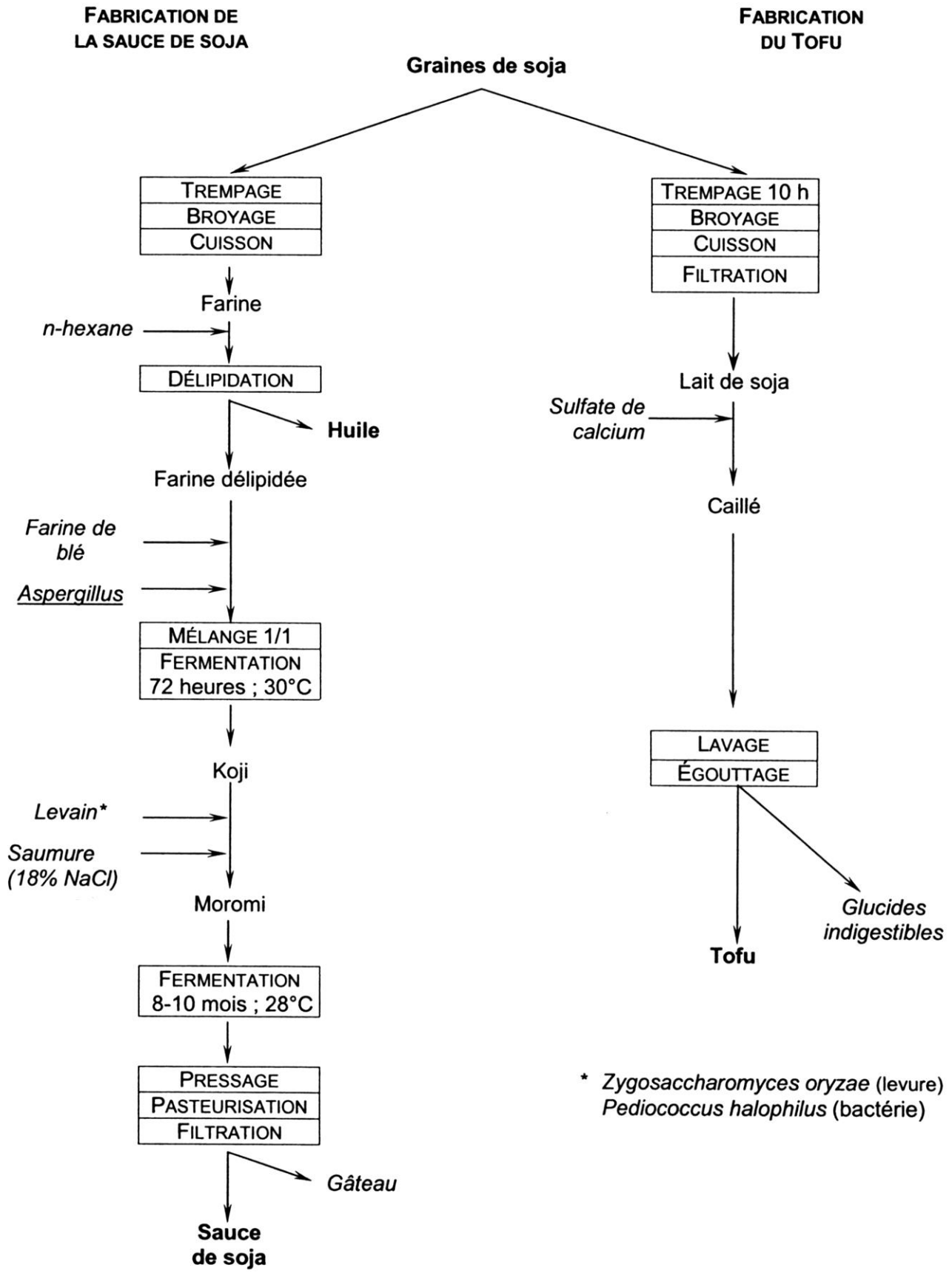
- 3.1. La pasteurisation est réalisée entre 70 et 80°C. Tracer la courbe d'inactivation d'une population microbienne par la chaleur.
- 3.2. Préciser la nature des microorganismes éliminés par la pasteurisation. En déduire l'effet produit sur les microorganismes utilisés lors de la fabrication de la sauce de soja. Expliquer.
- 3.3. La sauce de soja peut être conservée à température ambiante pendant plusieurs mois. Expliquer ce qui dans cet aliment empêche le développement microbien.

4. FERMENTATION INDUSTRIELLE

Les différentes étapes de fermentation du soja sont réalisées en batch, dans des fermenteurs de 100 L.

- 4.1. Définir un batch.
- 4.2. Comparer un batch et une culture en continu.
- 4.3. Expliquer pourquoi la culture en continu n'est pas adaptée à la fabrication de la sauce de soja.

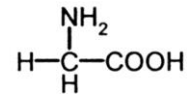
ANNEXE 1



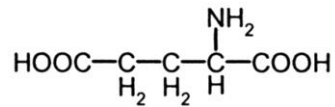
* *Zygosaccharomyces oryzae* (levure)
Pediococcus halophilus (bactérie)

ANNEXE 2

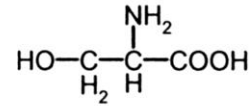
Glycine (gly)



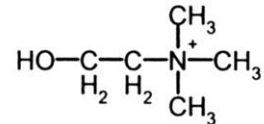
Acide glutamique (glu)



Sérine (ser)

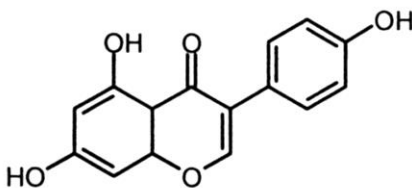


Choline

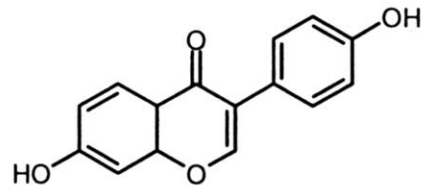


ANNEXE 3

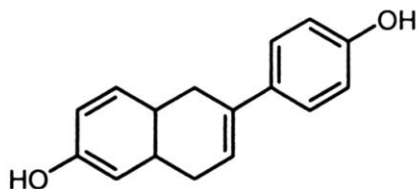
STRUCTURE CHIMIQUE DE QUELQUES PHYTO-OESTROGÈNES ET D'UN OESTROGÈNE



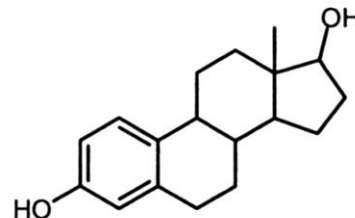
génistéine



daidzéine



équol
(produit de métabolisation)



17 β oestradiol

ANNEXE 4 : RAPPORT AFSSA (EXTRAITS)

"Sécurité et bénéfices des phytoœstrogènes apportés par l'alimentation" (2 mars 2005)

La biodisponibilité des phytoœstrogènes a été étudiée. Les phytoœstrogènes sont majoritairement présents dans les plantes sous forme de glucosides, or ils doivent être déglycosidés pour être absorbés dans l'organisme, on aboutit alors à des composés aglycones. Les phytoœstrogènes passent donc dans le foie sous forme aglycone où ils subissent des étapes de détoxication par les enzymes hépatiques. Sécrétés dans la vésicule biliaire, ils peuvent revenir dans le côlon selon un cycle entéro-hépatique similaire à celui des œstrogènes. Ils sont ensuite éliminés par les urines et les fécès, où on peut les retrouver majoritairement sous forme de glucuroconjugés, et en faible proportion sous forme d'aglycones. Ce circuit, entre ingestion et apparition dans la circulation sanguine, dure environ 6 à 8 heures. Lors de leur passage dans l'organisme, les phytoœstrogènes sont métabolisés en composés actifs (ex : équol) ou non (ex: O-DMA). Dans le cas d'une ingestion réitérée, on observe l'existence d'un plateau cinétique qui indique la possibilité du maintien d'une certaine dose d'isoflavones dans le plasma et donc l'exposition des cellules.

Enfin, il existe actuellement une hypothèse selon laquelle les Asiatiques pourraient avoir un métabolisme de ces substances différent de celui des Occidentaux, peut-être lié à une exposition ancestrale, et qui conduirait à des taux circulants plus faibles. (...)

La sécurité d'emploi des phytoœstrogènes a été étudiée en se référant à la méthodologie d'évaluation de la sécurité codifiée dans le domaine du médicament: chez l'animal et selon certaines conditions (...).

L'effet toxicologique majeur observé chez l'animal est une perte de poids et d'appétence. La toxicité par administration répétée pendant une durée suffisante conduit à établir une NOAEL de 120 mg/kg de poids corporel par jour.

Les études de génotoxicité ont montré in vitro l'existence de mutations sur modèle murin.

Les études de carcinogénicité font ressortir un risque concernant les tumeurs hormono-dépendantes et, lors d'une exposition pendant la gestation des animaux, des adénomes dans la descendance qui rappellent ce qui est observé aujourd'hui chez l'humain avec le DES (Diéthylstilbestrol).




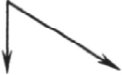
Les effets observés sur le développement et la maturation des organes sexuels sont les plus importants : on observe des altérations lors d'une exposition in utero ou néonatale.

Enfin, les études chez l'animal montrent l'existence d'une interaction avec les hormones thyroïdiennes. (...)

Le groupe de travail a retenu comme limite chez l'Homme, la valeur de 1 mg d'isoflavones aglycone par kg de poids corporel et par jour. (...)

ANNEXE A :

À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

Nom	Formule	Enzyme
Acide oléique C18:1 ω9 	Désaturase
Acide linoléique* C18:2 ω6 	Désaturase
Acide γ linoléique C18:3 ω3 	Élongase
Acide dihomog γ linoléique C20:3 ω6 	Désaturase
Acide arachidonique* C20:4 ω6	

Durée: 4 heures Coefficient : 5

Calculatrice autorisée

DE L'UTILISATION DU SOJA POUR LA PRODUCTION DE PRÉPARATIONS INDUSTRIELLES "AU GOÛT DU JOUR"**PREMIÈRE PARTIE GÉNIE INDUSTRIEL (50 points)**

Le tonyu (appelé également lait de soja) désigne traditionnellement le jus de soja obtenu après broyage humide des graines entières. Il est utilisé en remplacement dans les pays occidentaux pour les individus qui digèrent difficilement le lait de vache. Il peut être aussi employé pour la préparation industrielle de crèmes et desserts, de plats cuisinés à base de tofu; le tofu est un produit protéique concentré obtenu par coagulation des protéines du tonyu.

Un procédé de préparation industrielle du tonyu est présenté en **annexe 1**.

1. PRÉPARATION DES GRAINES (5 points)

1.1. Expliquer en quoi consiste le tri des graines.

1.2. Pour faciliter le dépelliculage, les graines triées et nettoyées doivent être réhumidifiées pour obtenir une humidité relative de 10 %. Calculer la masse d'eau à ajouter par kilogramme de graines sachant que la teneur initiale en eau est de 8,5 %. Expliquer le calcul.

2. BROYAGE (5 points)

2.1. Indiquer sur la copie les légendes n°1 à 4 du schéma de broyeur donné en annexe 2.

2.2. Préciser de quel type de broyeur il s'agit.

2.3. Exposer son principe de fonctionnement.

3. SÉPARATION DU TONYU (PHASE LIQUIDE) ET DE L'OKARA (PHASE SOLIDE) PAR CENTRIFUGATION (20 points)

La séparation est réalisée à l'aide d'une centrifugeuse à assiettes.

Dans le cas d'un fonctionnement en continu, il est nécessaire de calculer le débit limite (q_{lim}):

$$q_{lim} = v_s \cdot A_e \quad \text{avec : } v_s = \text{vitesse de sédimentation}$$

$$A_e = \text{Aire équivalente de sédimentation}$$

3.1. Donner la définition du « débit limite » dans le cadre d'une clarification.

3.2. Citer deux paramètres ayant une influence sur la vitesse de sédimentation et deux paramètres ayant une influence sur l'aire équivalente.

3.3. Les particules solides, de diamètre moyen égal à $3 \cdot 10^{-5}$ m et de masse volumique égale à $1\,028 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ sédimentent dans la phase liquide de masse volumique égale à $1\,010 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ et de viscosité égale à $2,4 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$.

Calculer la vitesse de sédimentation en utilisant la loi de Stokes :

$$v_s = \frac{D^2(\rho_2 - \rho_1)g}{18\eta}$$

avec :

D = diamètre des particules

ρ_1 = masse volumique de la phase dispersante ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

ρ_2 = masse volumique de la phase dispersée ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

η = viscosité de la phase dispersante ($\text{Pa} \cdot \text{s}$)

$g = 9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$

3.4. Les caractéristiques de la centrifugeuse sont les suivantes :

- nombre d'assiettes : $n = 50$
- angle d'inclinaison des assiettes: $\varphi = 45^\circ$
- rayon interne: $R_B = 5.10^{-2} \text{ m}$
- rayon externe: $R_A = 15.10^{-2} \text{ m}$
- vitesse = 1100 rpm

3.4.1. 1100 rpm correspondent à une vitesse angulaire de 115 rad.s^{-1} . Démontrer ce résultat.

3.4.2. Calculer l'aire équivalente au moyen de l'équation ci-dessous:

$$A_e = \frac{\omega^2}{g} \cdot \frac{2\pi n}{3} \cdot \tan \varphi (R_A^3 - R_B^3)$$

3.5. Calculer le débit limite en $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$ puis en L.h^{-1} .

3.6. Légender le schéma de l'annexe 3 en reportant les numéros sur la copie.

4. TRAITEMENT THERMIQUE DU TONYU (20 points)

Le traitement thermique du tonyu correspond à une pasteurisation. Il permet de terminer l'élimination des lipoxygénases et de la flore bactérienne, mais aussi d'améliorer la digestibilité des protéines par inactivation des facteurs antitrypsiques.

4.1. Définir les termes « pasteurisation » et « valeur pasteurisatrice ».

4.2. Sur le schéma de l'annexe A (à rendre avec la copie), repérer les différentes sections composant une installation de traitement thermique en continu. Préciser le rôle de ces différentes sections lors d'un traitement thermique.

4.3. Le type d'échangeur utilisé lors de la pasteurisation du tonyu est un échangeur tubulaire.

Le fluide caloporteur est de l'eau qui circule à contre-courant du tonyu.

Les caractéristiques de ce fluide sont:

- masse volumique de l'eau : $\rho = 1\,000 \text{ kg.m}^{-3}$
- débit volumique de l'eau : $Q_{v \text{ eau}} = 4000 \text{ L.h}^{-1}$
- chaleur massique spécifique de l'eau : $C_{P \text{ eau}} = 4,18 \text{ kJ.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$
- température d'entrée de l'eau = 98°C

Le tonyu possède les caractéristiques suivantes :

- masse volumique du tonyu : $\rho = 1\,010 \text{ kg.m}^{-3}$
- débit volumique du tonyu : $Q_{v \text{ tonyu}} = 2\,000 \text{ L.h}^{-1}$
- chaleur massique spécifique du tonyu : $C_{P \text{ tonyu}} = 3,96 \text{ kJ.kg}^{-1}.\text{C}^{-1}$
- température d'entrée du tonyu = 18°C
- température de sortie du tonyu = 90°C

4.3.1. Déterminer la puissance de l'échangeur en kW.

4.3.2. Déterminer la température de sortie de l'eau.

4.3.3. Déterminer la surface (A) totale de l'échangeur.

Données:

- puissance de l'échangeur = P
- $P = C_p \cdot Q_m \cdot (T_{\text{sortie}} - T_{\text{entrée}})$
- $P = U \cdot A \cdot \Delta T_m$
- ΔT_m = moyenne logarithmique des différences de températures
- $\Delta T_m = (\Delta T_1 - \Delta T_2) / \text{Ln} (\Delta T_1 / \Delta T_2)$
- Q_m = débit massique (kg.s^{-1})
- U = coefficient global de transfert de chaleur : $U = 1800 \text{ W.m}^{-2}.\text{C}^{-1}$

4.4. Le traitement thermique met en oeuvre un échangeur tubulaire. Certaines unités de pasteurisation en continu du tonyu ont une section de chauffage équipée de tubes à passage de courant (technologie ACTIJOULE®). Construire un tableau comparant ces deux types d'échangeurs sur les aspects suivants : principe de fonctionnement, avantages et inconvénients.

DEUXIÈME PARTIE SCIENCES DES ALIMENTS (50 points)

Une entreprise familiale de production de yaourts traditionnels « YA' DÉLICIES » souhaite se lancer sur de nouveaux marchés en élargissant sa gamme de produits proposés au public. Une déclinaison de ces yaourts est déjà en cours de réalisation. Elle devrait permettre, d'ici la fin de l'année, de produire une nouvelle gamme de desserts lactés et de desserts au soja.

1. DU LAIT AUX YAOURTS (15 points)

- 1.1. Définir les termes « lait » et « yaourt ».
- 1.2. Le lait est un mélange multiphasique.
 - 1.2.1. Préciser les différentes phases présentes dans le lait.
 - 1.2.2. Citer trois protéines contenues dans le lait.
- 1.3. À l'aide du diagramme de fabrication général des yaourts (Annexe 4), citer les opérations unitaires où interviennent les changements biochimiques et/ou microbiologiques. Expliquer ces changements.
- 1.4. Un certain pourcentage de la population, variable selon les groupes humains, présente une intolérance à un des composants du lait.
 - 1.4.1. Nommer le trouble dont il est question.
 - 1.4.2. Expliquer l'origine de ce trouble.
 - 1.4.3. Préciser si une telle réaction peut se produire lors de la consommation de yaourt. Justifier.

2. DESSERTS LACTÉS (10 points)

Le choix pour la fabrication de desserts lactés s'est porté sur une crème dessert chocolatée.

- 2.1. Indiquer deux différences entre un dessert lacté et un yaourt.
- 2.2. Les desserts lactés sont soumis à des contrôles microbiologiques plus stricts que les yaourts.
 - 2.2.1. Expliquer, pour le yaourt, ce qui permet une meilleure protection microbiologique du produit.
 - 2.2.2. Citer les procédés qui pourront être utilisés sur ces desserts lactés pour garantir une protection microbiologique suffisante.
 - 2.2.3. Préciser si ce(s) procédé(s) sont employés sur les yaourts. Justifier.

3. DESSERTS AU SOJA (19 points)

La production de desserts au soja est prévue sur la même ligne de production que celle des crèmes desserts chocolatés.

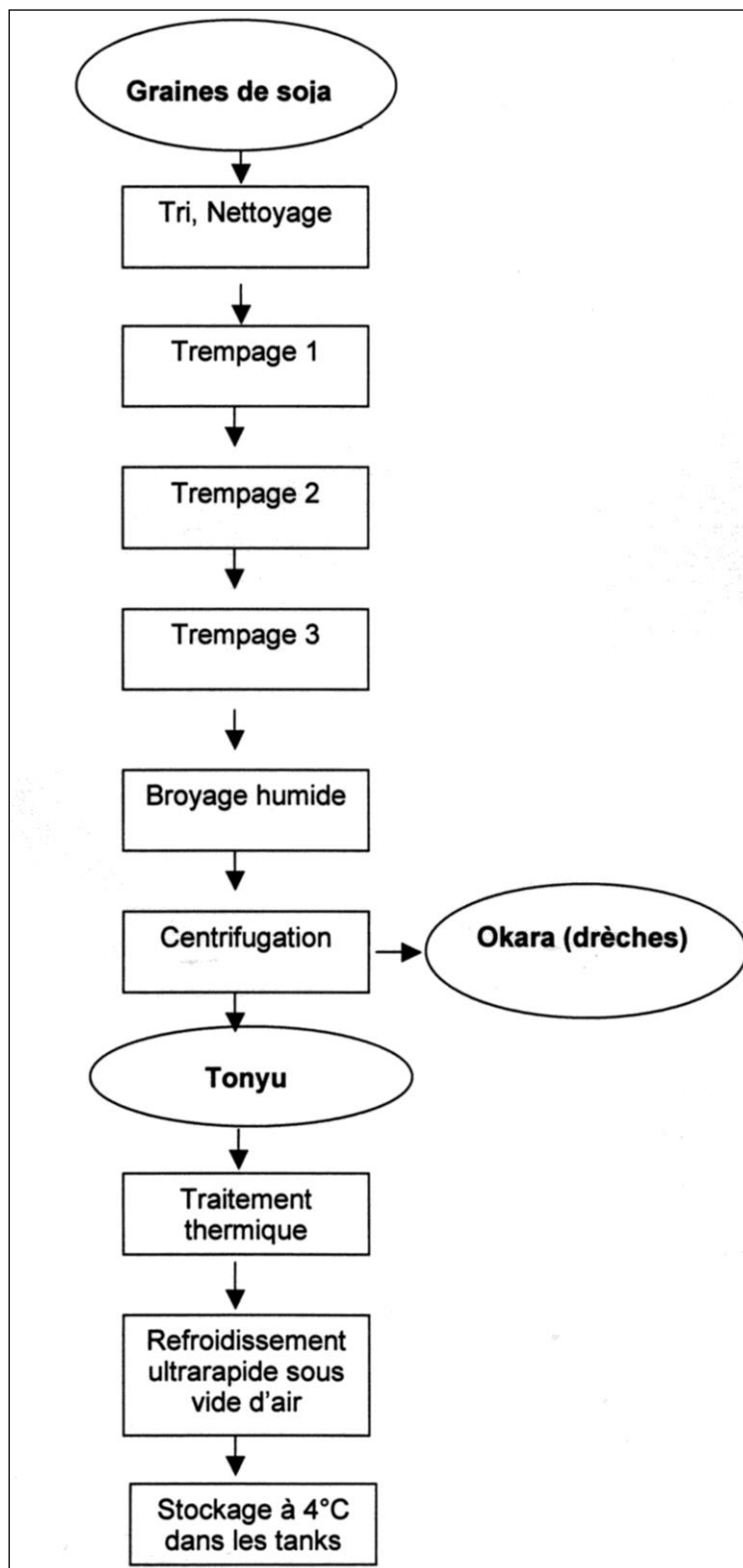
- 3.1. Dans ce type de produit, les protéines du soja remplacent celles du lait. Indiquer trois propriétés techno-fonctionnelles attendues.
- 3.2. Citer la catégorie d'aliments à laquelle appartient le soja et en donner les principales caractéristiques nutritionnelles.
- 3.3. Les desserts au soja sont plutôt au chocolat que nature. Justifier ce choix.
- 3.4. Il est possible d'extraire du soja un additif alimentaire très utilisé.
 - 3.4.1. Définir ce qu'est un additif alimentaire.
 - 3.4.2. Nommer la molécule dont il est question. En donner la structure et en préciser les propriétés.
 - 3.4.3. Cette molécule n'appartient pas au groupe des auxiliaires de fabrication. Justifier.
- 3.5. Comparer les qualités nutritionnelles des desserts au soja nature et au chocolat (annexe 5). Expliquer.
- 3.6. Citer une autre utilisation du soja.

4. ÉTIQUETAGE (6 points)

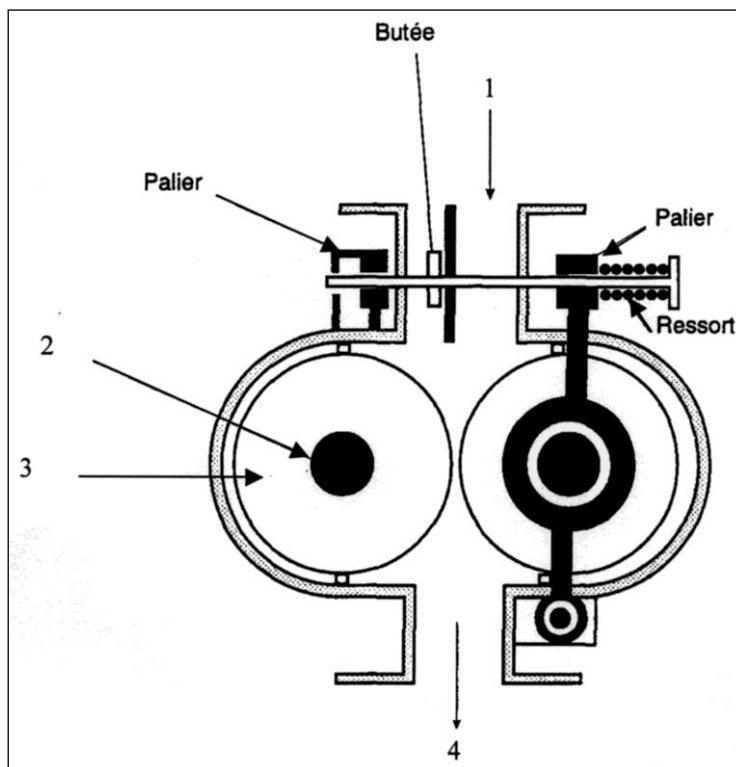
Le projet d'étiquetage est présenté en annexe 6.

- 4.1. Le projet d'étiquette comporte la mention : « À conserver entre +2°C et +4°C ». Expliquer l'importance de cette mention.
- 4.2. Préciser le type de date indiquée sur ce projet d'étiquette. Commenter la pertinence de ce choix et proposer, si besoin, une autre mention.

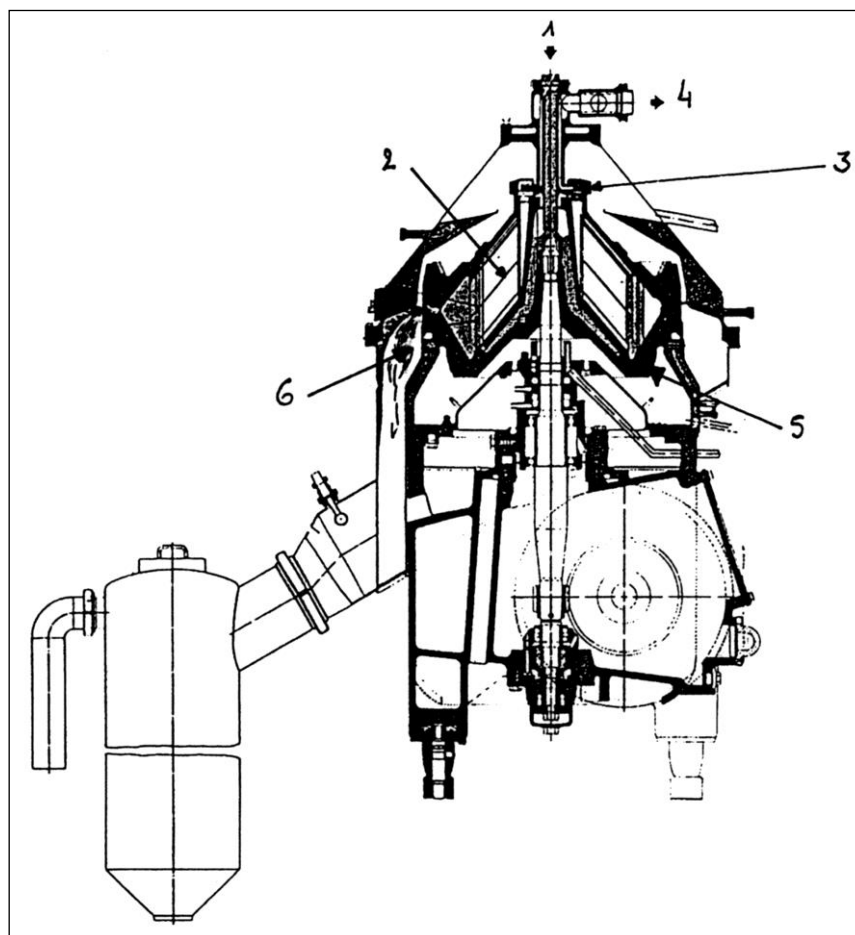
ANNEXE 1 : DIAGRAMME DE FABRICATION DE TONYU



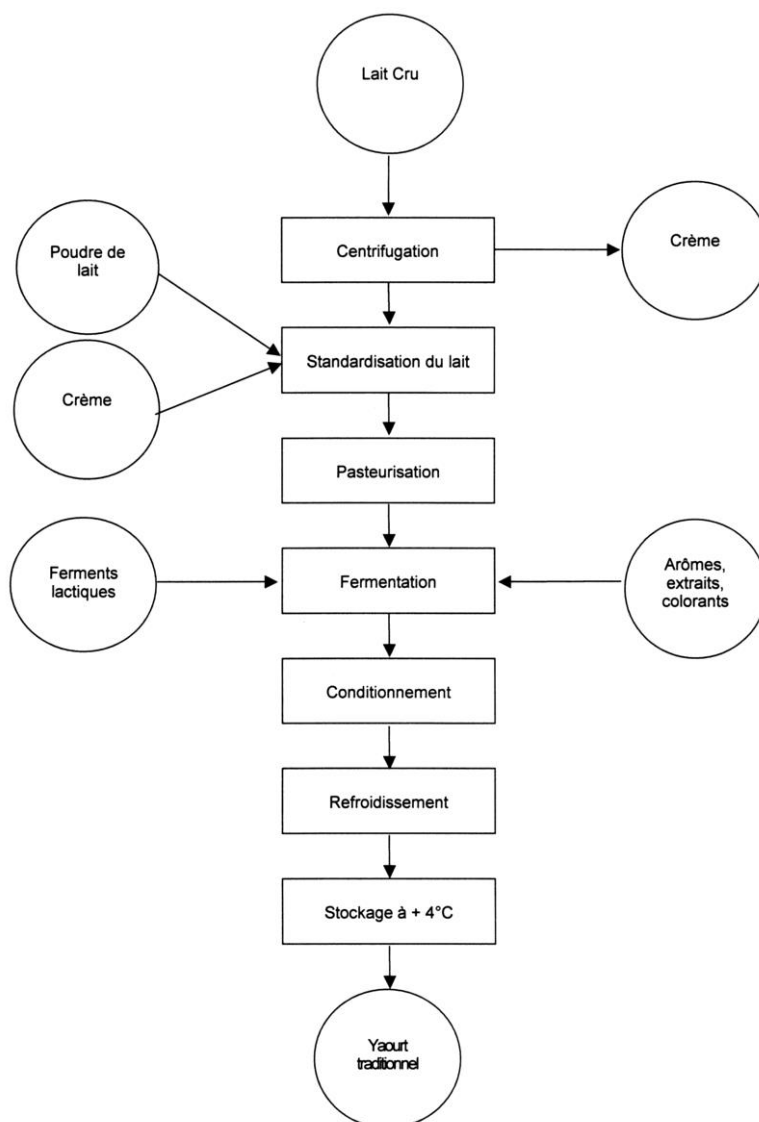
ANNEXE 2 : SCHÉMA EN COUPE D'UN BROYEUR



ANNEXE 3 : SCHÉMA D'UN CLARIFICATEUR À ASSIETTES



ANNEXE 4 : DIAGRAMME DE FABRICATION DES YAOURTS TRADITIONNELS



ANNEXE 5

COMPOSITION MOYENNE D'UN DESSERT AU SOJA POUR 100 g de produit

Dessert au soja Nature

Protides	4,6g
Glucides	2,0 g
Lipides	2,7g
Calcium	0,0 mg
Cholestérol	0,0 mg

Dessert au soja au Chocolat

Protides	3,4 g
Glucides	19,0 g
Lipides	2,7g
Calcium	0,0 mg
Cholestérol	0,0 mg

ANNEXE 6

À conserver entre +2 et +4°C

3 033490 140229

25.0215.38
F

Fabrique et commercialisé par : YA' DELICES France
35062 La Pognie sur Mer Cedex

Ingrédients : Tonymu 75,7% (eau, graines de soja), sucre (12,7%), chocolat en poudre 4% (sucre, cacao en poudre), épaississants : amidon transformés, gomme de xanthane, cacao maigre, pâte de cacao, phosphate de calcium, sel.

Soj'Ya

De YA'DELICES

**Dessert Soja
Au CHOCOLAT**

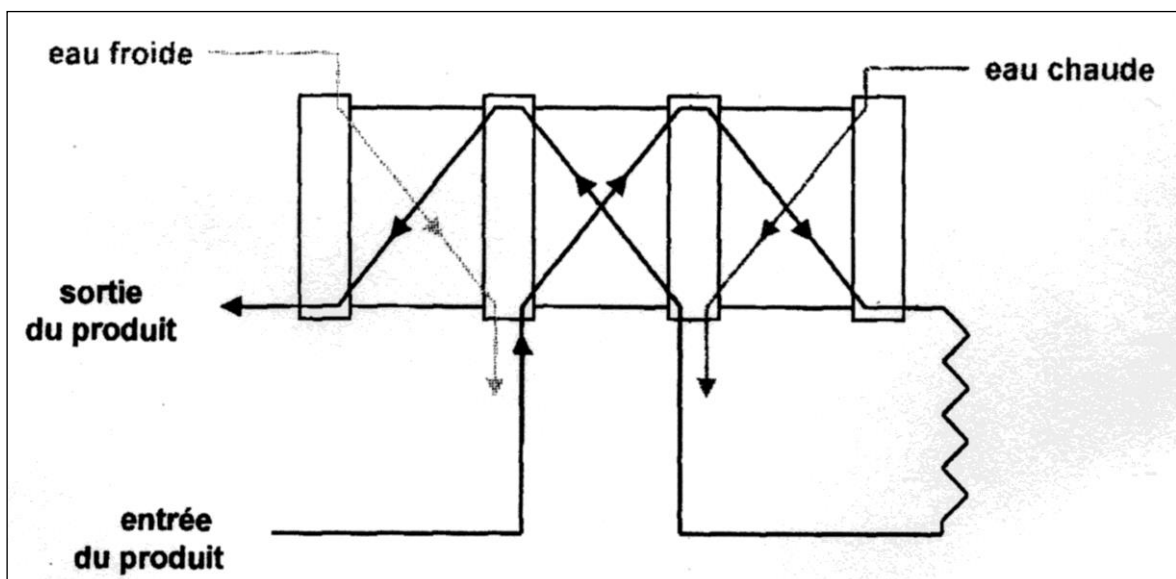
A consommer de préférence avant : XXXXXXXXXX

Poids net :
400 g e

COMPOSITION NUTRITIONNELLE POUR UN POT DE 100 G AJR*				
- Protéines :	4,1g	- Cholestérol :	0,0mg	15 %
- Glucides :	19,7g	- Sodium :	traces	
dont sucres :	17,0g	- Calcium :	100mg	
- Lipides :	4,0g			
dont acides gras :				
• saturés	0,60g	* AJR : Apports Journaliers recommandés		
• monoinsaturés	2,00g			
• polyinsaturés	1,40g			
dont α -linoléique	0,15g			

ANNEXE A

À COMPLÉTER ET À INSÉRER DANS LA COPIE
SCHEMA GÉNÉRAL D'UNE INSTALLATION DE TRAITEMENT THERMIQUE EN CONTINU



SUIVI DE FABRICATION DE SAUCISSON SEC

Premier jour : 4 h 30

Le saucisson sec est un produit carné fermenté. Sa fabrication résulte de l'action de bactéries (lactobacilles et certaines espèces de staphylocoques), mais également de champignons (levures, moisissures telles que *Penicillium nalgiovense*). Un suivi de fabrication va être réalisé grâce à des contrôles microbiologiques, biochimiques et immunologiques.

1. CONTRÔLES DES FERMENTS (14 points)

1.1. Contrôle des ferments bactériens

Un mélange de ferments bactériens de saucisson sec, noté « F1 », est proposé à l'étude.

Réaliser une coloration de Gram et conclure sur la qualité du mélange de ferments.

Effectuer un isolement sur les milieux M₁, M₂ et M₃.

M₁ et M₂ sont utilisés pour sélectionner les ferments bactériens, M₃ pour mettre en évidence une éventuelle contamination fécale.

Indiquer un nom possible pour chacun des milieux M₁, M₂ et M₃.

1.2. Contrôle du ferment fongique

Le ferment fongique est présenté en tube noté « F2 ».

Réaliser un examen macroscopique.

Réaliser un examen microscopique et fournir un dessin annoté.

À l'aide du document fourni en annexe 1, identifier son genre.

Conclure sur la conformité du ferment.

2. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES DU SAUCISSON SEC (14 points)

Le règlement 2073/2005 du « Paquet Hygiène » précise les critères microbiologiques d'hygiène et de sécurité.

Les critères d'hygiène permettent un suivi de fabrication dans les ateliers. Pour évaluer ces critères, une entreprise fabriquant du saucisson sec dénombre *Escherichia coli* dans ses produits.

Pour contrôler l'hygiène de son personnel, l'entreprise dénombre les staphylocoques présumés pathogènes.

Les critères microbiologiques internes du saucisson sec, fixés par l'entreprise, sont :

- *Escherichia coli* : $5 \cdot 10^2$ /g
- Staphylocoques présumés pathogènes : $5 \cdot 10^2$ /g

2.1. Préparation de l'échantillon

Cette étape a été effectuée pour obtenir le broyat fourni noté « Bs ».

10 g de saucisson sec ont été pesés, déposés dans un sac stérile.

90 mL de tryptone-sel leur ont été ajoutés. L'ensemble a été broyé.

2.2. Matériel à disposition

- 1 tube contenant le broyat de saucisson sec noté « Bs »
- 3 tubes de 9 mL de milieu tryptone-sel stérile

- 1 flacon de gélose TBX en surfusion à $(51 \pm 1) ^\circ\text{C}$
- 4 boîtes de gélose Baird-Parker Pipettes stériles de 1 mL ou équivalent
- Râteau ou billes stériles
- 6 boîtes de Petri vides stériles

2.3. Mode opératoire

Le dénombrement d'*Escherichia coli* et des staphylocoques présumés pathogènes est effectué.

Les dilutions adéquates sont réalisées en sachant que l'entreprise se fixe une marge de sécurité en s'assurant de pouvoir dénombrer les microorganismes si leur nombre est égal à 10 fois les critères internes.

2.3.1 Dénombrement d'*E. coli* dans le broyat « Bs »

Technique de dénombrement en profondeur sans double couche

Milieu TBX

Dilutions : à déterminer

Essais : deux par dilution

Procéder à l'ensemencement de trois dilutions pour le milieu TBX.

Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 à 24 heures.

NB : montrer la réalisation d'une dilution à un examinateur.

2.3.2 Dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes

Technique de dénombrement en surface

Milieu : gélose Baird Parker

Dilutions : à déterminer

Essais : deux par dilution

Procéder à l'ensemencement de deux dilutions sur milieu Baird Parker.

Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 à 24 heures.

2.4. Compte rendu

Justifier les dilutions utilisées ainsi que la température d'incubation.

3. DOSAGE COLORIMÉTRIQUE DES NITRITES (13 points)

Les nitrites sont présents dans les charcuteries sous forme d'additifs (nitrite de potassium, nitrite de sodium,...) afin d'assurer une bonne conservation en éliminant le risque de botulisme. Ils permettent également le maintien de la couleur rouge caractéristique des viandes séchées.

Ces nitrites doivent être toutefois dosés afin de s'assurer que leur teneur est conforme à la réglementation.

3.1. Principe

Les nitrites en milieu acide, réagissent avec les amines aromatiques pour former un sel de diazonium par réaction de diazotation. L'ion diazonium formé réagit avec l'acide sulfanilique pour donner un complexe rose stable, absorbant à 435 nm.

3.2. Matériel et réactifs

- Nitrite de sodium pur et anhydre
- Réactif phénol-sulfanilique
- Ammoniaque
- Filtrat « F » à doser
- Eau désionisée
- 1 fiole jaugée de 100 mL
- 1 pipette automatique type P 1000
- Cônes
- Cuves de spectrophotométrie
- Sabot de pesée

3.3. Traitement préliminaire

25 g de saucisson sont déposés dans un ballon d'extraction de 100 mL. Les réactifs nécessaires à l'extraction des nitrites sont ajoutés et l'ensemble est filtré puis récupéré dans une fiole jaugée de 200 mL qui est complétée avec de l'eau désionisée. Le filtrat obtenu est appelé « F ».

3.4. Mode opératoire

Réaliser la solution étalon par pesée de nitrite de sodium.

Introduire dans une fiole jaugée de 100 mL la masse de nitrite de sodium. Compléter à 100 mL avec de l'eau désionisée.

Appeler l'examineur pour la réalisation de la pesée.

Données : $M(\text{NO}_2^-) = 46 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M(\text{NaNO}_2) = 69 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Diluer cette solution au 1/100, pour obtenir la solution étalon « E ».

Dans une série de cuves, préparer la gamme d'étalonnage et les essais selon le tableau de colorimétrie ci-dessous:

N° tube	0	1	2	3	4	5	Essai 1	Essai 2
Solution étalon « E » (mL)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5		
Filtrat « F » (mL)							0,5	0,5
Eau désionisée	qsp 0,5 mL							
Réactif phénol-sulfanilique (mL)	0,5							
Ammoniaque (mL)	0,5							
Nitrites (μmol)								

Après homogénéisation, laisser la coloration se développer 10 minutes.

Lire l'absorbance à 435 nm. La coloration est stable pendant une heure.

3.5. Résultats

Calculer la concentration molaire en nitrites de la solution étalon préparée.

Réaliser la régression linéaire à l'aide de l'outil informatique.

Compléter la feuille de résultats présentée en annexe A.

Calculer la concentration molaire en nitrites du filtrat.

Calculer la concentration massique en nitrites du filtrat.

Déterminer la teneur en nitrites dans le saucisson exprimée en mg de nitrites par kg de saucisson.

Conclure par rapport à la norme stipulant une teneur autorisée inférieure à 50 mg de nitrites/kg de saucisson.

Données

$s_r = 0,004$ unité d'absorbance; $u_c = 0,5 \text{ mg/kg}$

Annexe 2 : validation et expression d'un résultat (VOIR ANNEXE 2).

4. DOSAGE DE L'AZOTE PAR LA MÉTHODE DE KJELDAHL (11 points)

Le saucisson possède une teneur en protéines appréciable ($30 \pm 3\%$). Cet apport protéique peut être mesuré en dosant l'azote à l'aide de la méthode de Kjeldahl en retour (ou par reste) (teneur protéines = teneur azote $\times 6,25$).

4.1. Principe

L'azote à doser est transformé en sulfate d'ammonium par minéralisation en milieu acide et oxydant, à chaud et en présence de catalyseurs. Le minéralisat est alcalinisé pour déplacer l'ammoniac de son sel. L'ammoniac est entraîné par la vapeur d'eau et recueilli dans un excès connu d'acide fort. On dose ensuite l'excès d'acide par une base titrée, en présence d'un indicateur coloré (méthode en retour ou par reste).

4.2. Matériel et réactifs

- Automate de distillation
- 1 matras
- 3 fioles d'Erlenmeyer
- 1 pipette jaugée de 10 mL
- 1 pipette jaugée de 20 mL
- 1 éprouvette de 50 mL
- Acide sulfurique étalonné à $40,0 \text{ mmol.L}^{-1}$
- Hydroxyde de sodium à environ 80 mmol.L^{-1}
- Minéralisat noté « M »
- Vert de bromocrésol

4.3. Mode opératoire

4.3.1 Étalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium à environ 80 mmol.L^{-1}

Introduire dans une fiole d'Erlenmeyer 10 mL de solution d'acide sulfurique étalonnée à $40,0 \text{ mmol.L}^{-1}$.

Ajouter 30 mL d'eau désionisée.

Ajouter quelques gouttes de vert de bromocrésol.

Doser par la solution d'hydroxyde de sodium à étalonner.

Réaliser 2 essais concordants.

4.3.2 Minéralisation (déjà effectuée)

La minéralisation a déjà été réalisée (0,10 g de saucisson + 10 mL d'acide sulfurique concentré + chauffage). Le minéralisat « M » est présenté dans le matras de minéralisation.

4.3.3 Dosage de l'ammoniac en retour

4.3.3.1. Entraînement à la vapeur d'eau

Il est réalisé soit à l'aide d'un appareillage classique soit avec un distillateur automatique.

L'ammoniac est récupéré dans un excès d'acide sulfurique. Pour cela, préparer une fiole d'Erlenmeyer contenant 20 mL d'acide sulfurique et 30 mL d'eau désionisée.

Réaliser un seul essai.

Appeler l'examineur pour la réalisation du pipetage.

4.3.3.2. Dosage de l'excès d'acide sulfurique

Doser l'excès d'acide sulfurique par la solution d'hydroxyde de sodium préalablement étalonnée en présence de vert de bromocrésol.

4.4. Résultats

Compléter la feuille de résultats présentée en annexe A.

Déterminer la concentration en mol.L^{-1} de la solution d'hydroxyde de sodium.

Déterminer le nombre de moles d'azote dans le minéralisat.

Déterminer la teneur du saucisson en protéines (g/100g).

Conclure.

Données :

Étalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium : $s_r = 0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$; $u_c = 0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$

Dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl : $u_c = 0,05 \text{ g/100g}$

Annexe 2 : validation et expression d'un résultat

$M_N = 14 \text{ g.mol}^{-1}$

5. DÉTECTION IMMUNOLOGIQUE DE TOXINE DE *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* (8 points)

Une mauvaise qualité de matière première, une absence de nitrites ou un séchage non conforme peuvent provoquer la prolifération de *Clostridium botulinum* dans les saucissons et la libération de toxine botulique extrêmement dangereuse pour les consommateurs.

La manipulation consiste à rechercher la toxine de *Clostridium botulinum* grâce à la technique d'Ouchterlony (immunodiffusion double) dans deux saucissons.

5.1. Matériel à disposition

- 1 gabarit de perçage des puits
- 1 petite boîte de Petri d'agarose à 1%
- 1 tube contenant 20 μL d'antitoxine botulique noté « AB »
- 1 tube contenant 20 μL de toxine botulique noté « TB »
- 1 tube contenant 20 μL d'eau physiologique noté « E »
- 1 tube contenant 20 μL d'extrait de saucisson 1
- 1 tube contenant 20 μL d'extrait de saucisson 2
- 1 emporte-pièce
- 1 P20 + cônes

5.2. Mode opératoire

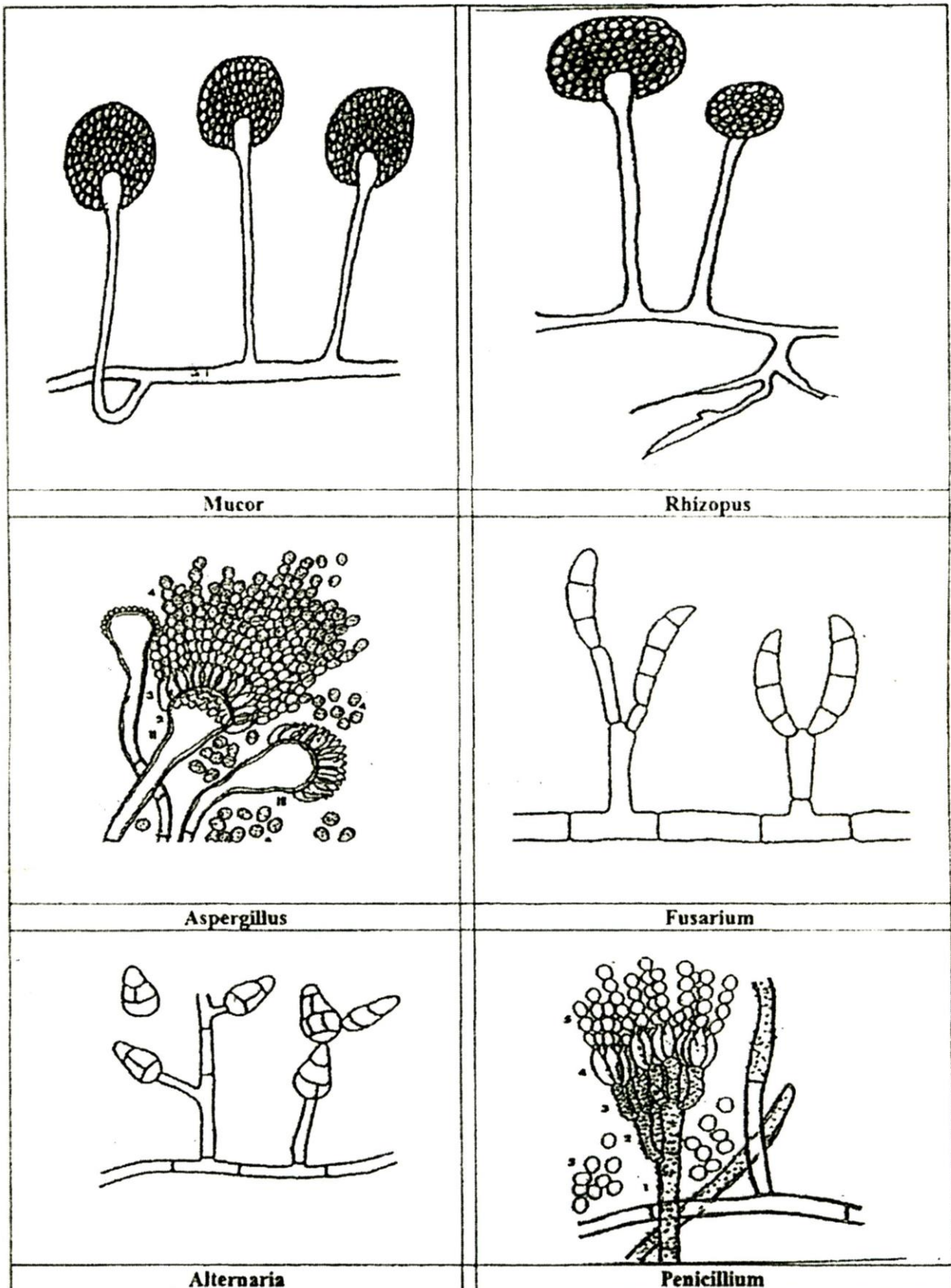
Creuser 5 puits avec l'emporte-pièce à l'aide du gabarit fourni et les remplir avec 10 μL par puits, en choisissant une disposition judicieuse des dépôts.

Incuber la boîte en chambre humide à température ambiante.

Indiquer l'intérêt des puits contenant la toxine botulique et l'eau physiologique.

ANNEXE 1

Schémas d'organes de fructification de moisissures

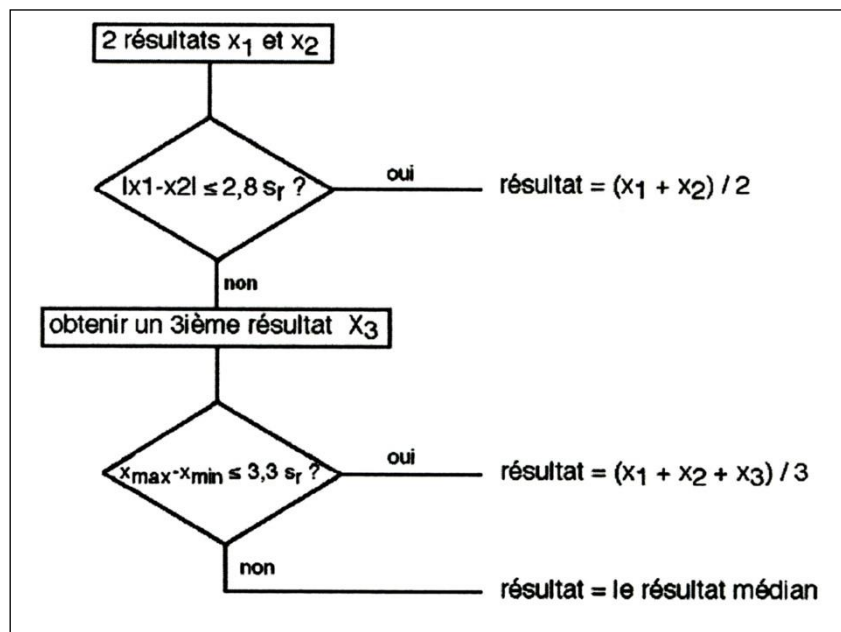


ANNEXE 2

Établissement Centre d'examen	INSTRUCTION DE TRAVAIL	RÉF :
	VALIDATION ET EXPRESSION D'UN RÉSULTAT	Version : 2.0 Date: session 2009 Révisée le: 26/11/08 page 1/2
Rédacteurs: membres de la commission de sujets Date : session 2009 Visa:	Vérificateur Approbateur: inspection générale Date: session 2009 Visa:	

1 - Vérification de la concordance entre résultats expérimentaux

- **Utiliser l'écart type de répétabilité** « S_r » donné avec l'unité de la grandeur.
- **Calculer l'écart-type de répétabilité** « S_r » si le texte donne le coefficient de variation « CV » ($S_r = CV \times \text{valeur}$).
L'arrondir avec 2 chiffres significatifs. On entend par « valeur » soit celle approximative proposée dans le texte, soit l'un des résultats trouvés.
Exemple : $CV = 1,2 \%$; résultat: $cm = 0,723 \text{ g/L}$; $s_r = (1,2/100) \times 0,723 = 0,0087 \text{ g/L}$
- **Traiter les résultats en utilisant le logigramme** ci-dessous sans arrondir les valeurs des calculs intermédiaires.



2 - Expression finale du résultat

L'expression du résultat nécessite de disposer de l'incertitude type composée notée « u_c » qui est donnée avec l'unité de la grandeur.

Exemple: $n = 0,3457 \mu\text{mol}$; $u_c = 0,018 \mu\text{mol}$

- **Calculer** l'incertitude élargie en multipliant par 2 l'incertitude type composée, ce qui donne un niveau de confiance de 95 %.
Incertitude élargie = $2 u_c$

- Arrondir le résultat final :

- Le dernier chiffre significatif doit être à la même position décimale que la dernière décimale de l'incertitude élargie.
- Les règles usuelles mathématiques d'arrondi s'appliquent. Si la décimale est inférieure à 5, on conserve la décimale immédiatement à gauche, sinon on la majore d'une unité.

Exemple 1 : résultat validé: $c = 0,24319 \text{ mmol/L}$; $2 u_c = 0,0051 \text{ mmol/L}$
 \Rightarrow rendre le résultat sous la forme: $c = (0,2432 \pm 0,0051) \text{ mmol/L}$

Exemple 2 : résultat validé: $c = 0,24314 \text{ mmol/L}$; $2 u_c = 0,0051 \text{ mmol/L}$
 \Rightarrow rendre le résultat sous la forme: $c = (0,2431 \pm 0,0051) \text{ mmol/L}$

- Rendre le résultat final avec sa valeur numérique, son incertitude, son unité et accompagné de la phrase suivante:
« L'incertitude proposée est une incertitude élargie qui donne un niveau de confiance d'environ 95 % ».

Exemple: $c = (0,2431 \pm 0,0051) \text{ mol/L}$

L'incertitude proposée est une incertitude élargie qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %.

ANNEXE A FEUILLE DE RÉSULTATS

À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

Nom et Prénom du candidat : n° du poste :

3.3. Dosage des nitrites

N° du tube	0	1	2	3	4	5	E1	E2
Nitrites (μmol)								
A à 435 nm								

4.3. Dosage de l'azote par la technique de Kjeldahl

4.3.1 Étalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium

$V_1 =$	$V_2 =$
C_{NaOH} calculée =	C_{NaOH} calculée =
C_{NaOH} retenue =	

4.3.3 Dosage de l'ammoniaque en retour

$V =$
n azote dans le minéralisat =
teneur en protéines du saucisson =

Deuxième jour : 1 heure 30

1. CONTRÔLES DES FERMENTS BACTÉRIENS

Observer les isollements. Analyser les résultats à l'aide des fiches de composition des milieux fournies par le centre. Conclure sur la conformité du broyat « Bs ».

Données :

Code milieu	Nom milieu
M1	Chapman
M2	MRS
M3	VRBL

Rappel 1^{er} jour : La fabrication du saucisson résulte de l'action de bactéries (lactobacilles et certaines espèces de staphylocoques).

2. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES DU SAUCISSON SEC

2.1. Dénombrement d'*E.coli* et des staphylocoques présumés pathogènes

Compter les colonies et déterminer le nombre d'*Escherichia coli* et de staphylocoques présumés pathogènes par g de saucisson sec en utilisant l'annexe 1.

Conclure sur la conformité microbiologique du saucisson sec par rapport aux critères internes utilisés.

Rappel 1^{er} jour :

Préparation de l'échantillon : cette étape a été effectuée pour obtenir le broyat fourni noté « Bs »; 10 g de saucisson sec ont été pesés, déposés dans un sac stérile; 90 mL de tryptone-sel leur ont été rajoutés; l'ensemble a été broyé.

Les critères microbiologiques du saucisson sec :

- *Escherichia coli* : $5.10^2/g$
- Staphylocoques présumés pathogènes : $5.10^2/g$

2.2. Identification rapide du staphylocoque

Choisir un réactif adapté afin de vérifier que les staphylocoques sont bien pathogènes. Le demander à un examinateur. Réaliser le test devant l'examineur.

3. DÉTECTION IMMUNOLOGIQUE DE LA TOXINE BOTULIQUE DANS DEUX SAUCISSONS

Effectuer la lecture critique des tests réalisés le premier jour. Conclure sur la qualité des 2 saucissons.

ANNEXE 4 : EXTRAIT DE LA NORME NF ISO 7218/A1 DE DÉCEMBRE 2001

Mode de calcul : Cas général (comptage des colonies en totalité ou des colonies caractéristiques).

Pour qu'un résultat soit valable, on estime en général qu'il est nécessaire de compter les colonies sur au moins 1 boîte contenant au minimum 15 colonies [colonies en totalité, colonies caractéristiques ou colonies répondant aux critères d'identification ou de confirmation (9.3.5.3)].

Calculer le nombre N de microorganismes présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée à partir de deux dilutions successives, à l'aide de l'équation suivante:

$$N = \frac{\sum C}{v.(n_1 + 0,1.n_2).d}$$

où

- $\sum C$ est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives dont au moins une contient au minimum 15 colonies;
- v est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;
- n_1 est le nombre des boîtes retenues à la première dilution;
- n_2 est le nombre des boîtes retenues à la deuxième dilution;
- d est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue [d = 1 dans le cas où l'échantillon pour essai (produits liquides)ensemencé directement est retenu].

Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs. Pour cela, si le troisième chiffre est inférieur à 5 le chiffre précédent n'est pas modifié ; si le troisième chiffre est supérieur ou égal à 5 le chiffre précédent est augmenté d'une unité.

Retenir comme résultat un nombre compris de préférence entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance appropriée de 10, ou un nombre entier avec 2 chiffres significatifs.

Exprimer le résultat comme suit:

- nombre N de microorganismes par millilitre (produits liquides) ou par gramme (autres produits).

Mode de calcul : Estimation des petits nombres

Cas de deux boîtes (échantillon pour essai ou suspension mère ou première dilution) contenant moins de 15 colonies.

Si les deux boîtes, au niveau de l'échantillon pour essai (produits liquides) ou de la suspension mère (autres produits) ou de la première dilution ensemencée ou retenue, contiennent moins de 15 colonies (colonies en totalité, colonies caractéristiques ou colonies répondant aux critères d'identification ou de confirmation), calculer le nombre estimé N_E de microorganismes présents dans l'échantillon pour essai en tant que moyenne arithmétique des colonies comptées sur les deux boîtes à l'aide de l'équation suivante :

$$N_E = \frac{\sum C}{V \times n \times d}$$

où $\sum C$ est la somme des colonies comptées sur les 2 boîtes;

V est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;

n le nombre de boîtes retenues;

d le taux de dilution correspondant à la dilution retenue.

Arrondir le résultat et l'exprimer comme précédemment.

CONTRÔLES RÉALISÉS SUR UN VIN DE CHAMPAGNE

Plusieurs contrôles sur un vin de Champagne sont réalisés à différentes étapes de son élaboration.

Premier jour : 4 h 30

1. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES (26 points)

Au cours de la maturation du raisin, la vigne peut être atteinte par la maladie de la pourriture grise néfaste pour la production de Champagne et causée par le mycète *Botrytis cinerea*. Ce mycète produit des antifongiques susceptibles de limiter la croissance des levures. Le développement de l'agriculture biologique et l'utilisation limitée de produits de synthèse chimique, potentiellement nocifs, a conduit à la pulvérisation sur la plante, d'une flore bactérienne protectrice. Des germes utilisés comme *Acinetobacter*, *Bacillus* et *Pseudomonas* et certaines entérobactéries ont un effet protecteur vis à vis de *Botrytis cinerea*. Certains de ces microorganismes peuvent être retrouvés dans le jus de raisin et perturber le bon déroulement de la vinification.

1.1. Recherche d'une flore bactérienne opportuniste dans le jus de raisin après pressurage

Un isolement réalisé à partir d'un jus de raisin est présenté sur gélose nutritive supplémentée d'un antifongique : l'actidione.

1.1.1. Matériel et réactifs

- 1 isolement sur gélose nutritive + actidione, notée « JRC »
- Réactifs de coloration de Gram
- Eau oxygénée
- Réactif oxydase
- Galerie d'identification : à demander

1.1.2. Mode opératoire

Exploiter l'isolement fourni.

Effectuer les tests nécessaires à l'orientation de l'identification du germe.

Rédiger les résultats des tests, des observations ainsi que l'orientation de l'identification du germe.

Demander les milieux nécessaires à l'identification du germe.

Rendre le compte rendu, au maximum 30 minutes avant la fin de l'épreuve à un examinateur.

Ensemencer les milieux fournis par l'examinateur.

1.2. Recherche d'inhibiteurs de la croissance des souches de levures en vinification

La fermentation alcoolique du moût nécessite l'ensemencement de souches de levures contrôlées par l'œnologue. Afin de garantir un bon déroulement de la fermentation, le maître de chai s'assure que le jus de raisin ne contient pas d'agent susceptible de perturber le développement de ces souches.

1.2.1. Matériel

- 1 boîte de Petri vide stérile
- 1 tube de 15 mL de gélose Sabouraud noté « Sab 15 » en surfusion à 51°C
- 1 bouillon d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* utilisée dans le processus noté « S cer»
- 1 solution d'actidione en tube Eppendorf noté « act »
- 6 disques stériles
- 2 échantillons de jus de raisin pasteurisé notés « RP1 » et « RP2»
- 1 pipette automatique P 5-50 µL
- Cônes jaunes stériles
- 1 pipette de 1 mL stérile ou équivalent

1.2.2. Mode opératoire

Introduire environ 1 mL de la culture de *Saccharomyces cerevisiae* dans la boîte de Petri et couler par dessus 15 mL de milieu Sabouraud. Homogénéiser et laisser solidifier. Imprégner un disque avec 8 µL de chaque solution à tester. Un disque est utilisé pour chacun des jus de fruit. Les deux autres disques sont utilisés pour des témoins à choisir. Déposer les disques à la surface du milieu précédemment préparé.

L'imprégnation d'un disque sera montrée à un examinateur.

Identifier sur le compte rendu la composition des témoins et la répartition des disques sur la surface de la gélose. Préciser la température d'incubation.

Les échantillons de jus de raisin RP1 et RP2 seront conservés pour les contrôles immunotoxicologiques.

1.3. Dénombrement des levures du jus de raisin

Afin d'assurer un bon contrôle de la fermentation alcoolique par les souches de *Saccharomyces cerevisiae* sélectionnées, le maître de chai s'assure que la présence de levures de l'environnement ne dépasse pas 10^3 par mL de jus de raisin.

1.3.1. Matériel

- 1 flacon de jus de raisin concentré 50 fois par centrifugation marqué « JRC »
- 1 flacon de gélose Sabouraud en surfusion V = 60 mL
- 1 flacon de gélose Sabouraud en surfusion V = 20 mL
- 3 boîtes de Petri vides stériles

1.3.2. Mode opératoire

Procéder au dénombrement en respectant les consignes ci-dessous :

- technique de dénombrement dans la masse d'un milieu gélosé avec double couche,
- milieu : Sabouraud,
- dilutions : 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ,
- essais : 1 boîte par dilution.

1.3.3. Compte rendu

À l'aide du texte de la norme en annexe 1, justifier le choix des dilutions à ensemercer. Les conditions d'incubation seront précisées sur l'ensemble des boîtes.

2. CONTRÔLES IMMUNOTOXICOLOGIQUES (10 points)

Les vendanges botrytisées présentent un risque accru de présence d'ochratoxine. La détection de l'ochratoxine est réalisée par une méthode de double immunodiffusion selon la technique d'Ouchterlony.

2.1. Matériel

- 1 gélose d'agarose en petite boîte de Petri
- 1 tube Eppendorf contenant une solution d'ochratoxine noté « Och »
- 1 tube Eppendorf contenant une solution d'aflatoxine B1 noté « Afla »
- 1 tube de solution d'anticorps anti-ochratoxine noté « Ac »
- 2 tubes de jus de raisin à tester notés « RP1 » et « RP2 » (utilisés par ailleurs pour les contrôles microbiologiques)
- 1 pipette automatique + cônes jaunes stériles
- 1 emporte pièce

2.2. Mode opératoire

Réaliser 5 puits dans la gélose selon le gabarit fourni.

Déposer 10 µL de chaque échantillon et de solution d'anticorps.

Incuber le gel en atmosphère humide à 30°C pendant 24 heures.

2.3. Compte rendu

Indiquer l'intérêt des puits contenant l'ochratoxine et l'aflatoxine.

3. CONTRÔLES BIOCHIMIQUES (24 points)

3.1. Dosage de l'acidité volatile

L'acidité volatile est constituée par les acides de la série éthanoïque produits durant les différentes fermentations.

Elle est exprimée en gramme d'acide sulfurique par litre.

La limite légale de commercialisation pour les vins de Champagne est de 0,70 g/L d'H₂SO₄.

3.1.1 Principe

Le vin est au préalable débarrassé du dioxyde de carbone. Les acides volatils sont ensuite séparés du vin par entraînement à la vapeur d'eau grâce à un distillateur de Kjeldahl. Le distillat est dosé par une solution d'hydroxyde de sodium.

3.1.2. Réactifs

- Acide tartrique cristallisé
- Solution d'hydroxyde de sodium titrée à 10,0 mmol/L
- Solution de phénolphtaléine en compte-goutte
- Vin de Champagne à doser noté « Échantillon vin décarboniqué »

3.1.3. Mode opératoire

Entraînement à la vapeur d'eau : (1 essai)

- Placer 10 mL de vin décarboniqué dans un matras.
- Ajouter 0,25 g environ d'acide tartrique (cet acide n'est pas volatil).
- Disposer le matras dans le distillateur de Kjeldahl et déclencher le barbotage.
- Recueillir dans une fiole d'Erlenmeyer environ 120 mL de distillat. La durée de l'entraînement sera indiquée par le centre.

Cette manipulation sera montrée à un examinateur.

Dosage volumétrique: (1 essai)

- Titrer le distillat par la solution d'hydroxyde de sodium à 10,0 mmol/L en présence de quelques gouttes de solution de phénolphtaléine.

3.1.4. Compte rendu

Noter le volume équivalent obtenu sur l'annexe A.

Établir la formule littérale donnant l'acidité volatile du vin.

Calculer cette acidité en grammes d'acide sulfurique par litre de vin.

Conclure.

Données

Masse molaire de H₂SO₄ : M = 98 g/mol

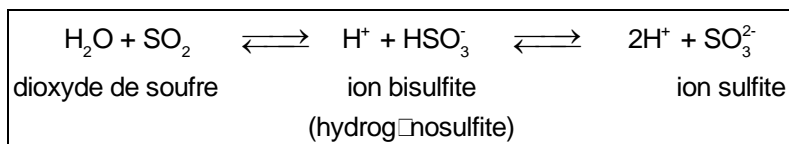
Incertitude type composée: u_c = 0,03 g d' H₂SO₄ par litre de vin

Annexe 2 : validation et expression d'un résultat

3.2. Dosage du dioxyde de soufre total

On appelle sulfitage l'opération qui consiste à ajouter du dioxyde de soufre dans les moûts et les vins à différentes étapes de l'élaboration, de la conservation et de l'élevage du Champagne. Les sulfites sont utilisés pour leur action protectrice sur les vins car ils ont des propriétés antiseptiques et antioxydantes.

Les sulfites sont présents sous 2 formes en solution après dissolution du dioxyde de soufre : l'ion bisulfite (NDLR : hydrogénosulfite) et l'ion sulfite.



Le dioxyde de soufre total est le dioxyde de soufre présent dans le moût ou le vin sous forme libre ou combinée.

La forme combinée est hydrolysée en présence d'hydroxyde de sodium concentré.

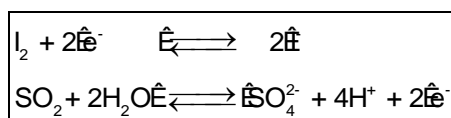
Le milieu est ensuite acidifié pour déplacer l'équilibre en faveur de la formation de SO₂ dosé par oxydo-réduction.

L'excès de sulfites peut occasionner des maux de tête chez les consommateurs de vin. Selon la réglementation européenne, la concentration maximale autorisée en dioxyde de soufre total est de 210 mg/L.

3.2.1. Principe

Le dioxyde de soufre total est dosé en milieu acide par titrage iodométrique direct.

Demi-équations d'oxydo-réduction :



3.2.2. Réactifs

- Solution d'hydroxyde de sodium à 4 mol/L
- Solution d'acide sulfurique au 1/10 (V/V)
- Empois d'amidon solution à 5 g/L
- Solution de diiode (I₂) à 2,00 mmol/L
- Vin de Champagne à doser noté « Échantillon vin décarboniqué »

3.2.3. Mode opératoire (1 seul essai)

Ce dosage s'effectue en plusieurs étapes afin de limiter l'oxydation des sulfites. Les ajouts successifs se font dans la même fiole d'Erlenmeyer.

Dans la fiole d'Erlenmeyer de 250 mL, placer:

- 50 mL de vin décarboniqué,
- 5 mL d'empois d'amidon,
- 3 mL de H₂SO₄ au 1/10.

Titrer immédiatement par la solution de diiode jusqu'à ce que la coloration bleue persiste nettement durant 10 à 15 secondes. Il est inutile de relever la chute de burette intermédiaire.

Puis dans la fiole d'Erlenmeyer, ajouter 8 mL de solution d'hydroxyde de sodium à 4 mol/L. Laisser en contact 5 minutes après avoir agité une seule fois. Verser ensuite d'un seul coup 10 mL d'acide sulfurique au 1/10 et agiter immédiatement la fiole.

Continuer le titrage immédiatement par le diiode, sans remplir la burette.

Il est inutile de relever la chute de burette intermédiaire.

Dans la fiole d'Erlenmeyer ajouter 20 mL de solution d'hydroxyde de sodium à 4 mol/L. Laisser en contact 5 minutes après avoir agité une seule fois. Verser ensuite d'un seul coup 30 mL d'acide sulfurique au 1/10, et agiter immédiatement la fiole.

Continuer le titrage par le diiode une dernière fois sans remplir la burette.

Relever le volume total de diiode versé.

3.2.4 Compte rendu

Noter le volume obtenu sur l'annexe A.

Écrire l'équation-bilan de l'oxydoréduction.

Établir la formule littérale donnant la concentration massique en dioxyde de soufre total.

Calculer cette concentration en mg par litre de vin.

Conclure.

Données

Masse molaire de SO₂ : M = 64 g/mol

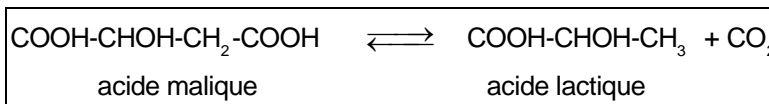
Incertitude type composée: u_c = 0,5 mg de SO₂ par litre de vin

Annexe 2: validation et expression d'un résultat

3.3. Dosage de l'acide L-malique libre

La fermentation malolactique intervient à la suite de la fermentation alcoolique lorsque tout le sucre du moût est métabolisé en alcool.

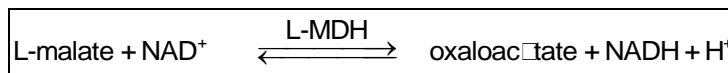
Lors de cette fermentation, l'acide malique est dégradé en acide lactique, avec dégagement de dioxyde de carbone :



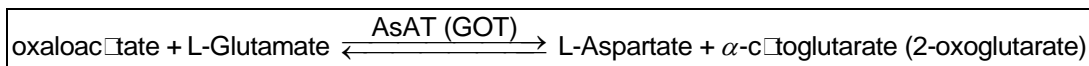
Le suivi de la fermentation malolactique est réalisé par le dosage de l'acide L-malique résiduel avant le tirage. Une concentration inférieure à 1 g/L signifie que la fermentation malolactique est presque terminée et que l'on peut procéder au tirage.

3.3.1 Principe

En présence de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD), l'acide L-malique (L-malate) est oxydé en oxaloacétate dans une réaction catalysée par la L-malate-déshydrogénase (L-MDH). L'équilibre de la réaction est en faveur de la formation de malate.



L'élimination de l'oxaloacétate du milieu réactionnel déplace l'équilibre de la réaction dans le sens de la formation d'oxaloacétate. En présence de L-glutamate, l'oxaloacétate est transformé en L-aspartate, réaction catalysée par la glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT) (NDLR : Aspartate aminotransférase AsAT).



La formation de NADH, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à la longueur d'onde de 340 nm, est proportionnelle à la quantité de L-malate présente.

3.3.2 Réactifs

- Solution 1, contenant l'acide L-glutamique
- Solution 2, contenant le NAD⁺
- Suspension 3, contenant l'enzyme GOT
- Solution 4, contenant l'enzyme L-MDH
- Moût de Champagne à doser noté « Échantillon moût décarboniqué »

3.3.3 Mode opératoire

Préparation de l'échantillon

Le moût fourni doit être dilué au 1/10, sous un volume final égal à 10 mL.

Dosage spectrophotométrique

On effectue pour ce dosage un seul blanc et deux essais.

Introduire dans les cuves	Blanc	Essai
Solution 1 (mL)	1,0	1,0
Solution 2 (mL)	0,2	0,2
Eau distillée (mL)	1,0	0,9
Suspension 3 (mL)	0,01	0,01
Essai (mL)	-	0,1
Recouvrir les cuves de parafilm, mélanger		
Laisser reposer environ 3 min.		
Mesurer les absorbances des 3 cuves (A1) à 340 nm contre l'air.		
Déclencher la réaction par addition de :		
Solution 4 (mL)	0,01	0,01
Recouvrir les cuves de parafilm, mélanger.		
Attendre la fin de la réaction (environ 5 à 10 minutes).		
Mesurer contre l'air les absorbances des 3 cuves l'une après l'autre (A2)		

3.3.4 Compte rendu

Compléter l'annexe A.

Calculer ΔA de la manière suivante: $\Delta A = (A2 - A1)_{\text{essai}} - (A2 - A1)_{\text{blanc}}$

Établir la formule littérale donnant la concentration massique en acide L-malique du vin.

Calculer la concentration en acide L-malique exprimée en gramme par litre de vin.

Conclure.

Données

Coefficient d'extinction molaire du NADH à 340 nm : $\epsilon = 6300 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (NDLR : Absorbance linéique molaire)

Masse molaire de l'acide L-malique : $M = 134,1 \text{ g/mol}$

Écart-type de répétabilité : $S_r = 0,016 \text{ g d'acide malique par litre de vin}$

Incertitude type composée : $u_c = 0,025 \text{ g d'acide malique par litre de vin}$

Annexe 2 : validation et expression d'un résultat

ANNEXE 1 : EXTRAIT DE LA NORME ISO 7218-2007

DÉNOMBREMENTS EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

Pour les cas généraux :

Cette norme officialise le passage 1 seule boîte par dilution.

Pour le choix des dilutions à retenir pour le calcul : (cas de dénombrements en boîtes de 90 mm de diamètre):

Retenir deux dilutions successives dont:

- l'une au moins présente un minimum de 10 colonies.
- le "nombre maximal de colonies en totalité est de 300 par boîte " ; le "nombre maximal des colonies caractéristiques ou présumées est de 150 par boîte " (cas de la présence d'un agent de différenciation).

Le calcul du nombre d'UFC par mL ou par g de produit, consiste à faire la moyenne pondérée du nombre d'UFC obtenus sur deux dilutions successives dont l'une, au moins, présente un minimum de 10 UFC.

Ce calcul n'est valable que dans le cas général où le rapport du nombre de colonies entre les deux dilutions n'est pas trop éloigné du facteur de dilution appliqué entre ces dernières.

$$N = \frac{\sum c}{(V \cdot 1,1 \cdot d)}$$

avec:

$\sum c$ = somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient au minimum 10 colonies.

V = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitres.

d = dilution correspondant à la première boîte retenue. Dilution considérée par rapport à l'échantillon brut (non dilué)

Le résultat est arrondi à 2 chiffres significatifs et exprimé avec un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée.

Cas des petits nombres :

- Si le nombre de colonies à la dilution la plus faible est compris entre 4 et 10 : appliquer le calcul ci-dessus et exprimer le résultat comme le "nombre estimé x de microorganismes par mL ou par g".
- Si le nombre de colonies à la dilution la plus faible est compris entre 1 et 3, exprimer le résultat comme: "le microorganisme est présent mais avec moins de (4.d) microorganismes par g ou par mL".
- Si la dilution la plus faible ne contient aucune colonie, exprimer le résultat comme "moins de (1/d) microorganismes par mL ou par g".

(d = dilution la plus faible testée ; dilution considérée par rapport au produit brut).

Pour les levures et moisissures :

on retient pour le calcul les dilutions présentant entre 10 et 150 colonies par boîte. Si la mycoflore est essentiellement composée de moisissures, sélectionner les boîtes parmi celles contenant la population la plus faible.

ANNEXE 2 : VALIDATION ET EXPRESSION D'UN RÉSULTAT (voir Annexe 2 sujet A)

ANNEXE A FEUILLE DE RÉSULTATS BIOCHIMIE

À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

N° poste :

1. Dosage de l'acidité volatile

Volume équivalent (mL)	
------------------------	--

2. Dosage du dioxyde de soufre total

Volume obtenu (mL)	
--------------------	--

3. Dosage de l'acide L-malique libre

	Blanc	Essai 1	Essai 2
A1			
A2			
A2-A1			
ΔA			

1. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES

1.1. Recherche d'une flore bactérienne opportuniste dans le jus de raisin après pressurage

Procéder à l'identification du micro-organisme recherché le premier jour à partir de l'isolement noté « JRC ».

Dans ce but, utiliser les moyens fournis par le centre.

Conclure.

1.2. Recherche d'inhibiteurs de la croissance des souches de levures en vinification

Effectuer la lecture de la gélose préparée le premier jour. Conclure.

1.3. Dénombrement des levures du jus de raisin

Compter les colonies présentes en milieu Sabouraud.

Utiliser l'annexe 1 pour donner le nombre de microorganismes présents par millilitre de jus de raisin.

Conclure.

Rappels :

- Le jus de raisin « JRC » fourni pour analyse avait été au préalable concentré en microorganismes d'un facteur 50.
- le maître de chai s'assure que la présence de levures de l'environnement ne dépasse pas 10^3 par mL de jus de raisin.

2. CONTRÔLES IMMUNOTOXICOLOGIQUES

Effectuer la lecture critique du test réalisé le premier jour et conclure sur la présence ou l'absence d'ochratoxine dans les échantillons de jus de raisin testés.

Rappel des échantillons fournis le premier jour:

- solution d'ochratoxine noté « Och »,
- solution d'aflatoxine B1 noté « Afla »,
- solution d'anticorps anti-ochratoxine noté « Ac »,
- deux jus de raisin à tester RP1 et RP2.

ANNEXE 1 : EXTRAIT DE LA NORME ISO 7218-2007 (voir annexe 1 du premier jour)

LE TERROIR AU SERVICE DU DÉVELOPPEMENT

L'entreprise « X » est l'exemple même d'une jeune entreprise dynamique et innovante qui a fait le pari de la qualité pour assurer son développement sur le marché français.

C'est une PME de la filière « lait », qui a dès le départ choisi de se limiter à une production de qualité, spécifique du terroir. En effet, les produits phares qui sont commercialisés sont le « laguiole », un fromage à pâte dure, pressée et non cuite qui bénéficie d'une A.O.C. et « l'aligot », un plat régional typique. Depuis peu, d'autres nouveaux produits du terroir ont vu le jour dans l'entreprise. Il s'agit de la « truffade » et du « retortillat ».

Une partie de la production est vendue sur place, mais la grande majorité des ventes se fait par le biais des grandes marques de distributeurs français. Les consommateurs ont également la possibilité d'acquérir tous ces produits régionaux grâce à la vente par correspondance sur le réseau internet.

Le choix de la qualité et de la spécialisation dans les produits du terroir ayant porté ses fruits, les dirigeants de l'entreprise souhaitent maintenant s'investir davantage sur le chemin de la qualité.

1. DÉMARCHE QUALITÉ (30 points)

1.1. L'entreprise

Afin de prouver son implication dans le domaine de la qualité à ses clients, les dirigeants ont pour objectif de faire certifier leur entreprise d'ici deux ans.

- 1.1.1. Caractériser succinctement les référentiels et/ou normes dont la certification pourrait se révéler utile à l'entreprise.
- 1.1.2. Dans le contexte de cette PME, indiquer et justifier le(s) choix qui vous semble(nt) le(s) plus judicieux.
- 1.1.3. Préciser les caractéristiques des organismes auxquels l'entreprise pourra s'adresser afin d'obtenir de l'aide quant à la mise en place du référentiel choisi et l'obtention de la certification. Citer un exemple.

1.2. Les produits

Outre l'A.O.C. du laguiole, l'entreprise « X » souhaite démarquer sa production de plats cuisinés des produits de la concurrence en faisant valoir le procédé de fabrication typique et le lien privilégié avec le terroir.

- 1.2.1. Donner la signification du sigle «A.O.C.» et préciser les spécificités associées à ce signe de qualité.
- 1.2.2. Le choix de la PME s'est porté sur la ((certification de conformité », présenter ce signe de qualité.
- 1.2.3. Indiquer comment dans le cadre d'une certification de conformité il est possible de réaliser le lien des produits avec le terroir.

1.3. Le cadre législatif

Depuis le 1^{er} janvier 2006, une nouvelle réglementation européenne est entrée en vigueur. Connue en France sous le nom de « Paquet Hygiène », elle est composée d'un ensemble de textes dont l'objectif est la mise en place d'une politique commune et unique en matière d'hygiène alimentaire. Le règlement n°2073/2005 du 15 novembre 2005 vient compléter les six règlements principaux du paquet hygiène en matière de critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

- 1.3.1. Présenter au moins 3 obligations, rappelées dans le règlement 2073/2005 (cf. Annexe 1), qui s'imposent aux exploitants du secteur alimentaire et préciser leurs conséquences.
- 1.3.2. En vous basant sur les annexes 1 et 2, indiquer les exigences auxquelles doit répondre cette PME dans le cadre de cette nouvelle réglementation.
- 1.3.3. Pour les produits fabriqués par cette PME, réaliser une étude comparative des critères recherchés sous forme de tableau en exploitant les données des annexes 1, 2 et 3. Préciser les références du texte normatif appliqué.
- 1.3.4. En vous appuyant sur l'annexe 1, préciser et commenter les modalités des contrôles du plan d'échantillonnage qui seront effectués sur l'aligot.

2. GESTION DES FOURNISSEURS (18 points)

2.1. Suivi des non-conformités

De par la diversité de sa production, l'entreprise « X » travaille avec de nombreux fournisseurs. Ayant finalement opté pour une certification ISO 9001, le service qualité de la PME est chargé de mettre en place un système documentaire complet au sein duquel prendra place le suivi des fournisseurs et leur notation, basés sur les non-conformités enregistrées.

- 2.1.1. Présenter et commenter la démarche générale de gestion des non-conformités. Préciser les documents indispensables à leur suivi.
- 2.1.2. Lors de la réception d'une livraison de sel alimentaire, plusieurs non-conformités sont détectées. En effet, le transporteur possédait dans son camion, outre les sacs de sel alimentaire, des produits chimiques. Il a été constaté que certains sacs, placés sur des palettes en bois, étaient percés.
Construire une nouvelle fiche de non-conformité en utilisant celle déjà existante, proposée en annexe 4 et qui n'est pas totalement satisfaisante.

2.2. Gestion des fournisseurs

Les non-conformités constatées sont la base du système de suivi mis en place pour évaluer les fournisseurs. La notation et le classement de ces derniers s'effectuent selon un barème adapté à leurs activités.

Néanmoins, tous les producteurs laitiers partenaires de la PME ne semblent pas convaincus du bien fondé de l'investissement dans la maîtrise de la qualité du lait et dans les innovations techniques jugées trop coûteuses. Du fait des contraintes liées à l'A.O.C., cet investissement est cependant primordial pour la PME afin d'assurer son développement.

- 2.2.1. Imaginer une solution pour inciter les producteurs laitiers à s'impliquer davantage dans la démarche qualité souhaitée par l'entreprise et à investir dans les innovations techniques permettant d'augmenter la production.
- 2.2.2. Pour s'assurer du respect des critères qualité exigés des fournisseurs laitiers partenaires engagés dans la démarche qualité, la PME dispose d'un ensemble de moyens. Présenter selon vous le principal moyen et préciser son fonctionnement général.

3. LE CAS DES EMBALLAGES CONTAMINÉS (22 points)

Suite à une modification récente du procédé de fabrication des emballages plastiques alimentaires chez le fournisseur de l'entreprise « X », des problèmes d'altération des produits finis sont apparus. Ils sont dus à la contamination microbiologique des emballages avant leur arrivée dans l'entreprise.

Le fournisseur est chargé de résoudre le problème de la contamination microbienne de ses emballages.

- 3.1. Une liste des causes possibles de contamination des emballages a été réalisée dans l'entreprise (cf. Annexe 5). Proposer un outil graphique qui permette de classer les causes potentielles imaginées concernant la contamination des emballages. En faire la représentation sur votre copie.
- 3.2. Après enquête, un premier tri parmi les causes possibles initialement identifiées a été réalisé. Nommer un outil permettant d'aider à sélectionner parmi les causes restantes celle(s) qu'il conviendra de traiter en priorité. Mettre en oeuvre cette méthode (cf. Annexes 6 et 7), proposer des solutions et conclure.

4. RELATIONS CLIENT-FOURNISSEUR (10 points)

L'entreprise réceptionne les emballages plastiques tous les mois à raison de 1 000 unités par lot. Ceux-ci subissent un contrôle à réception selon un plan d'échantillonnage simple dont le critère de refus est égal à 2. Le fournisseur n'étant plus en mesure d'honorer ses contrats, le contrôle à réception se fait désormais selon un contrôle renforcé.

- 4.1. Expliquer ce qu'est un plan d'échantillonnage simple. Préciser son rôle et ses composantes.
- 4.2. A l'aide de l'annexe 8, indiquer les caractéristiques du plan d'échantillonnage simple appliqué dans le cadre d'un contrôle normal. Préciser et commenter les changements apportés par le passage en contrôle renforcé.
- 4.3. Indiquer dans quelle mesure le fournisseur d'emballages pourra passer à nouveau en contrôle normal. Préciser ce qu'il adviendra en cas d'échec.

ANNEXE 1 : EXTRAITS DU RÈGLEMENT CE 1102073/2005

Ce document constitue un outil de documentation et n'engage pas la responsabilité des institutions

RÈGLEMENT (CE) N°2073/2005 DE LA COMMISSION du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

Rectifié par

- C1 Rectificatif, JO L 278 du 10. 10.2006, p.32 (2073/2005)
- C2 Rectificatif, JO L 288 du 19.10.2006, p.43 (2073/2005)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu le règlement (CE) n° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires (*JO L 139 du 30.4.2004, p. 1; version rectifiée au JO L 226 du 25.6.2004, p.3.*) et notamment son article 4, paragraphe 4, et son article 12, considérant ce qui suit :

(1) L'obtention d'un niveau élevé de protection de la santé humaine et de la santé animale est l'un des objectifs fondamentaux de la législation alimentaire, comme l'énonce le règlement (CE) n° 178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires (*JO L 31 du 1.2.2002, p. 1. Règlement modifié par le règlement (CE) n° 1642/2003 (JO L 245 du 29.9.2003, p. 4)*) Les risques microbiologiques liés aux denrées alimentaires constituent une source majeure de maladies d'origine alimentaire chez l'homme.

(2) Les denrées alimentaires ne doivent pas contenir de microorganismes ni leurs toxines ou métabolites dans des quantités qui présentent un risque inacceptable pour la santé humaine.

(3) Le règlement (CE) n° 178/2002 établit des prescriptions générales relatives à la sécurité des denrées alimentaires, prévoyant qu'aucune denrée alimentaire n'est mise sur le marché si elle est dangereuse. Les exploitants du secteur alimentaire sont tenus de retirer du marché les denrées alimentaires dangereuses. Pour contribuer à la protection de la santé publique et éviter les interprétations différentes, il convient de définir des critères de sécurité harmonisés relatifs à l'acceptabilité des denrées alimentaires, notamment en ce qui concerne la présence de certains micro-organismes pathogènes.

(4) Les critères microbiologiques fournissent également une orientation sur l'acceptabilité des denrées alimentaires et de leurs procédés de fabrication, de manutention et de distribution. L'utilisation de ces critères devrait faire partie intégrante de la mise en oeuvre des procédures fondées sur les principes HACCP et les autres mesures de contrôle de l'hygiène.

(5) La sécurité des denrées alimentaires est principalement assurée par une approche préventive telle que la mise en oeuvre de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication et l'application des principes HACCP (analyse des risques - points critiques pour leur maîtrise). Les critères microbiologiques peuvent servir pour la validation et la vérification des procédures fondées sur les principes HACCP et des autres mesures de contrôle de l'hygiène. Il convient donc d'établir des critères microbiologiques définissant l'acceptabilité de ces procédés, ainsi que des critères de sécurité microbiologique fixant une limite au-delà de laquelle on doit considérer qu'une denrée alimentaire est contaminée de manière inacceptable par les microorganismes pour lesquels les critères sont établis.

(6) Conformément à l'article 4 du règlement (CE) n° 852/2004, les exploitants du secteur alimentaire doivent respecter des critères microbiologiques. Ceux-ci devraient comprendre des essais fondés sur les valeurs fixées pour ces critères qui incluent notamment des prélèvements d'échantillons, la conduite d'analyses et la mise en oeuvre d'actions correctives, conformément à la législation alimentaire et aux instructions de l'autorité compétente. Il convient donc de prendre des mesures d'application concernant les méthodes d'analyse et comprenant, le cas échéant, l'incertitude analytique, le plan d'échantillonnage, les limites microbiologiques, le nombre d'unités d'analyse devant respecter ces limites. Il convient en outre de prendre des mesures d'application concernant les denrées alimentaires et les points de la chaîne alimentaire auxquels s'appliquent ces critères, ainsi que les actions à engager en cas de non-respect des critères. Parmi les mesures que doivent prendre les exploitants du secteur alimentaire pour assurer le respect des critères déterminant l'acceptabilité d'un procédé figurent, entre autres, les contrôles des matières premières, de l'hygiène, de la température et de la durée de conservation du produit.

EXTRAITS DU RÈGLEMENT CE n°2073/2005

(7) Le règlement (CE) n°882/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif aux contrôles officiels effectués pour s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux (JO L 165 du 30.4.2004, p. 1; version rectifiée au JO L 191 du 28.5.2004, p. 1.) demande aux États membres de faire en sorte que des contrôles officiels soient effectués régulièrement, en fonction des risques et à une fréquence appropriée. Ces contrôles doivent avoir lieu à des étapes appropriées de la production, de la transformation et de la distribution des denrées alimentaires en vue de s'assurer du respect par les exploitants du secteur alimentaire des critères fixés dans ledit règlement.

(8) La communication de la Commission sur la stratégie de la Communauté en matière de fixation des critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (SANCO/1252/2001. Document de travail sur la stratégie en matière de fixation de critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires dans la législation communautaire, p. 34.) décrit la stratégie de fixation et de révision des critères dans la législation communautaire ainsi que les principes régissant leur définition et leur application. Cette stratégie devrait être appliquée lorsque des critères microbiologiques sont établis. Le comité scientifique des mesures vétérinaires en rapport avec la santé publique (CSMVSP) a délivré, le 23 septembre 1999, un avis sur l'évaluation des critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires d'origine animale destinées à la consommation humaine. Le comité a souligné l'importance de fonder les critères microbiologiques sur une évaluation formelle des risques et sur des principes approuvés au plan international. L'avis recommande que les critères microbiologiques soient pertinents et efficaces au regard de la protection de la santé des consommateurs. Le comité a proposé certains critères révisés à titre de mesures transitoires dans l'attente d'évaluations formelles des risques.

(9) Le CSMVSP a délivré simultanément un avis distinct sur *Listeria monocytogenes*. Selon la recommandation contenue dans cet avis, il y a lieu de fixer comme objectif le maintien de la concentration de *Listeria monocytogenes* dans les denrées alimentaires à moins de 100 ufc/g. Le comité scientifique de l'alimentation humaine (CSAH) a approuvé ces recommandations dans son avis du 22 juin 2000.

(10) Le CSMVSP a adopté, les 19 et 20 septembre 2001, un avis sur *Vibrio vulnificus* et *Vibrio parahaemolyticus*. Le comité est parvenu à la conclusion que les données scientifiques actuellement disponibles ne justifient pas la définition de critères spécifiques applicables à *V. vulnificus* et *parahaemolyticus* pathogènes dans les aliments d'origine marine. Il a cependant recommandé l'établissement de codes de bonnes pratiques afin d'assurer l'application de bonnes pratiques d'hygiène.

(11) Les 30 et 31 janvier 2002, le CSMVSP a délivré un avis sur les virus de type Norwalk (ou norovirus). Dans son avis, le comité est parvenu à la conclusion que les indicateurs fécaux conventionnels n'étaient pas fiables pour démontrer la présence ou l'absence de virus de type Norwalk et que le recours à l'élimination des indicateurs bactériens fécaux pour déterminer les durées de purification des mollusques constituait une pratique dangereuse. Le comité a également recommandé d'utiliser *E. coli* au lieu des coliformes fécaux pour déterminer la contamination fécale dans les zones de ramassage des mollusques lorsque des indicateurs bactériens sont appliqués.

(12) Le 27 février 2002, le CSAH a adopté un avis sur les spécifications applicables à la gélatine en termes de santé du consommateur. Le comité est parvenu à la conclusion que les critères microbiologiques fixés à l'annexe II, chapitre 4, de la directive 92/118/CEE du 17 décembre 1992 définissant les conditions de police sanitaire ainsi que les conditions sanitaires régissant les échanges et les importations dans la Communauté de produits non soumis, en ce qui concerne lesdites conditions, aux réglementations communautaires spécifiques visées à l'annexe A, chapitre 1, de la directive 89/662/CEE et, en ce qui concerne les pathogènes, de la directive 90/425/CEE (JO L 62 du 15.3.1993, p. 49. Directive modifiée en dernier lieu par le règlement (CE) n° 445/2004 de la Commission (JO L 72 du 11.3.2004, p. 60).) en termes de santé du consommateur, étaient excessifs et a estimé que l'application d'un critère microbiologique obligatoire pour *Salmonella* uniquement était suffisante.

(13) Le CSMVSP a délivré, les 21 et 22 janvier 2003, un avis sur *E. coli* vérotoxigène (VTEC) dans les denrées alimentaires. Dans cet avis, le comité est parvenu à la conclusion que l'application d'une norme microbiologique pour VTEC 0157 dans le produit final n'entraînerait probablement pas de réductions sensibles du risque connexe pour les consommateurs. Néanmoins, des orientations microbiologiques destinées à réduire la contamination fécale dans la chaîne alimentaire peuvent contribuer à réduire les risques pour la santé publique, y compris ceux liés à VTEC. Le comité a identifié les catégories de denrées alimentaires dans lesquelles VTEC présente un risque pour la santé publique. Il s'agit des viandes crues ou peu cuites de boeuf et éventuellement d'autres ruminants, des viandes hachées, de la viande de boeuf fermentée et des produits à base de viande de boeuf fermentée, du lait cru et des produits au lait cru, des produits frais, notamment les graines germées et les jus de fruits et de légumes non pasteurisés.

(14) Le CSMVSP a adopté, les 26 et 27 mars 2003, un avis sur les entérotoxines staphylococciques dans les produits laitiers, en particulier les fromages. Le comité recommande de revoir les critères applicables aux staphylocoques à coagulase positive dans les fromages, le lait cru destiné à la transformation et le lait en poudre. En outre, des critères applicables aux entérotoxines staphylococciques devraient être définis pour les fromages et le lait en poudre.

(15) Le CSMVSP a adopté, les 14 et 15 avril 2003, un avis sur les salmonelles dans les denrées alimentaires. Selon cet avis, les catégories de denrées alimentaires susceptibles de présenter un risque élevé pour la santé publique sont notamment les viandes crues et certains produits destinés à être consommés crus, les produits crus et peu cuits à base

de viande de volaille, les oeufs et les produits contenant des oeufs crus, le lait non pasteurisé et certains produits à base de lait non pasteurisé. Les graines germées et les jus de fruits non pasteurisés sont également concernés. Le comité a recommandé que la décision concernant l'opportunité d'un critère microbiologique soit prise compte tenu de sa capacité à protéger les consommateurs et de sa faisabilité.

(16) Le groupe scientifique sur les risques biologiques (groupe BIOFAZ) de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a émis, le 9 septembre 2004, un avis sur les risques microbiologiques des préparations pour nourrissons et des préparations de suite. Il est parvenu à la conclusion que *Salmonella* et *Enterobacter sakazakii* sont les micro-organismes qui posent le plus de problèmes dans les préparations pour nourrissons, les préparations à des fins médicales spéciales et les préparations de suite. La présence de ces pathogènes constitue un risque considérable si les conditions après reconstitution permettent la multiplication. Les entérobactériacés, qui sont le plus souvent présents, pourraient servir d'indicateur de risque. L'EFSA a recommandé la surveillance et la recherche des entérobactériacés dans le milieu de production et dans les produits finis. Cependant, en plus des espèces pathogènes, la famille des *Enterobacteriaceae* comprend également des espèces environnementales qui apparaissent dans le milieu de production de denrées alimentaires mais ne présentent aucun risque pour la santé. On peut donc utiliser cette famille pour la surveillance de routine et, si ces bactéries sont présentes, entreprendre la recherche de pathogènes spécifiques.

(17) Il existe un grand nombre de denrées alimentaires pour lesquelles il n'y a pas encore de directives internationales concernant les critères biologiques. La Commission a toutefois suivi la directive du Codex Alimentarius (« Principes régissant l'établissement et l'application de critères microbiologiques pour les aliments (CAC/GL 21-1997) ») ainsi que les conseils du CSMCSV et du CSAH pour l'établissement des critères microbiologiques. Les spécifications actuelles du Codex concernant les produits à base de lait en poudre, les aliments pour nourrissons et pour enfants et le critère de détermination de l'histamine applicable à certains produits à base de poisson et de produits de la pêche ont été prises en compte. Le commerce devrait bénéficier de l'adoption des critères communautaires qui fourniront des prescriptions microbiologiques harmonisées applicables aux denrées alimentaires et remplaceront les critères nationaux.

(18) Il conviendrait, d'une part, de réviser les critères microbiologiques fixés pour certaines catégories de denrées alimentaires d'origine animale dans les directives qui ont été abrogées par la directive 2004/41/CE du Parlement européen et du Conseil du 21 avril 2004 abrogeant certaines directives relatives à l'hygiène des denrées alimentaires et aux règles sanitaires régissant la production et la mise sur le marché de certains produits d'origine animale destinés à la consommation humaine, et modifiant les directives 89/662/CEE et 92/118/CEE du Conseil (*JO L 157 du 30.4.2004, p. 33; version rectifiée au JO L 195 du 2.6.2004, p. 12.*) ainsi que la décision 95/408/CE du Conseil 6 et, d'autre part, de définir un certain nombre de nouveaux critères à la lumière des avis scientifiques.

(19) Les critères microbiologiques fixés dans la décision 93/51 /CEE de la Commission du 15 décembre 1992 relative aux critères microbiologiques applicables à la production de crustacés et de mollusques cuits (*JOL 13 du 21.1.1993, p. 11*) sont intégrés dans le présent règlement. Il convient donc d'abroger cette décision. Vu que la décision 2001/471/CE de la Commission du 8 juin 2001 établissant les règles applicables au contrôle régulier de l'hygiène générale effectué par les exploitants dans les établissements conformément à la directive 64/433/CEE relative aux conditions de production et de mise sur le marché de viandes fraîches et à la directive 71/118/CEE relative à des problèmes sanitaires en matière d'échanges de viandes fraîches de volaille (*JO L 165 du 21.6.2001, p.48. Décision modifiée par la décision 2004/379/CE (JO L 144 du 30.4.2004, p. 1).*) est abrogée avec effet au 1^{er} janvier 2006, il convient d'intégrer dans le présent règlement les critères microbiologiques fixés pour les carcasses.

(20) Le producteur ou le fabricant d'un produit alimentaire doit décider si l'on peut consommer ce produit tel quel, sans devoir le cuire ou le soumettre à un traitement pour en assurer la sécurité ainsi que le respect des critères microbiologiques. Conformément à l'article 3 de la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil du 20 mars 2000 relative au rapprochement des législations des États membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que la publicité faite à leur égard (*JO L 109 du 6.5.2000, p. 29. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 2003/89/CE (JO L 308 du 25.11.2003, p. 15)*), il est obligatoire de faire figurer sur l'étiquetage les conditions d'utilisation d'une denrée alimentaire lorsqu'il est impossible d'en faire un usage approprié sans ces instructions. Celles-ci doivent être prises en compte par les exploitants du secteur alimentaire lorsqu'ils décident quelles sont les fréquences d'échantillonnage appropriées pour les contrôles effectués en appliquant les critères microbiologiques.

(21) Le prélèvement d'échantillons sur les sites de production et de transformation peut constituer un instrument utile pour détecter et prévenir la présence de micro-organismes pathogènes dans les denrées alimentaires.

(22) Les exploitants du secteur alimentaire doivent décider eux-mêmes des fréquences des échantillonnages et des essais requis dans le cadre de leurs procédures HACCP et autres procédures de contrôle de l'hygiène. Toutefois, il peut s'avérer nécessaire dans certains cas de fixer des fréquences d'échantillonnage harmonisées au niveau communautaire, notamment pour garantir un même niveau de contrôle sur tout le territoire de la Communauté.

(23) Les résultats des essais dépendent de la méthode d'analyse utilisée de sorte qu'une méthode de référence donnée devrait être associée à chaque critère microbiologique. Il faudrait toutefois que les exploitants du secteur alimentaire puissent utiliser d'autres méthodes d'analyse que les méthodes de référence, en particulier des méthodes plus rapides, pour autant que ces autres méthodes fournissent des résultats équivalents. Par ailleurs, un plan

d'échantillonnage doit être défini pour chaque critère afin de garantir une application harmonisée, Il est néanmoins nécessaire d'autoriser l'utilisation d'autres protocoles d'échantillonnage et d'essai, y compris le recours à d'autres organismes indicateurs, à condition qu'ils fournissent des garanties équivalentes quant à la sécurité des denrées alimentaires.

(24) L'évolution des résultats des essais doit être analysée car elle peut mettre en lumière des phénomènes indésirables au niveau du procédé de fabrication. L'exploitant du secteur alimentaire pourra alors prendre des mesures correctives avant de perdre la maîtrise du procédé.

(25) Il conviendrait que les critères microbiologiques fixés dans le présent règlement soient réexaminés et, le cas échéant, révisés ou complétés pour tenir compte de l'évolution dans le domaine de la sécurité et de la microbiologie des denrées alimentaires. Cette évolution comprend les progrès scientifiques, technologiques et méthodologiques, l'évolution des niveaux de prévalence et de contamination, l'évolution de la population de consommateurs vulnérables ainsi que les résultats éventuels d'évaluations des risques.

(26) Il conviendrait en particulier de fixer des critères applicables aux virus pathogènes dans les mollusques bivalves vivants si les méthodes d'analyse sont suffisamment développées. Il est également nécessaire d'élaborer des méthodes fiables pour d'autres risques microbiens, liés par exemple à *Vibrio parahaemolyticus*.

(27) Il a été démontré que la mise en oeuvre de programmes de contrôle peut contribuer de manière sensible à la réduction de la prévalence des salmonelles dans les animaux de rente et leurs produits. Le règlement (CE) n°2160/2003 du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur le contrôle des salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire (*JO L325 du 12.12.2003, p. 1*) a pour but de veiller à ce que des mesures adéquates et efficaces soient prises pour lutter contre les salmonelles aux étapes appropriées de la chaîne alimentaire. Les critères applicables à la viande et aux produits à base de viande devraient tenir compte de l'amélioration escomptée de la situation concernant les salmonelles au niveau de la production primaire.

(28) Pour certains critères applicables à la sécurité des denrées alimentaires, il conviendrait d'accorder aux États membres une dérogation transitoire qui leur permettrait de se conformer à des critères moins stricts à condition que ces denrées alimentaires ne soient commercialisées que sur le marché national. Les États membres devraient informer la Commission et les autres États membres de toute utilisation de cette dérogation transitoire.

(29) Les mesures prévues au présent règlement sont conformes à l'avis du comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale,

ANNEXE I

Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

Chapitre 1. Critères de sécurité des denrées alimentaires

Chapitre 2. Critères d'hygiène des procédés

2.1 Viandes et produits à base de viandes

2.2 Lait et produits laitiers

2.3 Ovoproduits

2.4 Produits de la pêche

Chapitre 1. Critères de sécurité des denrées alimentaires

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/toxines, Métabolites	Plans d'échantillonnage (1)			Méthode d'analyse de référence (3)	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
		Limites (2)				
		n	c	m		
1.1 Denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées aux nourrissons et denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées à des fins médicales spéciales (4)	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Absence dans 25 g	EN/ISO 11290-1	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
Denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g (5)	EN/ISO 11290-2 (6)	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.3 Denrées alimentaires prêtes à être consommées ne permettant pas le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales (4) (8)	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Absence dans 25 g (7)	EN/ISO 11290-1	Avant que la denrée alimentaire n'ait quitté le contrôle immédiat de l'opérateur ou, l'a fabriqué
1.4 Viande hachée et préparations de viande destinées à être consommées crues	<i>Salmonella</i>	5	0	100 ufc/g	EN/ISO 11290-2 (6)	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.5 Viande hachée et préparations de viande de volailles destinées à être consommées cuites	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.6 Viande hachée et préparations de viande d'autres espèces que les volailles destinées à être consommées cuites	<i>Salmonella</i>	5	0	À partir du 1.1.2006 Absence dans 10 g À partir du 1.1.2010 Absence dans 25 g	EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.7 Viandes séparées mécaniquement (9)	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 10 g	EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
		5	0	Absence dans 10 g	EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de Conservation

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/toxines, Métabolites	Plans d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.8 Produits à base de viande destinés à être consommés crus, excepté les produits dont le procédé de fabrication ou la composition permettent de supprimer le risque salmonelles	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.9 Produits à base de viande de volaille destinés à être consommés cuits	<i>Salmonella</i>	5	0	À partir du 1.1.2006 Absence dans 10 g À partir du 1.1.2010 Absence dans 25 g		EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.10 Gélatine et collagène	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.11 Fromages, beurre et crème fabriqués à partir de lait cru ou de lait traité à une température inférieure à celle de la pasteurisation (10)	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.12 ► CI Lait en poudre et lactosérum en poudre ▼	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.13 Crèmes glacées (11), excepté les produits dont le procédé de fabrication ou la composition permettent de supprimer le risque salmonelles	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.14 Ovoproduits, excepté les produits dont le procédé de fabrication ou la composition permettent de supprimer le risque salmonelles	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.15 Denrées alimentaires prêtes à être consommées contenant des oeufs crus, excepté les produits dont le procédé de fabrication ou la composition permettent de supprimer le risque salmonelles	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g ou ml		EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/toxines, Métabolites	Plans d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.26 Produits de la pêche ayant subi un traitement de maturation aux enzymes dans la saumure, fabriqués à partir d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histidine (16)	Histamine	9	2	200 mg/kg	400 mg/kg	HPLC (18)	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

(1) n = nombre d'unités constituant l'échantillon; c = nombre maximal de résultats pouvant présenter des valeurs comprises entre m et M, pour le nombre d'échantillons n réalisé.
(2) Pour les points 1.1 à 1.24, m = M.
(3) Il y a lieu d'utiliser l'édition la plus récente de la norme.
(4) Des essais périodiques fondés sur ce critère ne sont pas utiles, en temps normal, pour les denrées alimentaires prêtes à être consommées suivantes:
— denrées alimentaires ayant fait l'objet d'un traitement thermique ou d'une autre transformation efficace pour éliminer *L. monocytogenes*, lorsque la recontamination n'est pas possible après ce traitement (par exemple les produits traités thermiquement dans leur emballage final),
— fruits et légumes frais, non découpés et non transformés, à l'exception des graines germées,
— pain, biscuits et produits similaires,
— eaux, boissons non alcoolisées, bière, cidre, vin, boissons spiritueuses en bouteille ou conditionnés et produits similaires,
— sucre, miel et confiserie, y compris les produits à base de cacao et de chocolat,
— mollusques bivalves vivants.
(5) Ce critère est applicable lorsque le fabricant est en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant la durée de conservation. L'exploitant peut fixer, pendant le procédé, des valeurs intermédiaires suffisamment basses pour garantir que la limite de 100 ufc/g ne sera pas dépassée au terme de la durée de conservation.
(6) 1 ml d'inoculum est déposé sur une boîte de Petri d'un diamètre de 140 mm ou sur trois boîtes de Petri d'un diamètre de 90 mm.
(7) Ce critère est applicable aux produits avant qu'ils ne quittent le contrôle immédiat de l'exploitant du secteur alimentaire, lorsque celui-ci n'est pas en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation.
(8) Les produits pour lesquels pH <4,4 ou aw <0,92, les produits pour lesquels pH <5,0 et aw <0,94, les produits à durée de conservation inférieure à cinq jours appartiennent automatiquement à cette catégorie. D'autres catégories de produits peuvent aussi appartenir à cette catégorie, sous réserve d'une justification scientifique.
(9) Ce critère est applicable aux viandes séparées mécaniquement produites par les techniques visées au chapitre III, paragraphe 3, de la section V de l'annexe III du règlement (CE) n° 853/2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.
(10) Excepté les produits pour lesquels le fabricant peut démontrer, à la satisfaction des autorités compétentes, qu'en raison du temps d'affinage et de la valeur aw du produit, il n'y a aucun risque de contamination par les salmonelles.
(11) Uniquement les crèmes glacées contenant des ingrédients laitiers.
(12) Le lot de graines devrait être analysé avant le début du processus de germination ou de l'échantillonnage qui doit être mené à l'étape où la probabilité de trouver des salmonelles est la plus grande.
(13) Référence: Hennekinne et al., J. AOAC Internat. Vol. 86, N° 2, 2003.
(14) *E. coli* est utilisée ici comme indicateur de contamination fécale.
(15) Échantillon groupé comprenant au moins dix animaux différents.
(16) En particulier les espèces de poissons des familles *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryphaenidae*, *Pomatomidae*, *Scorpaenidae*, *Scomberesocidae*.
(17) Des échantillons uniques peuvent être prélevés au niveau de la vente au détail. Dans ce cas, la présomption de l'article 14, paragraphe 6, du règlement (CE) n° 178/2002, selon laquelle tout le lot doit être considéré comme dangereux, n'est pas applicable.
(18) Références: 1. Malle P., Valle M., Bouquelet S. Assay of biogenic amines involved in fish decomposition. J. AOAC Internat. 1996, 79, 43-49.
2. Duflos G., Dervin C., Malle P., Bouquelet S. Relevance of matrix effect in determination of biogenic amines in plaice (*Pleuronectes platessa*) and whiting (*Merlangius merlangus*). J. AOAC Internat. 1999, 82, 1097-1101.

Interprétation des résultats des analyses

Les limites indiquées s'appliquent à chaque unité d'échantillon analysée, à l'exception des mollusques bivalves vivants et des échinodermes, des tuniciers et des gastéropodes vivants pour lesquels, s'agissant de la recherche d'*E. coli*, la limite s'applique à un échantillon groupé.

Les résultats des analyses révèlent la qualité microbiologique du lot contrôlé (*Les résultats des analyses peuvent aussi être utilisés pour démontrer l'efficacité de l'application du système HACCP ou des bonnes pratiques d'hygiène dans le cadre du procédé*).

L. monocytogenes dans les denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées aux nourrissons et à des fins médicales spéciales :

- qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées indiquent l'absence de la bactérie,
- qualité insatisfaisante lorsque la présence de la bactérie est détectée dans une unité de l'échantillon.

L. monocytogenes dans les denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de *L. monocytogenes* avant que la denrée alimentaire n'ait quitté le contrôle immédiat de l'opérateur qui l'a fabriquée, lorsque celui-ci n'est pas en mesure de démontrer que ces produits ne dépasseront pas la valeur limite de 100 ufc/g pendant leur durée de conservation :

- qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées indiquent l'absence de la bactérie,
- qualité insatisfaisante lorsque la présence de la bactérie est détectée dans une unité de l'échantillon.

L. monocytogenes dans les autres denrées alimentaires prêtes à être consommées et *E. coli* dans les mollusques bivalves vivants:

- qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées sont \leq à la limite,
- qualité insatisfaisante lorsque l'une des valeurs est $>$ à la limite.

Salmonella dans les différentes catégories de denrées alimentaires:

- qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées indiquent l'absence de la bactérie,
- qualité insatisfaisante lorsque la présence de la bactérie est détectée dans une unité de l'échantillon.

Entérotoxines staphylococciques dans les produits laitiers:

- qualité satisfaisante lorsque ces entérotoxines ne sont détectées dans aucune unité de l'échantillon,
- qualité insatisfaisante lorsque ces entérotoxines sont détectées dans une unité de l'échantillon.

Enterobacter sakazakii dans les préparations en poudre pour nourrissons et aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois:

- qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées indiquent l'absence de la bactérie,
- qualité insatisfaisante lorsque la présence de la bactérie est détectée dans une unité de l'échantillon.

Histamine dans les produits de la pêche provenant d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histidine:

- qualité satisfaisante lorsque les exigences suivantes sont remplies:
 - 1. la valeur moyenne observée est $\leq m$;
 - 2. un maximum de c/n valeurs se situe entre m et M ;
 - 3. aucune valeur observée ne dépasse la limite de M ;
- qualité insatisfaisante lorsque la valeur moyenne observée dépasse m , ou plus de c/n valeurs se situent entre m et M , ou lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont supérieures à M .

2.2 Lait et produits laitiers

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes	Plans d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère	Action en cas de résultat insatisfaisant
		n	c	m	M			
2.2.1 Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés (4)	Entero-bacteriaceae	5		► CI <1/ml	► CI 5/ml	ISO 21528-1	Fin du procédé de fabrication	Contrôle de l'efficacité du traitement thermique et prévention de la recontamination et contrôle de la qualité des matières premières
2.2.2 Fromages à base de lait ou de lactosérum ayant subi un traitement thermique	<i>E. coli</i> (5)	5	2	100 ufc/g	1 000 ufc/g	ISO 16649- 1 ou 2	Pendant le procédé de fabrication, au moment où l'on prévoit le nombre d' <i>E. coli</i> le plus élevé (6)	Améliorations de l'hygiène de la production et de la sélection des matières premières
2.2.3 Fromages au lait cru	Staphylocoques à coagulase positive	5	2	10 ⁴ ufc/g	10 ⁵ ufc/g	EN/ISO 6888-2	Pendant le procédé de fabrication, au moment où l'on prévoit le nombre de staphylocoques à coagulase positive le plus élevé	Améliorations de l'hygiène de la production et de la sélection des matières premières. Lorsque des valeurs > 10 ⁵ ufc/g sont détectées, le lot de fromages doit faire l'objet d'une recherche des entérotoxines staphylococciques.
2.2.4 Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation (7) et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation (7)	Staphylocoques à coagulase positive	5	2	100 ufc/g	1 000 ufc/g	EN/ISO 6888-1 ou 2		

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes	Plans d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère	Action en cas de résultat insatisfaisant
		n	c	m	M			
2.2.5 Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation (7)	Staphylocoques à coagulase positive	5	2	10 ufc/g	100 ufc/g	EN/ISO 6888-1 ou 2	Fin du procédé de fabrication	Améliorations de l'hygiène de la production. Lorsque des valeurs > 10 ⁵ ufc/g sont détectées, le lot de fromages doit faire l'objet d'une recherche des entérotoxines staphylococciques.
2.2.6 Beurre et crème au lait cru ou lait ayant subi un traitement thermique plus faible que la pasteurisation	<i>E. coli</i> (5)	5	2	10 ufc/g	100 ufc/g	ISO 16649- 1 ou 2	Fin du procédé de fabrication	Amélioration de l'hygiène de production et de la sélection des matières premières
2.2.7 Lait en poudre et lactosérum en poudre (4)	Entero-bacteriaceae	5	0	10 ufc/g		► <u>C1</u> ISO 21528-2	Fin du procédé de fabrication	Contrôle de l'efficacité du traitement thermique et prévention de la recontamination
	Staphylocoques à coagulase positive	5	2	10 ufc/g	100 ufc/g	EN/ISO 6888-1 ou 2	Fin du procédé de fabrication	► <u>C2</u> Amélioration de l'hygiène de production. Lorsque des valeurs > 10 ⁵ ufc/g sont détectées, le lot doit faire l'objet d'une recherche des entérotoxines staphylococciques. ◀
2.2.8 Crèmes glacées (8) et desserts lactés congelés	Entero-bacteriaceae	5	2	10 ufc/g	100 ufc/g	ISO 21528- 2	Fin du procédé de fabrication	Améliorations de l'hygiène de production

[...]

Interprétation des résultats des analyses

Les limites indiquées s'appliquent à chaque unité d'échantillon analysée.

Les résultats des analyses révèlent la qualité microbiologique du procédé contrôlé.

Enterobacteriaceae dans les préparations en poudre pour nourrissons et aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois:

- qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées indiquent l'absence de la bactérie,
- qualité insatisfaisante lorsque la présence de la bactérie est détectée dans une unité de l'échantillon.

E. coli, entérobactéries (autres catégories de denrées alimentaires) et staphylocoques à coagulase positive:

- qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées sont m,
- qualité acceptable lorsqu'un maximum de c/n valeurs se situe entre m et M, et que le reste des valeurs observées est < m,
- qualité insatisfaisante lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont > M ou lorsque plus de c/n valeurs se situent entre m et M.

[...]

ANNEXE 2 : LA GAMME DE PRODUITS COMMERCIALISÉS PAR L'ENTREPRISE « X »

Produits laitiers	
<ul style="list-style-type: none">• Tome fraîche de l'Aubrac• Crème fraîche• Aubrac jeune (2 mois d'affinage)• Laguiole AOC (4 mois d'affinage)• Laguiole AOC affiné (6 mois d'affinage)• Laguiole AOC vieux (8 mois d'affinage)• Laguiole AOC Grand Aubrac (7 à 12 mois d'affinage et sélection des meilleurs laits de la période d'estive)	
Produits cuisinés:	
<ul style="list-style-type: none">• Aligot frais• Rétortillat de l'Aubrac• Truffade	- conditionnés en emballage alimentaire souple

ANNEXE 3 : INGRÉDIENTS DES PRODUITS COMMERCIALISÉS

Crème fraîche pasteurisée

- crème
- ferments naturels

Tome fraîche Aubrac et Laguiole

- lait cru entier du plateau de l'Aubrac (aire géographique AOC)
- présure
- ferments naturels
- sel (sauf pour la tome fraîche)
- la durée d'affinage est responsable des différentes dénominations et de l'obtention de l'AOC « laguiole ».

Aligot

- pommes de terre
- tome fraîche de l'Aubrac
- crème fraîche épaisse
- ail
- sel
- poivre

Rétortillat

- pommes de terre
- tome fraîche de l'Aubrac
- huile
- sel
- poivre

Truffade

- pommes de terre
- tome fraîche de l'Aubrac
- ail
- persil
- sel
- poivre
- beurre

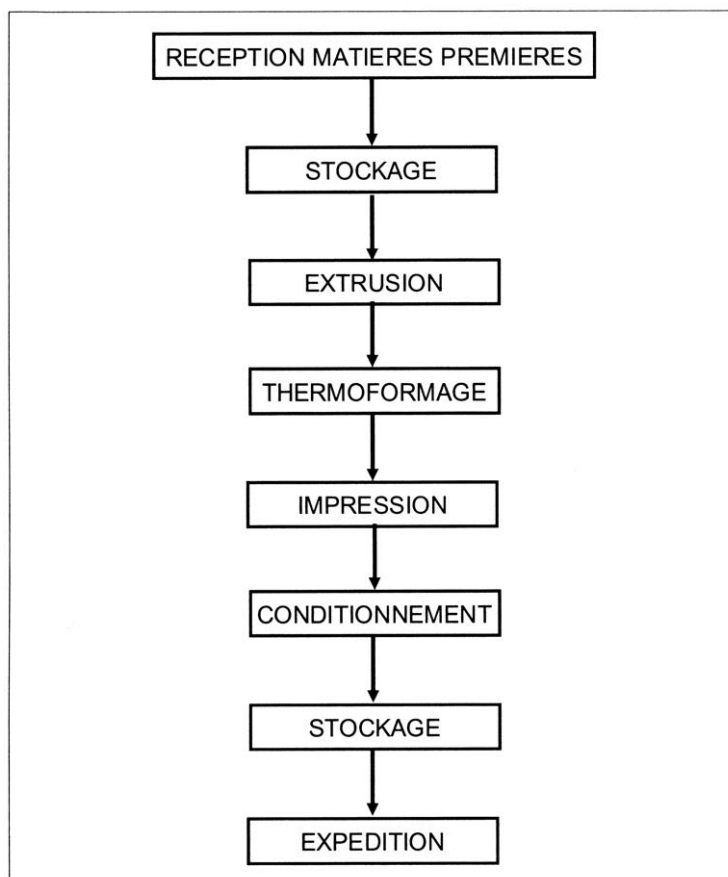
ANNEXE 4

FICHE DE NON-CONFORMITÉ		
NATURE DE LA NON-CONFORMITÉ		
Émetteur:		Produit
		Quantité:
Nature:	<input type="checkbox"/> Fournisseur/ Transporteur	<input type="checkbox"/> Client
	N° de Commande:	N° Bon de Livraison:
	Date de livraison:	Date de Livraison:
ORIGINE DE LA NON-CONFORMITÉ		
DESCRIPTION CONSÉQUENCES		
Client :		
Produit :		
Interne :		
Autre :		
CAUSE(S) PROBABLE(S) ou IDENTIFIÉE(S)		
TRAITEMENT DE LA NON-CONFORMITÉ		
Date	Action	
ACTION CORRECTIVE IMMÉDIATE		
Date	Action	
TRANSMISSION de LA FICHE		VALIDATION Service Qualité
Date:	Receveur:	

ANNEXE 5 : LISTE (NON EXHAUSTIVE) DES CAUSES POTENTIELLES LIÉES AU PROBLÈME DE CONTAMINATION DES EMBALLAGES À RÉCEPTION

- mauvaise qualité microbiologique de l'air
- flux d'air non maîtrisés (courants d'air)
- température des locaux trop élevée
- mauvaise isolation
- matériaux pour bâtiment inadaptés (verrière, ...)
- sensibilisation des opérateurs à l'hygiène insuffisante
- mains insuffisamment nettoyées
- mauvaise gestion du personnel malade
- procédures de nettoyage des surfaces (sols, machines, etc...) inadaptées
- produits désinfectant inefficaces
- aire de stockage des emballages contaminée
- fréquence de nettoyage insuffisante
- filtres à air périmés, bouchés
- matière plastique contaminée
- humidité des locaux élevée
- fréquence de rotation des équipes élevée
- motivation du personnel à la qualité insuffisante
- fréquences de contrôles insuffisantes
- choix des sites de prélèvement pour les contrôles
- méthode de contrôle inadaptée ou mal calibrée
- seuils de contrôle mal définis
- qualité des plastiques utilisés
- méthode de désinfection/stérilisation des emballages inefficace
- pas de respect des délais des protocoles de nettoyage
- formation du personnel insuffisante
- état des bâtiments
- présence de nuisibles (oiseaux, rongeurs, insectes, ...)
- responsabilités mal définies
- débit en production trop important
- ...

ANNEXE 6 : DIAGRAMME DE FABRICATION DES EMBALLAGES PLASTIQUES



ANNEXE 7 : LISTE DES CAUSES RÉELLES SUBSISTANTES AU PROBLÈME DE LA CONTAMINATION DES EMBALLAGES

Un contrôle microbiologique par dénombrement en surface sur géloses est effectué pour quantifier le degré de contamination microbienne au niveau des différentes causes identifiées. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau ci-dessous:

CAUSE ÉTUDIÉE	UFC par boîte
Tapis de transport des matières premières plastique	200
Tapis de transport des emballages production → impression	7
Transport des emballages impression → stockage	8
Surfaces des machines de production	2
Emballage immédiatement après production	0
Emballage avant impression	5
Emballage avant expédition	148
Qualité de l'air en production	3
Qualité de l'air en impression	32
Qualité de l'air en stockage	5
Surfaces des machines d'impression	40
Opérateurs en production	83
Opérateurs en impression	95
Opérateurs en stockage	72

ANNEXE 8 : CRITÈRES DES PLANS D'ÉCHANTILLONNAGES SELON LA NORME NFX 06-022

Effectif des lots	II
2 à 8	A
9 à 15	B
16 à 25	C
26 à 50	D
51 à 90	E
91 à 150	F
151 à 280	G
281 à 500	H
501 à 1 200	J
1 201 à 3 200	K
3 201 à 10 000	L
10 001 à 35 000	M
35 001 à 150 000	N
150 001 à 500 000	P
500 001 et au-dessus	Q

PLANS D'ÉCHANTILLONNAGE SIMPLE, RENFORCÉ, RÉDUIT : Pourcentage d'individus non conformes (Normes : NFX 06-022 – MIL STD 105E)

		Critères d'acceptation pour le contrôle réduit												Contrôle Réduit n		Lettre code		
		A=0 R=1	A=0 R=2	A=1 R=3	A=1 R=4	A=2 R=5	A=3 R=6	A=5 R=8	A=7 R=10	A=10 R=13	A=12 R=15	A=14 R=17	A=18 R=21					A=21 R=25
Lettre code	Normal n	Critères d'acceptation pour le contrôle normal et renforcé												Réduit n	Lettre code			
		A=0 R=1	A=1 R=2	A=2 R=3	A=3 R=4	A=5 R=6	A=7 R=8	A=8 R=9	A=10 R=11	A=12 R=13	A=14 R=15	A=18 R=19	A=21 R=22					
A	2	2,53 6,5 68,4															2	A
B	3	1,7 4,0 53,6															2	B
C	5	1,02 2,5 36,9	7,63 10 58,4														2	C
D	8	0,64 1,5 25,0	2,64 6,5 40,6	11,1 10 53,9													3	D
E	13	0,394 1,0 16,1	2,81 4,0 26,8	6,63 6,5 36,0	11,3 10 44,4												5	E
F	20	0,256 0,65 10,9	1,80 2,5 18,1	4,22 4,0 24,5	7,13 6,5 30,4	14,0 10 41,5											8	F
G	32	0,161 0,4 6,94	1,13 1,5 11,6	2,59 2,5 15,8	4,39 4,0 19,7	8,50 6,5 27,1	13,1 10 34,1										13	G
H	50	0,103 0,25 4,50	0,712 1,0 7,56	1,66 1,5 10,3	2,77 2,5 12,9	5,34 4,0 17,8	8,20 6,5 22,4	9,39 12,9 26,0	12,9 10 29,1								20	H
J	80	0,064 0,15 2,84	0,444 0,65 4,78	1,03 1,0 6,52	1,73 1,5 8,16	3,32 2,5 11,3	5,06 4,0 14,2	5,87 6,5 16,2	7,91 6,5 18,6	9,61 10 22,2	11,9 10 24,2						32	J
K	125	0,041 0,10 1,84	0,284 0,4 3,11	0,654 0,65 4,26	1,09 1,0 5,35	2,09 1,5 7,42	3,19 2,5 9,42	3,76 4,0 10,4	4,94 4,0 12,3	6,15 6,5 14,2	7,40 6,5 16,1	9,95 10 19,8	11,9 10 22,5				50	K
L	200	0,0256 0,065 1,15	0,178 0,25 1,95	0,409 0,40 2,66	0,683 0,65 3,34	1,31 1,0 4,64	1,99 1,5 5,89	2,35 2,5 6,50	3,09 4,0 7,70	3,85 4,0 8,89	4,62 4,0 10,1	6,22 6,5 12,4	7,45 6,5 14,1				80	L
M	315	0,0163 0,040 0,731	0,112 0,15 1,23	0,259 0,25 1,69	0,433 0,40 2,12	0,829 0,65 2,94	1,26 1,0 3,74	1,49 1,5 4,13	1,96 2,5 4,89	2,44 2,5 5,65	2,94 4,0 6,39	3,95 4,0 7,86	4,73 4,0 8,95				125	M
N	500	0,0103 0,025 0,461	0,071 0,10 0,778	0,164 0,15 1,06	0,273 0,25 1,34	0,523 0,40 1,86	0,796 0,65 2,35	0,939 1,0 2,60	1,23 1,0 3,08	1,54 1,5 3,56	1,85 2,5 4,03	2,49 2,5 4,95	2,98 2,5 5,64				200	N
P	800	0,0064 0,015 0,288	0,044 0,065 0,486	0,102 0,10 0,665	0,171 0,15 0,835	0,327 0,25 1,16	0,498 0,40 3,47	0,587 0,65 1,62	0,771 1,0 1,93	0,961 1,0 2,22	1,16 1,0 2,52	1,56 1,5 3,09	1,86 1,5 3,52				315	P
Q	1250	0,0041 0,010 0,184	0,028 0,040 0,310	0,065 0,065 0,426	0,109 0,10 0,534	0,209 0,15 0,742	0,318 0,25 0,942	0,376 0,40 1,04	0,494 0,40 1,23	0,615 0,65 1,42	0,740 0,65 1,61	0,995 1,0 1,98	1,19 1,0 2,25				500	Q
R	2000	0,0026 0,015 0,115	0,0018 0,025 0,195	0,041 0,040 0,266	0,068 0,065 0,334	0,131 0,10 0,464	0,199 0,15 0,589	0,235 0,25 0,650	0,309 0,40 0,770	0,385 0,40 0,889	0,462 0,40 1,01	0,622 0,65 1,24	0,745 0,65 1,41				800	R

La flèche donne la correspondance entre le contrôle normal et le contrôle renforcé correspondant.
Exemple : un contrôle normal lettre code J, NQA 0,65 deviendra la contrôle renforcé K, NQA 0,4

Éléments de corrigés

Les corrigés figurant dans les pages suivantes ont été rédigés à partir des corrigés « officiels » par des professeurs volontaires et bénévoles. Point n'est besoin de faire beaucoup de probabilités pour deviner que des erreurs se sont fort probablement glissées dans leur rédaction. De plus, des interprétations divergentes des questions sont possibles.

Les contraintes de l'imprimerie ne permettent pas de corriger des erreurs ou oublis après l'impression... mais, par contre, Internet nous offre un moyen simple d'obtenir des rectificatifs. Nous vous proposons :

- de signaler les erreurs rencontrées aux adresses email suivantes : jnjoffin@wanadoo.fr et/ou gisele.rigard@wanadoo.fr

- de lire les éventuels erratums sur le site UBPM : <http://www.upbm.org> (rubrique annales)

Corrigés sujets 2008

Anglais 2008

« CALL FOR 90% CUT IN CARBON EMISSIONS »

I. PARTIE COMPREHENSION:

1. *Compte rendu en français du texte en anglais:*

Les idées essentielles sont les suivantes:

- Une enquête sur l'écologie accuse le gouvernement britannique d'avoir sous-estimé et caché à l'opinion publique l'ampleur des mesures à prendre dans le cadre de la lutte contre le réchauffement climatique.
- Les plus éminents spécialistes de l'environnement fustigent les autorités pour avoir omis de prendre en compte les rejets de carbone dus au transport maritime et aérien.
- Afin d'éviter que la température n'augmente de 2°, les spécialistes insistent sur la nécessité de réduire de 90% les émissions de carbone contrairement aux estimations gouvernementales qui jugeaient suffisant de les réduire de 60%.
- Pour ce faire, les spécialistes préconisent des mesures drastiques que devront suivre les particuliers, les entreprises et l'état afin de permettre de stabiliser le taux d'émissions de carbone dans un délai de 4 ans, puis de le réduire annuellement de 10% au cours des 20 prochaines années.
- Cela passera par le développement et un usage raisonné des transports en commun et l'obligation pour les bâtiments de produire leur propre énergie.
- De plus, la Grande-Bretagne pourrait innover en étant le premier pays à instaurer une taxe carbone de grande envergure.

NB: Ce texte se prêtait assez mal à l'exercice de compte rendu car il contient beaucoup de pourcentages difficiles à restituer sous une autre forme.

- Il s'agissait comme d'habitude d'identifier et d'énoncer clairement le sujet de l'article puis d'en dégager la problématique.
- « Copié-collé » et traduction parcellaire ont été bien évidemment sanctionnés.
- attention à utiliser intelligemment le dictionnaire (autorisé lors de l'épreuve)
- vous devez respecter le nombre de mots exigé pour la rédaction du compte-rendu et qui est clairement indiqué dans les consignes.
- n'oubliez pas d'indiquer à la fin de votre compte-rendu le nombre de mots écrits.
- vérifiez orthographe et grammaire français.
- relisez-vous pour vous assurer que ce que vous écrivez fait sens.

2. Traduction:

From line 7 « at the moment » to line 9 « since 1990 »:

« À ce jour, les autorités estiment qu'il est nécessaire de réduire de 60% les émissions de carbone afin d'éviter que la température n'augmente de 2° d'ici 2050.

Cependant, les auteurs de l'étude la plus récente concluent quant à eux, que ces émissions doivent diminuer de 90%. Les données sur lesquelles ils s'appuient semblent montrer que les émissions de carbone n'ont absolument pas diminué depuis 1990 en Angleterre, si on prend en compte le transport maritime et aérien. »

NB: Cet exercice a aussi pour but de vérifier que vous avez compris le texte. Il faut donc que ce que vous proposez soit compréhensible. Évitez la traduction littérale et les phrases qui sont incompréhensibles. Pensez à transposer, à expliciter. Ici encore, il s'agit de rendre compte du texte.

II. PARTIE EXPRESSION:

- Cet exercice permet de juger votre capacité à rédiger une argumentation, à défendre un point de vue etc...
- on vous demande de rédiger 200 mots ± 10%) en un ou deux sujets (les consignes sont clairement définies).
- respectez le nombre de mots demandé, organisez votre essai (proscrire une présentation sous forme de notes ou de listes) et indiquez le nombre de mots écrits à la fin de vos essais

1) You're a member of Friends of the Earth. Write a short paragraph (70 words +/- 10%) explaining the goals of your organization.

Useful vocabulary :

- nouns: environmental issues / abuses / natural resources / energy / organic food / a cut / a shortage / inheritance / future generations / destruction / preservation / prédictions / a range of measures / a challenge ...
- verbs: to denounce / to protect / to fight / to promote / to predict / to care for / to defend / to save / to enable / to react / to harass / to cut, to reduce / to increase / to develop / to do one's best to / to achieve / to preserve / to improve / to fight / to deserve, to be worth +ING
- adjs: efficient / rewarding / gloomy / frightening / compulsory / exciting...

Useful grammar:

- comment convaincre, suggérer (why not +ING, what about +ING)
- l'expression du conseil et de l'obligation (should, must, have to, 'd better)
- l'expression de l'hypothèse (IF+ présent / proposition principale au futur)

2) What can you personally do to limit pollution in your daily life. Give examples.

- pensez à exprimer votre opinion (as for me, as far as I'm concerned ...)
- l'expression de l'aptitude (can)
- l'expression de l'éventualité (may)
- les adverbes de fréquence (often, always, never, occasionally, seldom, rarely, very often ...)

- useful vocabulary :

save water / take a shower instead of a bath / not to water the lawn or wash the car / walk, ride my bike or use public transports / practise car-pooling / turn off the lights in empty rooms / Switch off the TV and other electric appliances / sort out recyclable wastes (paper, glass, cans) and use recycling containers / go to the waste collection site / buy second-hand items instead of buying new ones / buy seasonal fruit and vegetables / avoid buying traditionally-grown food / 'd rather buy organic food /

Mathématiques 2008

1. Exercice 1

A. Résolution d'une équation différentielle

1° (E₀) $y' + 0,05y = 0$ peut s'écrire $y' = -0,05y$; elle est de la forme $y' = ay$ dont les solutions sont $C e^{at}$
Les solutions de (E₀) sont $C e^{-0,05t}$ avec $C \in \mathbb{R}$.

2° $h(t) = a$; $h'(t) = 0$; $0 + 0,05a = 1,05$; $a = 21$

3° Les solutions de E sont : $f(t) = C e^{-0,05t} + 21$

4° $f(0) = 100$; $C e^0 + 21 = 100$; $C = 79$; $f(t) = 79 e^{-0,05t} + 21$

B. Étude d'une fonction et calcul intégral

1. a. $\lim_{t \rightarrow +\infty} (-0,05t) = -\infty$ donc $\lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-0,05t} = 0$ d'où $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = 21$

b. la courbe C admet une asymptote d'équation pour équation: $y = 21$.

2. $79 e^{-0,05t} + 21 = 21,1$; $e^{-0,05t} = \frac{0,1}{79}$; $t = \frac{\ln \frac{0,1}{79}}{-0,05} \approx 133,4$

3. a. $f'(t) = 79(-0,05 e^{-0,05t}) = -3,95 e^{-0,05t}$
 $e^{-0,05t}$ est positif quel que soit t , donc $f'(t) < 0$

b.

t	0	$+\infty$
$f'(x)$		-
$f(x)$	100	21

4° $V_m = \frac{1}{120 - 0} \int_0^{120} f(t) dt$

$$F(t) = \frac{79}{-0,05} e^{-0,05t} + 21t = -1580 e^{-0,05t} + 21t$$

$$F(120) - F(0) = -1580 e^{-6} + 4100$$

$$V_m = \frac{1}{120} (-1580 e^{-6} + 4100) = -\frac{79}{6} e^{-6} + \frac{205}{6} = -\frac{79}{6} e^{-6} + \frac{126}{6} + \frac{79}{6} = \frac{79}{6} (1 - e^{-6}) + 21 = 34,1$$

C. Exploitation des résultats des parties A et B

1° La fonction est strictement décroissante sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$. La température du thé est inférieure à 21,1 °C à partir de 134 min.

2° Sur le graphique, on lit : $f(14) \approx 60$. La température du thé est de 60°C au bout de 14 min.

Exercice 2

A. Loi normale

1° X suit la loi normale $N(570 ; 4)$. On pose $T = \frac{X - 570}{4}$ où T suit la loi normale $N(0 ; 1)$

$$p(560 \leq X \leq 580) = p\left(\frac{560 - 570}{4} \leq T \leq \frac{580 - 570}{4}\right) = p(-2,5 \leq T \leq 2,5) = 2p(T \leq 2,5) - 1 \approx 0,99$$

$$2^\circ \quad p(X \geq 565) = 1 - p(X \leq 565) = 1 - p(T \leq 1,25) \approx 0,89$$

B. Loi binomiale et approximation d'une loi binomiale par une loi de Poisson

1°

a) Chaque prélèvement est formé de 16 tirages identiques, indépendants (le prélèvement est assimilé à un tirage avec remise), à deux issues : la bouteille contient une masse de sauce inférieure ou égale à 565 g avec une probabilité $p = 0,10$ ou la bouteille contient une masse de sauce supérieure à 565 g avec une probabilité $q = 1 - p = 0,9$.

Y est la variable aléatoire qui associe à ces tirages le nombre de bouteilles qui contiennent une masse de sauce inférieure ou égale à 565 g, elle suit la loi binomiale de paramètres $n = 16$ et $p = 0,10$

$$b) \quad p(y = 0) = 0,9^{16} \approx 0,19$$

$$c) \quad p(y \leq 1) = p(y = 0) + p(y = 1) \approx 0,51 \quad (\text{ou } 0,52)$$

$$2^\circ \quad a) \quad \lambda = n \times p = 100 \times 0,1 = 10$$

$$b) \quad p(Z_1 \leq 5) = p(Z_1 = 0) + \dots + p(Z_1 = 5) \approx 0,07$$

C. Intervalle de confiance

$$\alpha = 5\% \quad \text{donc } t \approx 1,96$$

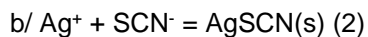
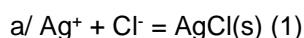
L'intervalle de confiance centré sur \bar{s} de la moyenne μ est :

$$I = \left[137,7 - 1,96 \frac{7}{\sqrt{25}} ; 137,7 + 1,96 \frac{7}{\sqrt{25}} \right] = [134,96 ; 140,44]$$

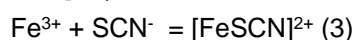
Sciences physiques 2008

Exercice I : Dosage du sel dans le camembert (6 points)

1.



c/ Quand les ions Ag^+ en excès sont épuisés, les SCN^- réagissent avec les ions de Fe III pour donner un complexe rose orangé $[\text{FeSCN}]^{2+}$ (l'indicateur de fin de réaction).



2.

dans 25 mL de solution de camembert dosée :

$$\begin{aligned} n(\text{Cl}^-) &= n(\text{Ag}^+ \text{précipités avec } \text{Cl}^-) = C_1 \cdot V_1 - C_2 \cdot V_{\text{éq}} \\ &= 0,05 \times 0,01 - 0,02 \times 0,0168 = 1,64 \cdot 10^{-4} \text{ mol.} \end{aligned}$$

dans 250 mL soit dans 5g de camembert : $n'(\text{Cl}^-) = 1,64 \cdot 10^{-3} \text{ mol.}$

$$c = 4 \times 1,64 \cdot 10^{-3} = 6,56 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$$

3. **Masse de sel dans le fromage :**

$$m'_{\text{NaCl}} = c \times V_0 \times M_{\text{NaCl}} = 6,56 \cdot 10^{-3} \times 0,25 \times 58,5 = 95,9 \cdot 10^{-3} \text{ g} = 95,9 \text{ mg dans 5 g de fromage}$$

$$\text{Dans 100 g de fromage: } m_{\text{NaCl}} = 20 \times m'_{\text{NaCl}} = 1,92 \text{ g}$$

Teneur en sel : 1,9 %

Exercice II : Dosage du sel dans le lait (4,5 points)

1.

Constante d'équilibre de la réaction : $K = 1 / ([\text{Ag}^+].[\text{Cl}^-]) = 1 / K_s$ donc $\log(K) = -\text{p}K_s = 9,7$

$$K = 10^{9,7} = 5 \cdot 10^9 \gg 10^4. \text{ Réaction totale.}$$

2.

à l'équivalence $C_{\text{AgNO}_3} \cdot V_{\text{AgNO}_3 \text{éq}} = C_{\text{Cl}^-} \cdot V_{\text{lait dilué}}$

$$\text{dans le lait dilué : } C_{\text{Cl}^-} = 1,50 \cdot 10^{-2} \times 14,8 / 20 = 0,0111 \text{ mol.L}^{-1}$$

3.

dans le lait non dilué : $C'_{\text{Cl}^-} = 4 \times 0,0111 = 0,0444 \text{ mol.L}^{-1}$

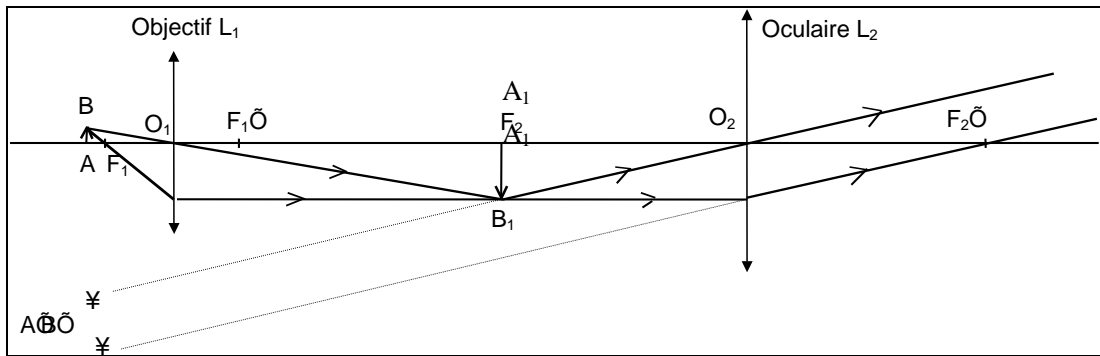
dans 100 g de lait (soit dans 100 mL de lait si 1 g/cm^3) :

$$m_{\text{NaCl}} = C' \times V \times M_{\text{NaCl}} = 0,0444 \times 0,100 \times 58,5 = 0,26 \text{ g}$$

Teneur en sel : 0,26 %

Exercice III : Les moisissures du camembert (5,5 points)

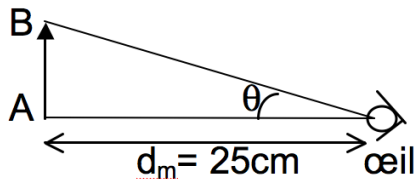
1. Schéma de principe :



$$2. G_c = \frac{16 \cdot 10^{-2} \cdot 0,25}{0,004 \cdot 0,02} = 500$$

$$3. \theta = \frac{4 \cdot 10^{-6}}{0,25} = 1,6 \cdot 10^{-5} \text{ rad}$$

Schéma vision à l'œil nu d'une spore AB :



$$4. \theta' = 1,6 \cdot 10^{-5} \cdot 500 = 8 \cdot 10^{-3} \text{ rad}$$

5. $\theta' > 3 \cdot 10^{-4} \text{ rad}$ Les spores ne sont pas visibles à l'œil nu d'où l'utilisation du microscope.

Exercice IV : Traçabilité (4 points)

Partie A

1. Le nombre d'onde est l'inverse de la longueur d'onde exprimée en cm, et est donc exprimé en cm^{-1} .
2. La grandeur mesurée est la transmittance.
3. Phénomène en jeu lors de l'absorption : vibrations et déformation des liaisons moléculaires, transitions vibrationnelles.
4. pic A : O-H visible sur le spectre de l'alcool.
pic C : C=O visible sur le spectre de l'acétone.
pic B : C-H

Partie B

Les radiations violettes, bleues et une partie des radiations vertes (bande d'absorption comprise entre 400 et 500 nm) sont presque totalement absorbées par le β -carotène. Il transmet les autres radiations. Il en résulte une coloration jaune-orange du fromage.

Biochimie-Biologie 2008

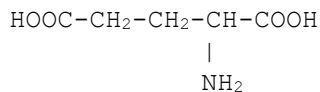
1. BIOCHIMIE (37,5 points)

1.1. Les glucides du natto (6 points)

- 1.1.1. Un polysaccharide est un glucide composé de plusieurs oses
- 1.1.2. Exemple: le glycogène constitué de chaînes de D glucose reliés entre eux en α 1-4 avec des ramifications en α 1-6.
- 1.1.3. Exemple de glucide monomère: le glucose à dessiner sous forme développée en configuration α .

1.2. Les filaments du natto (6 points)

- 1.2.1. Structure de l'acide glutamique :



C'est un acide aminé acide par sa chaîne latérale ($\text{COOH} \rightarrow \text{COO}^- + \text{H}^+$).

- 1.2.2. Structure de l'acide polyglutamique avec 3 acide glutamique mettant en évidence 2 liaisons peptidiques ($-\text{NH}-\text{CO}-$) entre un groupement α - NH_2 et γ - COOH .

1.2.3. Les peptidases, et en particulier les endopeptidases, pourraient hydrolyser les liaisons peptidiques de tels matériaux.

1.3. Les protéines et les lipides du soja (8,5 points)

1.3.1. Acide aminé essentiel : acide aminé qui ne peut être synthétisé par l'organisme et qui doit être obtenu de l'alimentation. Chez, l'humain, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane, l'histidine (donnée OMS) et la valine sont toujours essentiels.

- 1.3.2. LDL signifie *Low Density Lipoprotein* (ou lipoprotéine de faible densité).

1.3.3. Schéma légendé d'une LDL.

QuickTime™ et un
décompresseur
sont requis pour visionner cette image.

(operasavon.free.fr/images/lipoproteine.gif)

Les phospholipides, le cholestérol libre et les apoprotéines ont une partie hydrophile, on les retrouve donc en surface de la LDL. Les triglycérides et le cholestérol estérifié sont entièrement lipophiles, ils sont donc placés au centre de la lipoprotéine.

1.4. La nattokinase (17 points)

- 1.4.1. Caractérisation de l'enzyme

1.4.1.1 Les deux enzymes appartiennent à la même classe, sous classe, sous-sous classe, on peut en déduire qu'elles réalisent la même réaction sur le même substrat.

1.4.1.2. L'urokinase et la nattokinase sont des hydrolases (classe 3). Elles catalysent la rupture d'une liaison avec incorporation d'une molécule d'eau. La liaison hydrolysée est une liaison peptidique (sous classe 4). La sous sous

classe représente le mécanisme catalytique : présence d'une sérine dans le site actif de l'enzyme. Activité endopeptidasique.

1.4.2. Calcul de l'activité fibrinolytique (CAF)

1.4.2.1. CAF de la solution de NK = $(y+0,0083) / 0.127 = 2,9$ FU/mL
 activité fibrinolytique totale dans la gélule = $2,9 \times 250 = 725$ FU.

Conclusion : la gélule contient une activité fibrinolytique supérieure à celle indiquée par le fabricant.

1.4.2.2. AS = $725/50 = 14,5$ FU/mg

1.4.2.3. Taux de purification = AS du natto purifié/AS du natto entier = $14,5 \cdot 10^3/30 = 483$ fois purifié.

1.4.2.4. La quantité de natto à déguster au petit déjeuner est comprise entre $725/30 = 24,2$ g et $725/20 = 36,25$ g.

2. MICROBIOLOGIE (37,5 points)

2.1. Caractères morphologiques (15 points)

2.1.1. Longs Bacilles gram + droits à extrémités carrées; isolés ou par deux.

2.1.2. Schéma de la paroi des gram + :

on attend un schéma orienté (intérieur et extérieur de la cellule) et légendé de la paroi d'une bactérie Gram + (légendes = paroi, peptidoglycane, acide teichoïques); la membrane plasmique peut être ajoutée.

2.1.3. Ordre chronologique : C, A, B

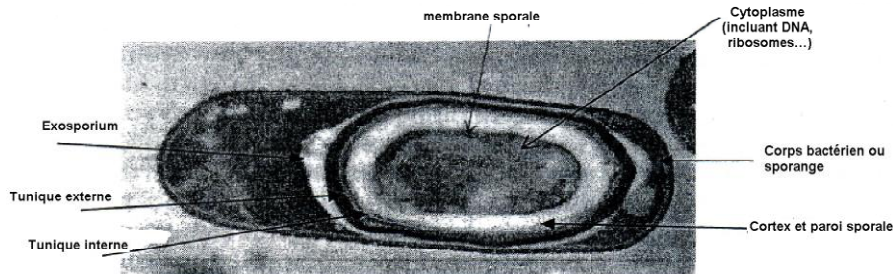
2.1.4. Différentes étapes

C : début de sporulation : après formation d'un filament axial d'ADN, début d'invagination de la membrane cytoplasmique emprisonnant l'ADN sporal.

A : préspore en formation constituée de plusieurs feuillets membranaires entourant l'ADN sporal (donc toutes les informations génétiques de la bactérie); à ce stade, la sporulation est irréversible.

B : endospore mûre : présentant toutes les structures nécessaires à sa survie.

2.1.5.



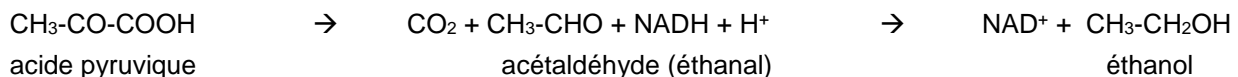
2.1.6. Coloration au vert de malachite (dite de Wirtz ou de Wirt-Konklin ou de Benito Trujillo...):

Technique de coloration spéciale, utilisant le vert malachite et la chaleur pour forcer la pénétration du colorant à l'intérieur de la spore, et la safranine (ou fuchsine) comme colorant de contraste (colore les corps bactériens) : les spores apparaissent vertes dans un corps bactérien rouge.

2.2. Propriétés métaboliques (7 points)

2.2.1. « fermentation » : processus peu énergétique, de dégradation de composés organiques, localisé dans le cytoplasme, ne faisant pas intervenir de chaîne cytochromique respiratoire, et dans laquelle les électrons et les protons sont transférés à des accepteurs finaux qui sont des composés organiques.

2.2.2. Formation d'éthanol à partir de l'acide pyruvique



2.2.3. La capsule est une structure facultative qui joue un rôle protecteur pour la bactérie, contre : la dessiccation, l'infection par les phages, la phagocytose par les macrophages. C'est un facteur de virulence (pathogénicité).

2.3. Attaque phagique de *Bacillus natto* (15,5 points)

2.3.1. Phage : virus infectant les bactéries : particule acellulaire contenant un seul type d'acide nucléique, protégé dans une structure protéique appelée : capsid, présentant une symétrie" cubique, hélicoïdale ou mixte, incapable de se multiplier en milieu acellulaire, il utilise la machinerie cellulaire de la cellule infectée pour se multiplier.

Conséquences pour le natto : la présence de phages va provoquer la lyse de *Bacillus*, immédiatement (si le phage est dit virulent), ou en différé (si le phage est dit tempéré) et le natto ne sera plus fabriqué.

2.3.2

A' : capsid

B' : acide nucléique

C' : queue ou gaine contractile

D' : plaque caudale ou spicules

(A'+ B') : nucléocapsid ou tête

2.3.3. Technique des plages de lyse

Dépôt d'un volume connu du prélèvement à la surface d'un milieu préalablement inondé d'une suspension de bactéries spécifiquement sensibles aux phages à numérer; la destruction des bactéries par les phages se traduira, après incubation dans des conditions favorables, par l'apparition de plages de lyse dans le tapis bactérien : chaque plage de lyse correspondant à une « unité formant plage : « UFP ».

2.3.4. Analyse des courbes : Courbes A concernant les phages ϕ NIT1 :

Courbe 1 : *Bacillus* non capsulés : le nombre de phages obtenus augmente de façon globalement proportionnelle au temps : on passe de 10^4 UFP au temps 0 à 10^7 UFP au temps 2 heures puis 10^9 UFP après 5h d'incubation ;

Courbe 2 : *Bacillus* capsulés : courbe croissante de pente inférieure à la courbe 1 : le nombre d'UFP passe de 10^4 UFP à 10^7 UFP après 5h.

Conclusion : les phages ϕ NIT1 détruisent plus difficilement les *Bacillus* capsulés que les bactéries sans capsule ; la destruction peut s'expliquer soit que les phages ont la possibilité de détruire la capsule, pour entrer en contact avec les récepteurs spécifiques de la paroi bactérienne (la différence de pente pourrait s'expliquer par le temps mis pour hydrolyser les polymères d'acide glutamique constituant la capsule); soit que la capsule est incomplète et ne protège pas totalement les bactéries ou soit encore que les *Bacillus* ne synthétisent pas tous une capsule ;

Courbes B concernant les phages BS5 :

Courbe 3 : *Bacillus* non capsulés : courbe moyenne proportionnelle au temps mais de pente inférieure à celle de la courbe 1 , le nombre final après 5h est de 10^6 UFP donc les phages BS5 sont moins virulents vis-à-vis des *Bacillus* que les phages ϕ NIT1 ;

Courbe 4 : *Bacillus* capsulés : la courbe est parallèle à l'axe des abscisses, ce qui traduit une absence de multiplication des phages BS5, ils ne peuvent donc infecter les bactéries capsulées : ce résultat permet de conclure que les phages ϕ NIT sont capables contrairement aux phages BS5, d'hydrolyser les polymères d'acide glutamique constituant la capsule des *Bacillus*.

3. TOXICOLOGIE (25 points)

3.1. Production de toxine et processus d'intoxication (8 points)

3.1.1.

Type de métabolite secondaire toxique : Mycotoxines.

Facteurs favorisant leur apparition :

- Éléments contribuant au développement fongique : blessure de la plante, T°C optimale, aérobiose, nature du substrat, disponibilité en eau.
- Éléments induisant la phase stationnaire (car métabolite secondaire) : épuisement du milieu, accumulation de déchets ...

3.1.2. Les trois phases du processus d'intoxication sont :

- La phase d'exposition : phase au cours de laquelle l'organisme est placé au contact de toxique. Elle concerne l'environnement, l'alimentation contenant le toxique et l'absorption du toxique.
- La phase toxico-cinétique : phase correspondant au devenir du toxique dans l'organisme. Elle concerne l'absorption, la distribution, la transformation métabolique et l'élimination du toxique.
- La phase toxico-dynamique : phase correspondant aux effets du toxique dans l'organisme. Elle concerne les interactions du toxique avec le tissu cible.

3.1.3. La transformation de la zéaralénone en zéaralénol est un phénomène de bioactivation qui a lieu pendant la phase toxico-cinétique.

3.2. Effets toxicologiques (17 points)

3.2.1. Les deux principaux effets à envisager sont la perturbation de la fonction de reproduction et l'effet anabolisant.

3.2.2. La toxicité aiguë correspond à la pénétration dans l'organisme d'une dose de toxique unique et élevée provoquant une apparition précoce et brutale de troubles toxiques. La toxicité aiguë est étudiée qualitativement et quantitativement par l'examen des altérations irréversibles provoquées en quatorze jours par l'administration d'une dose unique de substance.

Conditions expérimentales : La substance à tester est administrée en une seule fois. Plusieurs doses sont testées en concentrations croissantes sur des groupes homogènes d'animaux (des deux sexes, de même poids, même âge, au métabolisme voisin de celui de l'homme).

Ces études permettent de déterminer : Les signes d'intoxication, la dose létale 50 (qui provoque la mort de 50 % des animaux testés), les quantités limites à utiliser lors des autres études ; les organes cibles, les modes d'action et les risques induits par des expositions excessives accidentelles, la DMM (Dose minimale mortelle).

3.2.3.

- Génotoxique : qui produit des mutations affectant le patrimoine génétique des organismes exposés.
- Cancérogène : qui induit la transformation de cellules normales en cellules malignes devenues immortelles, n'obéissant plus aux facteurs de régulation tissulaire et capables d'aller coloniser d'autres tissus (formation de métastases).

On distingue :

- les cancérogènes incomplets initiateurs qui créent des lésions du matériel génétique dans des cellules qui deviennent initiées
- les cancérogènes incomplets promoteurs qui révèlent les lésions génétiques jusqu'alors non décelables. (Ils agissent au niveau de la membrane cellulaire et perturbent les mécanismes cellulaires de régulation de la transcription des gènes. Un autre mécanisme impliqué dans la promotion tumorale est la surproduction de radicaux libres oxygénés qui ne peuvent plus être éliminés par les procédés normaux.)
- Zéaralénone et dérivés = cancérogènes promoteurs car dénués d'effets génotoxiques.

3.2.4. DJT : Dose Journalière Tolérable. C'est la dose susceptible d'être absorbée en une journée et par kilo de masse corporelle par un individu sans entraîner d'effets toxiques, même si l'absorption a lieu quotidiennement pendant toute la vie.

Le coefficient de sécurité est le facteur par lequel on va diviser la DES(H) obtenue grâce à un modèle animal pour obtenir la DJT applicable à l'ensemble de l'espèce humaine selon le principe de précaution. Il résulte de la multiplication de deux facteurs:

- un facteur 10 pour tenir compte de l'extrapolation du modèle animal à l'homme (différence de sensibilité entre espèces),
- un facteur 10 pour tenir compte des variations individuelles à l'intérieur de l'espèce humaine : état physiologique, état de nutrition, état sanitaire.

$DJT = DSEH/100 = 0,5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

3.2.5. $LMR = 1000 (DJT \times \text{poids corporel})/\text{quantité ingérée} = 140 \mu\text{g}/\text{kg}$

3.2.6. Technique d'immunoenzymologie type ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Autres techniques acceptées : Immunodiffusion radiale (Mancini) ou immunochromatographie...

Sciences appliquées 2008

PREMIÈRE PARTIE : SCIENCES DES ALIMENTS (50 pts)

1.1. ÉTUDE DE QUELQUES INGRÉDIENTS

1.1.1. L'œuf (21 points)

1.1.1.1. Ovoproduit :

Toute présentation où l'œuf est majoritaire en dehors de l'œuf en coquille. Les ovoproduits sont obtenus à partir de l'œuf, de ses différents composants ou de leurs mélanges, après élimination de la coquille et des membranes. Ils sont destinés à la consommation humaine ; ils peuvent être complétés par d'autres denrées alimentaires ou additifs. Ils peuvent être liquides, concentrés, séchés, cristallisés, congelés, surgelés ou coagulés.

1.1.1.2. Tableau comparatif

Nous vous proposons deux tableaux différents de réponse :

	Avantages	Inconvénients
Liquide	<ul style="list-style-type: none"> • Pratique à utiliser • Propriétés fonctionnelles proches de celles de l'œuf en coquille 	<ul style="list-style-type: none"> • DLC courte • Résultats microbiologiques pas toujours connus avant utilisation
congelé	<ul style="list-style-type: none"> • Conservation longue • Résultats microbiologiques connus avant utilisation, donc pas de gaspillage 	<ul style="list-style-type: none"> • Risque de séparation du jaune par gélification des lipoprotéines • Propriétés fonctionnelles altérées

Comparaison de l'œuf entier liquide pasteurisé/ œuf entier congelé	
Avantages	Inconvénients
Coût de réalisation et de stockage plus faible	Stockage plus volumineux
Pas d'attente pour réaliser les mélanges	Durée de conservation moins longue
Meilleure conservation des propriétés technologiques	Manipulation moins pratique que les paillettes congelées.
	Nécessité fréquente d'un salage et/ou sucrage pour stabiliser le produit.

1.1.1.3. Les 3 protéines du blanc d'œuf peuvent être choisies parmi :

Ovalbumine, conalbumine, ovomucoïde, ovoglobulines, lysozyme, ovomucine, ovoinhibiteur, ovoglycoprotéine, flavoprotéine, ovomacroglobuline, ficine inhibiteur et avidine.

1.1.1.4

Valeur biologique ; aptitude d'une protéine à apporter les acides aminés essentiels en proportion satisfaisante.

CUD (coefficient d'utilisation digestive) Rapport de la fraction absorbée sur la fraction ingérée. Il est déterminé par la relation :

$$\text{CUD} = \frac{N_{\text{absorbée}} - N_{\text{fécale}}}{N_{\text{ingérée}}}$$

Le CUD est faible car non coagulées par la cuisson, les protéines du blanc d'œuf s'avèrent peu digestibles, à cause de la présence de facteurs anti-enzymatiques, antitrypsine en particulier.

1.1.1.5. Propriétés fonctionnelles des protéines du blanc d'œuf

Pouvoir foisonnant (moussant), gélifiant, liant, anticristallisant...

1.1.1.6. Principaux composants de la matière sèche du jaune

Protéines, lipides dont cholestérol, substances minérales (sodium, potassium, calcium, magnésium, fer, phosphore...) et vitamines (toutes sauf l'acide ascorbique).

1.1.1.7. Nom des lipoprotéines rencontrées dans le jaune d'œuf

- LDL (Light density lipoprotein)
- HDL (High density lipoprotein)

1.1.1.8. Intérêt technologique des œufs dans les quenelles

Les œufs entiers participent à la réalisation de l'émulsion grâce aux propriétés émulsifiantes des phospholipides et des protéines du blanc d'œuf.

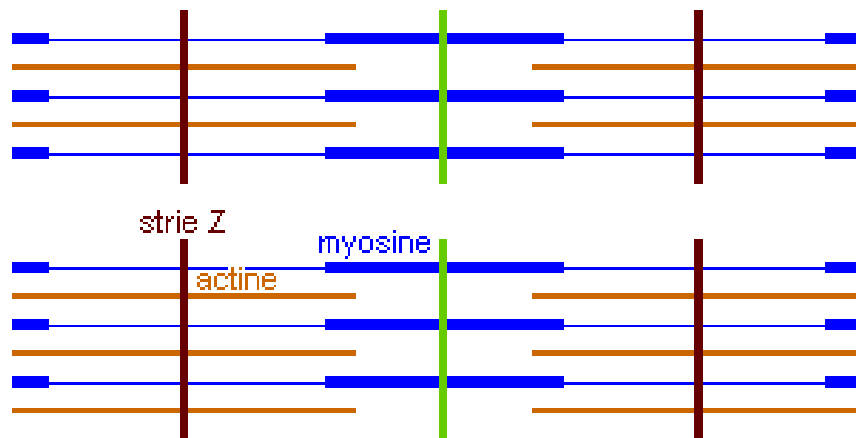
Les propriétés moussantes des protéines du blanc d'œuf contribuent à permettre le gonflement de la panade pendant le foisonnement.

Les propriétés collantes des protéines du blanc d'œuf facilitent le moulage et enfin au moment du pochage la coagulation des protéines de l'œuf (jaune et blanc) stabilise la structure de la quenelle moulée.

1.1.2. La chair de volaille (12 points)

1.1.2.1. Principales protéines myofibrillaires

Les 2 principales protéines sont l'actine et la myosine. Ces protéines polymérisent et forment soit des filaments d'actine, soit des filaments de myosine ; ces filaments sont disposés parallèlement et alternativement dans les sarcomères.

1.1.2.2. La rigidité cadavériqueLa pré-rigor

L'abattage entraîne l'arrêt de l'apport en dioxygène et donc de la respiration cellulaire pour la production d'ATP. Il s'ensuit la mise en place d'une fermentation lactique qui augmente l'acidité du milieu. L'abaissement du pH provoque l'inhibition des enzymes de la glycogénolyse et l'arrêt total de la production d'ATP.

La rigor mortis

En absence d'ATP, les têtes de myosine ne peuvent plus se détacher des filaments d'actine, il se forme le **complexe actomyosine** qui lie irréversiblement les deux protéines entre elles : les cellules musculaires restent « bloquées » en contraction légère. C'est la rigidité cadavérique.

1.1.2.3. Couleur de la chair

La couleur de la viande dépend de sa teneur en myoglobine, protéine qui permet le transport intracellulaire du dioxygène. Chez les oiseaux sauvages utilisant réellement leurs ailes, la chair est plus rouge du fait d'une quantité supérieure de myoglobine.

1.1.2.4. Intérêt technologique de la chair animale

La chair animale est riche en protéines qui possèdent plusieurs propriétés technofonctionnelles indispensables à l'élaboration de quenelles :

- Pouvoir gélifiant qui donnera à la quenelle sa texture
- Pouvoir hydratant qui permettra la rétention d'eau et la présence d'une phase aqueuse
- Pouvoir émulsifiant stabilisant la présence d'une phase grasse et d'une phase aqueuse
- Pouvoir foisonnant permettant, par l'incorporation de gaz à l'intérieur de la pâte, de la rendre plus légère.
- Pouvoir de rétention d'arômes qui permettra de conserver les qualités organoleptiques du produit.

1.1.2.5. Défaux visuels des carcasses

- mauvaise éviscération et présence d'entrailles
- plumage incomplet
- saignée incomplète
- déboîtages d'articulation et ecchymoses.

1.1.2.6. Utilisation de viande séparée mécaniquement (VSM)

L'emploi de VSM diminue le coût des matières premières mais la présence éventuelle de traces d'os diminue les qualités organoleptiques du produit.

Chez les bovins, la présence d'os fait suspecter la contamination de la VSM par de la moelle osseuse substance pouvant contenir l'agent de l'ESB (encéphalopathie spongiforme bovine).

1.1.3. La matière grasse (6 points)**1.1.3.1. relation entre la composition des huiles et la texture du corps gras**

À 15°C, l'huile de palme sera solide (graisse) alors que l'huile de colza sera liquide car l'huile de palme contient plus de 50 % d'acides gras saturés (44% d'acide palmitique, 4,5% d'acide stéarique et 1% d'acide myristique) alors que l'huile de colza contient environ 90 % d'acides gras insaturés (oléique (58%) , linoléique (22%) , linoléique (9%)).

La température de fusion d'un corps gras est d'autant plus élevée que les acides gras qui le composent sont saturés et à chaîne longue.

1.1.3.2. Hydrogénation d'une huile

L'hydrogénation consiste à transformer les doubles liaisons en liaisons simples. Pour cela, on utilise du dihydrogène sous pression en présence d'un catalyseur (palladium) et à chaud (180°C).

L'avantage est d'augmenter la température de fusion pour obtenir un produit stable (moins oxydable) exempt d'excudation huileuse. En élevant le point de fusion, la consistance est plus ferme à température voisine de 15–20°C.

Par contre, le mélange devra être réalisé à une température supérieure et ses qualités nutritionnelles seront affectées : perte d'acide linoléique, acide gras essentiel et isomérisation Z-E. La présence d'isomère E (trans), comme l'acide élaïdique, est suspectée d'augmenter le risque de maladies cardiovasculaires.

1.2. ÉTUDE DU PROCÉDE DE FABRICATION ET DE LA QUALITE DU PRODUIT (11 points)**1.2.1. Pochage des ingrédients**

Le pochage est une cuisson à l'eau qui va entraîner la gélification du produit par :

- thermodénaturation des protéines qui vont coaguler
- gélatinisation de l'amidon donnant une texture colloïdale

1.2.2. conditionnement sous vide

Il protège les constituants de l'oxydation par l'air (rancissement) mais aussi du risque de contamination microbienne et le développement de la flore aérobie.

1.2.3. Quenelles Label Rouge

Comparaison des quenelles étudiées aux exigences du label rouge :

- Le % de volaille est inférieur au minimum requis pour les quenelles Label rouge.
- Le % d'œuf aussi, de plus le doc.1 ne mentionne pas que les œufs sont frais, donc ce sont probablement des ovoproduits liquides ;
- Le produit étudié ne contient pas de beurre mais une matière grasse végétale
- Le produit étudié contient des protéines de lait et des arômes, ce qui est interdit dans les quenelles Label rouge.

Les protéines de l'œuf et du muscle de volaille ont des propriétés gélifiantes qui assurent le tenue des quenelles Label Rouge, où elles sont en quantité suffisante. Ici les concentrations de ces deux ingrédients sont trop peu élevées pour assurer la fonction de texturation, d'où l'ajout des protéines de lait, qui ont les mêmes propriétés fonctionnelles, pour compenser.

1.2.4. Date limite de consommation (DLC)

La DLC est la date à partir de laquelle les qualités sanitaires du produit ne sont plus garanties.

Les quenelles sont des produits frais permettant le développement des microorganismes. Les deux ingrédients les plus à risque sont les œufs et la chair de poulet, d'autant plus qu'ils ont été fragmentés et mélangés.

Le produit n'ayant pas subi de stérilisation suivie de conditionnement aseptique, on ne peut exclure un développement microbien au cas où le chauffage réalisé à 85°C n'ait pas éliminé la plupart des microorganismes non sporulés. Le produit pouvant donc s'altérer lors de sa conservation (au froid) une DLC s'impose.

DEUXIÈME PARTIE : GÉNIE INDUSTRIEL (50 pts)

1 – HACHAGE DE LA VIANDE ET CUTTERAGE (12 pts)

1.1. Hachoir :

Légende :

- V = vis sans fin
- C = couteau
- G = plaque ou grille
- T = trémie

Fonctionnement

Le couteau et la vis tournent, la grille est fixe. La vis pousse la viande vers le couteau qui tourne contre la grille. La viande subit des forces de cisaillement qui la hache.

On peut améliorer la finesse en utilisant une grille plus petite ou en montant plusieurs grilles.

1.2.

Le hachoir fonctionne en continu, il permet d'effectuer un hachage grossier. Le cutter fonctionne en discontinu, il permet un hachage plus fin. Les cutters peuvent être thermostatés et le travail peut s'effectuer sous vide.

1.3.

Volume de remplissage de la cutter = 75 L,

Soit une masse de mûlée de 75 kg

Masse de viande à hacher = $0,13 \cdot 75 \cdot 1/0,9 = 10,8 \text{ kg}$

2 – CONCENTRATION DE L'ŒUF ENTIER (24 POINTS)

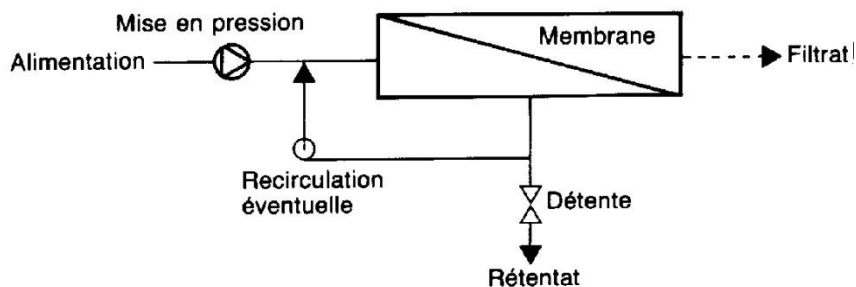
2.1.

La concentration consiste à éliminer le solvant, ses principaux buts sont : la diminution du volume, la diminution du poids, l'aspect pratique, l'amélioration de la stabilité du produit.

L'addition de sel ou du sucre permet d'abaisser davantage l'Aw pour assurer une meilleure stabilité du concentré.

2.2.

L'ultrafiltration est une technique membranaire, le flux est tangentiel ce qui limite le colmatage des membranes. La vitesse de circulation est rapide, ce qui permet par un effet de balayage d'éviter l'accumulation de macromolécules sous la membrane. Cette technique permet la rétention des macromolécules. La pression nécessaire exercée par la pompe est de l'ordre de 2 Bars.



Les principaux éléments d'une installation d'ultrafiltration sont :

La cuve, le module d'ultrafiltration, la pompe, la boucle de recirculation (facultative), le système de chauffage, des manomètres.

Ce procédé est peu dénaturant car l'augmentation de température est modérée.

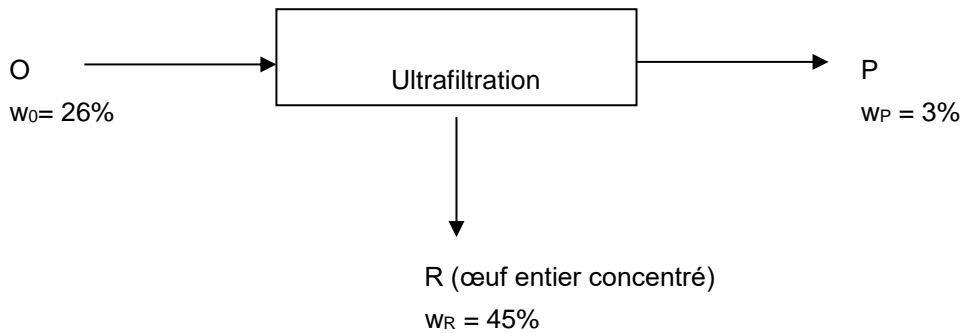
2.3.

Le débit de perméat lors d'une opération d'ultrafiltration ne peut que diminuer (effet de polarisation, augmentation de viscosité)

La température augmente le débit de perméat (chute de la viscosité).

L'ultrafiltration devient impossible pour de l'œuf entier si le pourcentage de matières sèches approche de 50% car le rétentat est trop visqueux et la polarisation est très augmentée.

2.4.



bilan de matière global : $O = P + R$

bilan en matières sèches : $O \cdot w_0 = P \cdot w_p + R \cdot w_R$

$$R = \frac{O(w_0 - w_p)}{(w_R - w_p)} = 54,76 \text{ kg}$$

2.5.

- Comparaison du contenu du concentré obtenu avec celui obtenu par ultrafiltration :
 - l'évaporation sous vide élimine de l'eau,
 - l'ultrafiltration élimine de l'eau et les petites molécules comme les solutés et les minéraux
- Le travail sous vide permet d'abaisser la température de travail et d'éviter la dénaturation du produit.
- En annexe 5 : évaporateur à flot tombant
- Évaporateur double effet : la vapeur retirée au produit lors de la première évaporation sert de vapeur de chauffe dans l'échangeur de chaleur du second effet.
- Recompression de vapeur : la vapeur retirée au produit est comprimée mécaniquement pour augmenter son enthalpie afin de pouvoir être réutilisée comme fluide de chauffage dans l'évaporateur.

3 – APPERTISATION DE QUENELLES (14 Points)

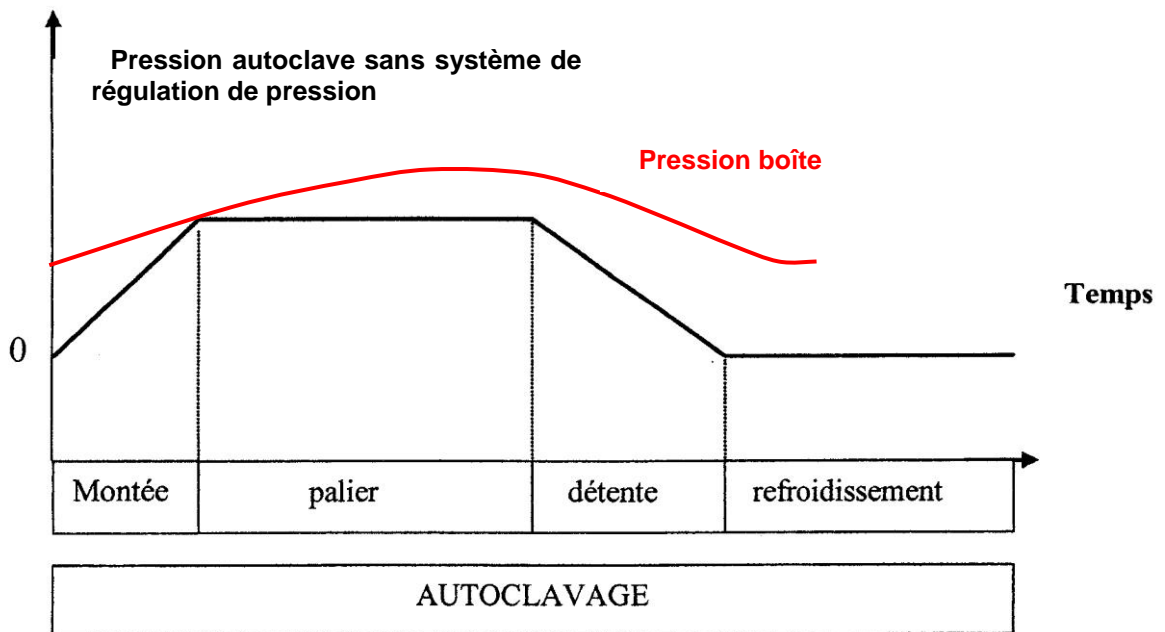
3.1.

L'étape de sertissage est une étape critique car il y a un risque de défaut d'étanchéité du serti (risque de fuite lors de l'appertisation à cause de la surpression et risque d'altérations (oxydation, développement de microorganismes) pendant le stockage.

3.2. Annexe 6

Évolution de la pression dans une boîte lors d'un cycle d'autoclavage dans un autoclave sans système de surpression régulée.

Pression relative



S'il n'y a pas de régulation de pression, la surpression dans la boîte a lieu au début du refroidissement. Les risques sont le bombage des boîtes et l'apparition de fuites au niveau des sertis.

3.3.

La valeur stérilisatrice est une durée équivalente au traitement rapportée à la température de référence de 121,1°C.

temps en minutes	température à cœur	L _T en minutes	F partielle méthode des trapèzes
0	45		
4	55		
8	80	0,00	0,49
12	115	0,25	2,04
16	120	0,78	3,51
20	121	0,98	4,42
24	122	1,23	4,92
28	122	1,23	2,51
32	105	0,02	0,05
36	80		
40	60		
		F=	17,94 minutes

- Avec $L_T = 10^{\left(\frac{T-T_{ref}}{Z}\right)}$ Application numérique $L_T = 10^{\left(\frac{115-121,1}{10}\right)} = 0,245$
 - F partielle par la méthode des trapèzes
- $$F_{115 \rightarrow 120} = \frac{L_{T_{115}} + L_{T_{120}}}{2} \cdot (16 - 12) = \frac{0,245 + 0,78}{2} \cdot 4 = 2,05$$
- $$F = \sum F_{partielles}$$

Étude de cas 2008

Fabrication de lardons fumés surgelés

1. Étude HACCP dans l'atelier de découpe

HACCP : *Hazard Analysis Critical Control Point* : analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise

1.1. Définition, méthodologie, objectifs

Définition : Système qui identifie, évalue et maîtrise les dangers significatifs au regard de la sécurité des aliments. (NF V 01-002: 2003), les dangers pouvant être des agents biologiques, chimiques ou physiques, présents dans un aliment.

Méthodologie : Identifier les dangers potentiels, leurs causes et leurs effets sur la sécurité alimentaire, les évaluer, identifier les CCP, définir les actions pour les maîtriser, surveiller les options de maîtrise, proposer des actions correctives.

Autrement dit, il s'agit de mettre en œuvre un plan de travail d'après le *Codex Alimentarius* :

1. Constituer l'équipe HACCP
2. Décrire le champ d'étude
3. Décrire le produit et l'utilisation attendue
4. Élaborer un diagramme de fabrication
5. Confirmer sur place le diagramme de fabrication
6. Dresser la liste de tous les dangers associés à chacune des étapes et la liste de toutes les mesures préventives destinés à maîtriser ces dangers (Principe 1)
7. Identifier les points critiques pour la maîtrise (CCP) (Principe 2)
8. Établir les limites critiques pour chaque CCP (Principe 3)
9. Établir un système de surveillance pour chaque CCP (Principe 4)
10. Établir les actions correctives (Principe 5)
11. Préparer la vérification (Principe 6)
12. Établir un système d'enregistrements et de documentation (Principe 7).

Objectif : Assurer la sécurité sanitaire (c'est le seul objectif).

1.2. L'équipe HACCP

Caractéristiques de l'équipe HACCP : pluridisciplinaire, collective, non hiérarchique

Composition de l'équipe HACCP :

- Un responsable de la réception des matières premières (carcasses) ou un de ses ouvriers (fournisseur interne de l'atelier de découpe)
- Le responsable de l'atelier de découpe (responsable de l'atelier concerné)
- Un ouvrier spécialisé de l'atelier de découpe (connaissance précise des activités de l'atelier)
- Un responsable de l'atelier de salaison ou un de ses ouvriers (client interne en aval de l'atelier de découpe)
- Un chef de produit (spécialiste du process et du produit)
- Un responsable de maintenance et d'entretien
- Un responsable de laboratoire (spécialiste des analyses et des contrôles microbiologiques)
- Un animateur responsable qualité (organisateur de l'étude et chargé de l'examen).

Justification : il faut des personnes qui sachent comment sont réalisées les diverses opérations du diagramme de fabrication, des personnes qui connaissent les éventuels problèmes de matériel, et des personnes qui connaissent les exigences réglementaires propres à cette fabrication (responsable qualité) et qui puissent donner des informations concernant les dangers microbiologiques de ce produit (responsable laboratoire).

1.3. CCP correspondant aux dangers microbiologiques

1-3-1- Explication et définition du sigle

CCP : critical control point

Définition : opération, procédure, matière première à laquelle une mesure de maîtrise peut être appliquée et qui est essentielle pour prévenir ou éliminer un danger ou le ramener à un niveau acceptable.

1-3-2- Identification des CCP

Découpe primaire, désossage manuel, stockage en bacs, dégraissage manuel sont des CCP

Justification :

Q1 : oui (des mesures préventives de maîtrise existent : procédure, nettoyage, instructions, contrôle...)

Q2 : non (l'étape n'est pas conçue pour éliminer le danger ou le ramener à un niveau acceptable)

Q3 : oui (une contamination peut survenir à l'étape)

Q4 : non (aucune étape ultérieure n'éliminera le danger ou le ramènera à un niveau acceptable)

Conclusion : ce sont tous des CCP.

1.4. Poursuite de l'étude HACCP

CCP	Limites critiques	Surveillance
Découpe primaire Désossage Stockage Dégraissage	Propreté du matériel	- Surveillance visuelle - Surveillance par étiquetage - Contrôle microbiologique à l'aide de lames contact
Environnement	Température inférieure ou égale à 12°C Propreté des locaux	- Mesure et enregistrement de la température - Surveillance visuelle et contrôle microbiologique
Personnel	Port correct de la tenue Propreté de la tenue Hygiène	- Surveillance visuelle - Contrôle microbiologique

2. Contrôle au poste de surgélation

2.1. Dysfonctionnements en surgélation

	EXPLICATION			ACTION CORRECTIVE		
	Matériel	Procédure	Opérateur	Matériel	Procédure	Opérateur
Cellule N2	Vétusteté		Formation incomplète	A remplacer ou augmenter la fréquence de maintenance		Terminer au plus vite la formation et assister l'opérateur
Congélateur	Vétusteté et absence de révision		Pas de formation spécifique	Assurer une révision immédiate ou à remplacer		Réaliser immédiatement une formation
IQF		Pas de procédure en place	Surchage de travail (peut-être)		Mettre en place une procédure	Former un opérateur et assurer une meilleure répartition des tâches

2.2. Maîtrise des documents

Dispositions permettant d'assurer une bonne maîtrise

- choisir les documents qui sont nécessaires
- préciser les modalités de présentation
- préciser les modalités de rédaction, vérification et approbation
- préciser les modalités de diffusion (qui peut être maîtrisée ou non maîtrisée)
- préciser les modalités de révision, modification lorsque cela est nécessaire
- assurer leur archivage

3. Audit interne dans l'atelier de tranchage de lardons

3.1. Définition audit, caractéristiques de l'audit interne

Définition audit

Examen méthodique et indépendant permettant de vérifier la conformité aux dispositions prises en matière de qualité et l'efficacité de ces dispositions

ou

Norme ISO 9000 : processus méthodique, indépendant et documenté permettant d'obtenir des preuves d'audit et de les évaluer de manière objective pour déterminer dans quelle mesure les critères d'audit sont satisfaits.

Caractéristiques de l'audit interne

- Audit décidé par l'entreprise elle-même (au compte de l'entreprise)
- Audit effectué par des auditeurs désignés et choisis par l'entreprise
- Audit effectué par des auditeurs extérieurs au service audité
- Audit pour évaluer la bonne mise en application et l'efficacité des méthodes et des pratiques préconisées.

3.2. Audit interne de la maîtrise du produit non-conforme

Documents utiles

- Procédure de maîtrise des produits non-conformes
- Fiche d'anomalie (Enregistrement de la non-conformité et traitement de la non-conformité)

Éléments contenus dans ces documents

- Cartouche
- Contenu de la procédure de maîtrise des produits non conformes
 - Identification et isolement du produit non conforme
 - Devenir du produit non conforme (destruction, acceptation par dérogation, retraitement...)
 - Modalités d'enregistrement
 - Responsabilités à chaque niveau
- Contenu de la fiche d'anomalie
 - Identification du produit
 - Date et heure
 - Nature du produit concerné, n° de lot, quantité
 - Anomalies constatées
 - Description de la non-conformité`
 - Critères ayant conduit au classement en non conforme
 - Commentaires
 - Responsabilité (nom et visa) de la prise de décision de la non conformité
 - Décision prise
 - Identification et localisation du produit non conforme
 - Devenir du produit non conforme
 - Responsabilité de la prise de décision (nom et visa)
 - Suivi de la non conformité
 - Contrôle en cas de traitement du produit
 - Contact avec le client si acceptation par le client.

4. Vérification du plan de contrôle « produit fini »

4-1- NQA

Niveau de qualité acceptable : % de non conformes qui ne doit pas être dépassé dans un lot pour que celui-ci soit déclaré comme acceptable.

4-2- Décisions prises lors du contrôle

N° de lot	A	R	Décision	Poursuite du contrôle
1	10	11	Acceptation	Normal
2	10	11	Acceptation	Normal
3	10	11	Acceptation	Normal
4	10	11	Rejet	Normal
5	10	11	Acceptation	Normal
6	10	11	Acceptation	Normal
7	10	11	Acceptation	Normal
8	10	11	Acceptation	Normal
9	10	11	Acceptation	Normal
10	10	11	Rejet	Normal
11	10	11	Acceptation	Normal
12	10	11	Rejet	Renforcé
13	8	9	Acceptation	Renforcé
14	8	9	Acceptation	Renforcé
15	8	9	Rejet	Renforcé
16	8	9	Acceptation	Renforcé
17	8	9	Acceptation	Renforcé
18	8	9	Acceptation	Renforcé
19	8	9	Acceptation	Renforcé
20	8	9	Acceptation	Normal
21	10	11	Acceptation	Normal

Le lot n°4 refusé, mais c'est le premier : on peut rester en contrôle normal.

Le lot n°10 est refusé, mais les 5 précédents sont acceptés : on peut rester en contrôle normal.

Le lot n°12 est refusé et c'est le second sur 5 lots consécutifs, il faut donc passer en contrôle renforcé (avec même effectif, même NQA, mais des critères plus sévères : A = 8 et R = 9).

Les lots 13 et 14 sont acceptés mais le lot 15 est refusé : il faut donc rester en contrôle renforcé.

Au lot 20 accepté, il s'agit de l'acceptation du 5^{ème} lot consécutif : on peut donc repasser en contrôle normal avec le même effectif, le même NQA et comme critères : A = 10 et R = 11.

Corrigés sujets 2009

Anglais 2009

I. COMPREHENSION :

1) Les idées essentielles du texte sont :

- L'opposition « autrefois / aujourd'hui », l'idée que la menace qui pèse sur la faune sauvage a changé.
- Autrefois, les espèces animales sauvages étaient menacées par la destruction de leur habitat à cause du mode de vie des indigènes et du braconnage.
- Aujourd'hui elles sont menacées par la chasse qui se développe fortement.
- Les causes : la construction accrue de routes pour le bûcheronnage, les sites miniers, qui donnent accès au marché mondial.
- Le commerce mondial de peaux, de fourrure et surtout de viande de brousse est florissant.
- Les causes : forte demande des immigrants africains installés de par le monde et snobisme lié à la consommation de viande de brousse.
- Cependant, des mesures sont prises pour lutter contre les exportations et la contrebande ainsi que pour limiter la consommation locale aux stricts besoins des indigènes.

NB:

- évitez la phrase d'introduction artificielle « ce texte extrait de (nom du magazine date). Annoncez directement le sujet du document,
- relisez et assurez-vous que ce que vous écrivez fait sens,
- vérifiez orthographe et grammaire,
- respectez le nombre de mots demandés et indiquez à la fin de votre compte-rendu, et de façon précise, le nombre de mots écrits.

2) Traduire en français le texte de la ligne 16 (« There is a thriving market.... ») à la ligne 21 («... are falling silent. »).

Il existe un marché florissant de la viande de brousse parmi les immigrants de la communauté africaine dispersés à Paris, New York, Montréal, Chicago et ailleurs. On estime à 7000 kilos la quantité de viande, essentiellement de la viande de primate, qui arrive tous les mois rien que dans sept villes européennes et nord-américaines. Selon E. Bennett, « la chasse et le commerce ont déjà entraîné des extinctions de grande envergure d'espèces locales en Asie et en Afrique de l'Ouest. Les endroits sauvages du monde sont en train de devenir silencieux » ;

II. EXPRESSION : (à rédiger en anglais)

1) What sorts of threats is the world's wildlife facing nowadays and why? (120 words, +/- 10%)

useful vocabulary: to face something / the increase of population / man's expansion / human needs / industrialization / globalization / to shrink / the natural habitat / to make room / to clear / to raise cattle / to grow crops / pollution / to make something disappear / disappearance / to sentence to death / to respect

Useful grammar points: savoir construire le présent simple, formes affirmatives et négatives. Accorder verbes et sujets.

2) Are there any solutions to the problem of the extinction of animal species? (100 words, +/- 10%)

- on s'attend à voir utiliser les outils servant à exprimer l'opinion, la certitude, l'incertitude, les modaux (may, might, must, should, ought to, mustn't, shouldn't...),.
 - useful vocabulary: to solve something / to fight something / the NGOs / organisations / to investigate / to preserve / birth control / education / to limit / poaching / sustainable development / short-term solutions / long-term solutions / a change in mentalities
- NB :
- n'oubliez pas d'organiser les arguments. Il faut rédiger, ne pas lister.
 - respectez les consignes données quant au nombre de mots à rédiger et ne pas oublier d'indiquer le nombre de mots écrits.

Mathématiques 2009

Exercice 1 :

PARTIE A

1a.

L'expérience est formée par des prélèvements de 20 tuyaux, de façons identiques, indépendantes car les tirages sont faits avec remise et à deux issues : le tuyau est défectueux avec une probabilité $p = 0,015$ ou il n'est pas défectueux avec une probabilité $q = 0,985$.

La variable aléatoire X qui associe à tout prélèvement le nombre de tuyaux défectueux suit la loi binomiale de paramètres $n = 20$; $p = 0,015$.

1b. $p(X = 0) = 0,985^{20} \approx 0,739$

1c. $p(X \leq 2) = p(X = 0) + p(X = 1) + p(X = 2) = 0,985^{20} + 20 \times 0,015 \times 0,985^{19} + \binom{20}{2} \times 0,015^2 \times 0,985^{18}$

$$p(X \leq 2) \approx 0,997$$

2a. $\lambda = np = 200 \times 0,015 = 3$

2b. Z suit la loi de Poisson de paramètre 3

$$p(Z \leq 4) = p(Z = 0) + \dots + p(Z = 4) \approx 0,050 + 0,149 + 0,224 + 0,224 + 0,168 \quad p(Z \leq 4) \approx 0,815$$

PARTIE B

1. D_1 suit la loi normale de paramètres 40 et 0,2.

Calculons $p(39,6 \leq D_1 \leq 40,4) = p$, on pose $T = \frac{D_1 - 40}{0,2}$ où T suit la loi normale $N(0 ; 1)$, on a alors

$$p = p(-2 \leq T \leq 2) = 2\Pi(2) - 1 \approx 2 \times 0,9772 - 1 \approx 0,95$$

La probabilité pour qu'un tuyau prélevé au hasard dans la production soit commercialisable est de 0,95.

2. D_2 suit la loi normale de paramètres 40 et σ , on a $p(39,6 \leq D_2 \leq 40,4) = 0,99$,

on pose $U = \frac{D_2 - 40}{\sigma}$ où U suit la loi normale $N(0 ; 1)$, on a alors :

$$p(39,6 \leq D_2 \leq 40,4) = p\left(-\frac{0,4}{\sigma} \leq U \leq \frac{0,4}{\sigma}\right) = 2\Pi\left(\frac{0,4}{\sigma}\right) - 1 = 0,99$$

D'où $\Pi\left(\frac{0,4}{\sigma}\right) = 0,995 = \Pi(2,58)$ et par suite $\sigma = \frac{0,4}{2,58} \approx 0,16$

Exercice 2 :

PARTIE A

1. Les solutions de $(E_0) : 2y' + y = 0$, soit $y' = -\frac{1}{2}y$

(E_0) est de la forme $y' = a y$ donc les solutions sont $C.e^{at}$

Donc ici $C.e^{-0,5t}$ où $C \in \mathbb{R}$

2. $h(t) = 4te^{-0,5t}$ donc $h'(t) = 4e^{-0,5t} - 2te^{-0,5t}$; $2h'(t) + h(t) = 8e^{-0,5t} - 4te^{-0,5t} + 4te^{-0,5t} = 8e^{-0,5t}$, donc h est solution de (E) .

3. Les solutions de (E) sont donc : $y = Ce^{-0,5t} + 4te^{-0,5t}$

4. $f(0) = 1 \Rightarrow C = 1$, donc $f(t) = (4t + 1)e^{-0,5t}$

PARTIE B

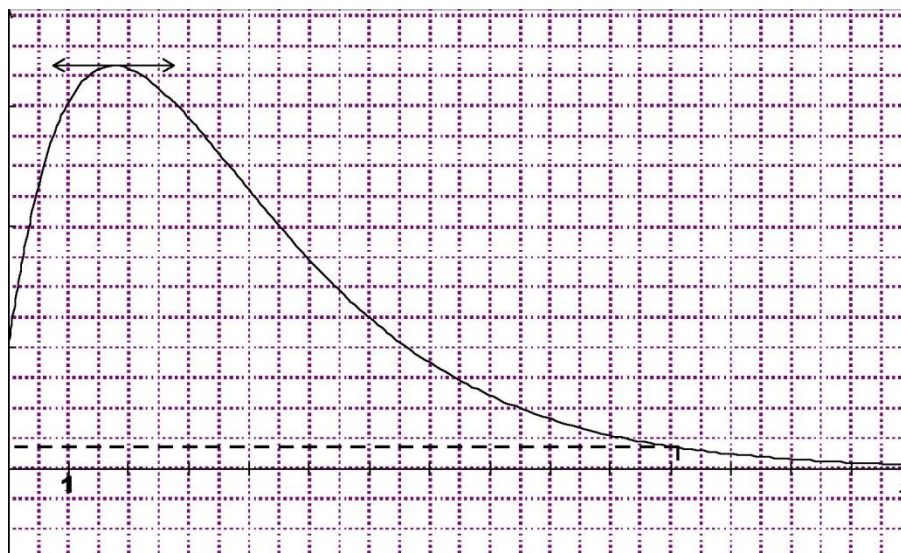
1. $f'(t) = (3,5 - 2t)e^{-0,5t}$

a. Pour tout réel t, $e^{-0,5t} > 0$, donc la dérivée est du signe de $(3,5 - 2t)$ et s'annule pour $t = \frac{3,5}{2} = \frac{7}{4}$.

t	0	7/4	15
f'(t)	+	0	-
f	1	$8\exp(-0,875)$	$61\exp(-7,5)$

$f(7/4) \approx 3,33$

$f(15) \approx 0,038$



3a. $F(t) = (-18 - 8t)e^{-0,5t}$, $F'(t) = -8e^{-0,5t} - 0,5(-18 - 8t)e^{-0,5t} = e^{-0,5t}(-8 + 9 + 4t) = (4t + 1)e^{-0,5t} = f(t)$
 donc F est une primitive de f.

3b. $\int_0^{11} f(t)dt = [F(t)]_0^{11} = -106e^{-\frac{11}{2}} + e^0 \times 18 = 18 - 106e^{-\frac{11}{2}}$.

PARTIE C

1. $f(0) = 1$, le volume présent dans le bocal au moment de la mise en marche est de 1 m^3 .

2. Par lecture graphique, l'abscisse du point de la courbe d'ordonnée 0,175 est environ 11,1. Comme la fonction est décroissante sur $[\frac{7}{8}; 15]$, le volume de dioxyde de carbone sera inférieur à $0,175 \text{ m}^3$ à partir d'environ 11,1 mln.

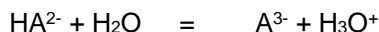
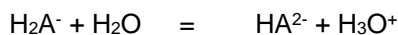
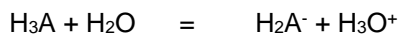
3. $V_m = \frac{1}{11-0} \int_0^{11} f(t)dt = \frac{18 - 106e^{-5,5}}{11}$, soit $V_m \approx 1,6 \text{ m}^3$

Sciences physiques 2009

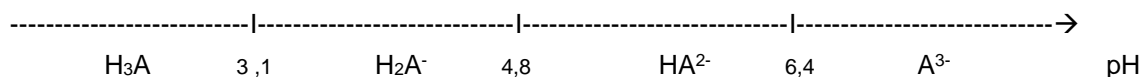
1. Étude de l'acide citrique (4 points)

1.1. Entourer et nommer les groupes fonctionnels : 3 fonctions acide carboxylique -COOH et une fonction alcool -OH

1.2. Équations des réactions de dissociation observées lors de sa mise en solution dans l'eau :



1.3. Diagramme de prédominance des différentes espèces :



1.4. Concentration molaire de la solution d'acide citrique :

À l'équivalence, la réaction étant totale : $n_{\text{H}_3\text{A}} = n_{\text{OH}^-} / 3$

$$C_{\text{H}_3\text{A}} \cdot V_{\text{H}_3\text{A}} = (\text{COH}^- \cdot V_{\text{OH}^-}) / 3 \text{ d'où } C_{\text{H}_3\text{A}} = (\text{COH}^- \cdot V_{\text{OH}^-}) / (3 \cdot V_{\text{H}_3\text{A}}) = 1,7,8 / 3 \cdot 10 = 0,26 \text{ mol.L}^{-1}$$

Concentration massique de la solution d'acide citrique :

$$C_{\text{mH}_3\text{A}} = (C_{\text{H}_3\text{A}} \cdot M_{\text{H}_3\text{A}}) = 0,26 \cdot 192 = 49,92 = 50 \text{ g.L}^{-1}$$

1.5. Si on ajoute 10 L d'acide citrique, on ajoute une masse de $50 \cdot 10 = 500 \text{ g}$ d'acide citrique pour 100 kg de mix soit 5 g / kg .

Le mix est donc conforme à la législation.

2. Étude de la structure du fructose (4 points)

2.1. La représentation du D-Fructose est la représentation de Fischer.

2.2. Recopier la molécule de fructose. Entourer et nommer les différentes fonctions chimiques :

- 2 fonctions alcool primaire en C1 et C6
- 3 fonctions alcool secondaire en C3, C4 et C5
- 1 fonction cétone en C2

2.3. Un carbone asymétrique C* est un atome de carbone relié à 4 substituants différents. Il y a 3 C* en C3, C4 et C5.

2.4. Une molécule chirale est une molécule non superposable à son image dans un miroir.

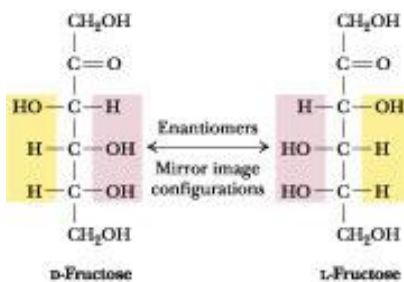
2.5. Classement des substituants du carbone 5 du fructose selon les règles CIP :

CIP	rang 1	N°	rang 2	N°
-H	Z _H = 1	4		
-OH	Z _O = 8	1		
-CH ₂ OH	Z _C = 6	?	2 Z _H et 1 Z _O	3
-CHOH-CHOH-CO-CH ₂ OH	Z _C = 6	?	1 Z _H et 1 Z _O et 1 Z _C	2

Déterminer la configuration absolue du carbone 5 :

- On numérote les groupements 1, 2, 3 et 4,
- La séquence 1, 2, 3 tourne dans le sens inverse des aiguilles d'une montre mais en Fischer le H est devant donc la configuration absolue est R.

2.6. Représentation de Fischer du L-fructose : il suffit d'invertir le H et le OH du carbone 5 et de tous les autres carbones asymétriques (attention : cette affirmation a été vérifiée – voir schéma ci-dessous).

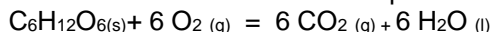


L'énantiomère naturel du fructose est de la série D.

3. Étude de réactions autour du sucre (5,5 points)

3.1. Combustion du glucose :

3.1.1. Réaction de combustion complète du glucose solide :



3.1.2. Variation d'enthalpie standard de combustion du glucose :

$$\begin{aligned} \Delta H^\circ_{\text{com}} &= 6\Delta H^\circ_f(\text{CO}_2(\text{g})) + 6\Delta H^\circ_f(\text{H}_2\text{O}(\text{l})) - \Delta H^\circ_f(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6(\text{s})) - 6\Delta H^\circ_f(\text{O}_2(\text{g})) \\ &= 6 \cdot (-393,5) + 6 \cdot (-285,8) - (-1268) - 0 = -2807,8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

3.1.3. Variation d'entropie standard de combustion du glucose :

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \cdot \Delta S^\circ \text{ d'où } \Delta S^\circ = (\Delta H^\circ - \Delta G^\circ) / T = (-2807,8 - (-2867,5)) / 298 = 0,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$$

3.2. Transformation du saccharose à 298 K

3.2.1. Enthalpie libre standard de cette réaction :

$$\Delta G^\circ_r = \Delta H^\circ_r - T \cdot \Delta S^\circ_r = -26,2 - 298 \cdot 4,66 \cdot 10^{-3} = -27,6 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

3.2.2. La réaction est spontanée dans le sens 1 car $\Delta G^\circ_r < 0$ (réaction exergonique)

3.2.3. Constante de cet équilibre (sens 1) :

$$\begin{aligned} \Delta G^\circ_r + RT \ln K &= 0 \text{ d'où } K = \exp(-\Delta G^\circ_r / RT) = \exp(27,6 \cdot 10^{-3} / (8,314 \cdot 298)) = 6,89 \cdot 10^4 \\ K &> 10^4 \text{ donc on peut considérer la réaction comme totale dans le sens 1} \end{aligned}$$

4. Dosage du sucre inverti par polarimétrie (4,5 points)

4.1. Une substance optiquement active est capable de faire tourner le plan de polarisation de la lumière polarisée.

4.2. Loi de Biot : $\alpha = [\alpha]_T \cdot l \cdot C_m$ avec :

α : angle de rotation en degrés ° à une température T

$[\alpha]_T$: pouvoir rotatoire spécifique en $^\circ \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{dm}^{-1}$

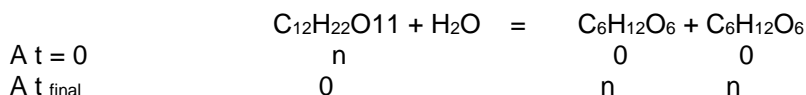
l : longueur du trajet optique en dm

C_m : concentration massique de la solution en $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

4.3 Le saccharose est dextrogyre car $[\alpha]_{\text{saccharose}} > 0$

4.4. Le « sucre inverti » a subi une inversion puisque la solution de saccharose est dextrogyre tandis que celle du sucre inverti est lévogyre.

4.5. Calcul des concentrations massiques en glucose et en fructose dans la solution de sucre inverti si l'hydrolyse est totale à t_{final} :



Donc, la concentration molaire en glucose est égale à la concentration molaire en fructose : $[\text{G}] = [\text{F}]$

Et comme les masses molaires du glucose et du fructose sont égales, on en déduit que les concentrations massiques du glucose et du fructose sont égales : $C_m = C_{mG} = C_{mF}$

D'après l'additivité de la loi de Biot :

$$\alpha_{\text{sucre inverti}} = \alpha_G + \alpha_F = [\alpha]_G \cdot l \cdot C_{mG} + [\alpha]_F \cdot l \cdot C_{mF} = l \cdot C_m \cdot ([\alpha]_G + [\alpha]_F)$$

$$C_m = \alpha_{\text{sucre inverti}} / (l \cdot ([\alpha]_G + [\alpha]_F)) = -9,5 / (52 - 92) = 0,24 \text{ kg}\cdot\text{L}^{-1}$$

5. Refroidissement du mix (2 points)

5.1. Quantité de chaleur nécessaire pour amener le mix de 20°C à son point de congélation (-1,9°C) :

$$Q_1 = m \cdot C_{\text{avant}} \cdot (T_f - T_i) = 700 \cdot 3,55 \cdot (-1,9 - 20) = - 5,44 \cdot 10^4 \text{ kJ}$$

5.2. Quantité de chaleur nécessaire pour changer d'état le mix :

$$Q_2 = m \cdot L = 700 \cdot (-280) = - 1,96 \cdot 10^5 \text{ kJ}$$

5.3. Quantité de chaleur pour amener le mix de la température de changement d'état (-1,9°C) à la température de stockage (-18°C) :

$$Q_3 = m \cdot C_{\text{après}} \cdot (T_f - T_i) = 700 \cdot 1,88 \cdot (-18 - (-1,9)) = - 2,12 \cdot 10^4 \text{ kJ}$$

5.4. Quantité de chaleur totale à retirer au mix par l'entreprise :

$$Q = Q_1 + Q_2 + Q_3 = - 5,44 \cdot 10^4 - 1,96 \cdot 10^5 - 2,12 \cdot 10^4 = - 2,72 \cdot 10^5 \text{ kJ}$$

Biochimie-Biologie 2009

BIOCHIMIE (36 pts)

1. LA FRACTION LIPIDIQUE

1.1. Formule de la phosphatidyl-choline

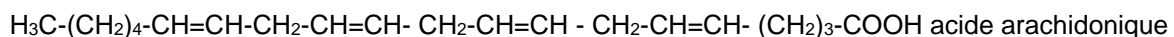
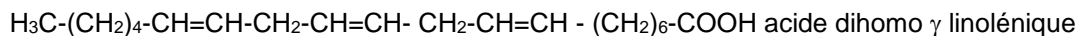
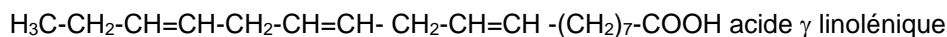
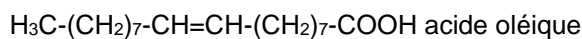
- glycérol / liaison ester / acides gras
- glycérol / liaison ester / acide phosphorique
- acide phosphorique / liaison ester / choline

Agent émulsifiant car c'est une molécule amphiphile :

- pôle fortement polaire (ammonium quaternaire et phosphate)
- pôle apolaire (chaînes alcane des acides gras)

1.2. Synthèse des acides gras polyinsaturés :

Le tableau est complété par les cinq formules d'acides gras (nombre de C position des doubles liaisons)



- départ de deux H⁺ et 2 e⁻ pour trois réactions, apport de deux C pour une réaction.

Acides gras indispensables : acides gras non synthétisés par l'homme, nécessaires à son métabolisme (constituants de molécules structurales et fonctionnelles), qui doivent être apportés par l'alimentation

2. LA FRACTION PROTIDIQUE

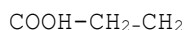
2.1.

Peptidases, protéases

2.2. Formule développée du peptide

Gly-Glu-Sér

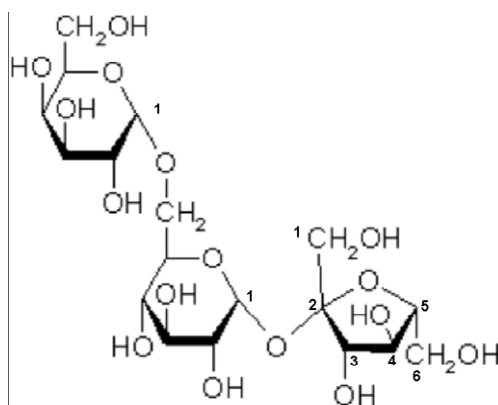
Veillez à l'orientation correcte N terminale – C terminale, à la liaison peptidique.



3. ÉLIMINATION DE PRODUITS INDÉSIRABLES

3.1. Réaction de dégradation

La formule du Raffinose est la suivante :



Les produits d'hydrolyse du raffinose par une α -galactosidase sont le galactose et le saccharose.

Attention, dans la formule représentée, le fructose est inversé par rapport à l'habitude, le C1 étant à gauche.

3.2. Étude de l' α -galactosidase

3.2.1. Principe

Doser une enzyme consiste à déterminer la vitesse de transformation du substrat dans des conditions définies (température, pH, concentrations des réactifs – en particulier concentration du substrat « saturante » par rapport à l'enzyme $cs > 10 K_m$, ...), cela revient donc à déterminer une variation de concentration en substrat disparu ou en produit formé en fonction du temps. Ici, on utilise la coloration jaune du produit libéré (ONP ou 2-nitrophénol). L'absorbance étant proportionnelle à la concentration de l'espèce chimique qui absorbe, il suffit donc de mesurer la variation d'absorbance en fonction du temps. Ici on utilise une méthode cinétique (= mesure en continu du signal proportionnel à la concentration) par opposition aux techniques deux points (= mesure du signal à deux dates différentes entre lesquelles on admet une vitesse constante).

3.2.2. Incubation 30°C en tampon

La vitesse d'une réaction dépend de la température (Arrhenius) et du pH. Le tampon permet de maintenir le pH constant tout le temps de la mesure et l'incubation permet d'amener les réactifs à la température de mesure avant de déclencher la réaction (date 0). Il faudra que cette température (30°C) soit maintenue constante tout le temps de la mesure (cuve thermostatée obligatoire).

3.2.3. Détermination graphique de $\Delta A/\Delta t$

$$\text{pente} = \frac{\Delta A}{\Delta t} = \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} = \frac{0,327 - 0,300}{5 - 1} = 0,0818 \hat{=} \text{min}^{-1} = 0,00136 \hat{=} \text{S}^{-1}$$

3.2.4. Calcul de k :

La concentration catalytique en enzyme est la valeur de son activité dans l'extrait. L'activité est mesurée par la valeur de la vitesse initiale (maximum) de réaction dans la cuve.

$$A = \varepsilon.l.C$$

$$\Delta A / \Delta t = \varepsilon.l.\Delta C / \Delta t$$

$$v_i = \Delta C / \text{min} = \frac{\Delta A / \text{min}}{\varepsilon.l} = V_{\text{max}} \quad \text{si conditions réunies}$$

La concentration d'activité catalytique se rapporte à l'extrait d'enzyme qui a été dilué dans le mélange réactionnel, il faut donc tenir compte de cette dilution :

$$catc = \frac{\Delta A / \text{min}}{\varepsilon \cdot l} \times \frac{V_{réact}}{V_{enz}}$$

reste maintenant à tenir compte de la cohérence des unités !

$$catc_{U/L, \mu mol \cdot L^{-1} \cdot \text{min}^{-1}} = \frac{1}{\varepsilon_{m^2 \cdot mol^{-1}} \cdot l_m} \times \frac{V_{réact}}{V_{enz}} \times 10^6_{mol \rightarrow \mu mol} \times 10^{-3}_{m^3 \rightarrow L} \times \Delta A / \text{min} \quad \text{d'où} \quad k = \frac{1}{\varepsilon \cdot l} \times \frac{V_{réact}}{V_{enz}} \times 10^3$$

$$k = \frac{1}{1800 \times 0,01} \times \frac{2,5}{0,02} \times 10^3 = 6944 \mu mol \cdot L^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$$

3.2.5. Calcul de la concentration catalytique cat c en U.L⁻¹

$$C_{kat} = \frac{\Delta A}{\Delta t} \cdot k = 0,00136 \hat{E} s^{-1} \cdot 6,94 \hat{E} 10^{-3} \hat{E} mol \cdot L^{-1} = 0,0094 \hat{E} mmol \cdot L^{-1} \cdot s^{-1} = 9,4 \hat{E} \mu mol \cdot L^{-1} \cdot s^{-1} = 9,4 \hat{E} \mu kat \cdot L^{-1}$$

$$1 \hat{E} U \cdot L^{-1} = 60 \hat{E} \mu kat \cdot L^{-1} \text{ Donc } C_{catc} = 566 \hat{E} U \cdot L^{-1}$$

ou

$$C_{kat} = \frac{\Delta A}{\Delta t} \cdot k = 0,0816 \hat{E} \text{min}^{-1} \cdot 6,94 \hat{E} 10^{-3} \hat{E} mol \cdot L^{-1} = 566 \cdot 10^{-6} \hat{E} mol \cdot L^{-1} \cdot \text{min}^{-1} = 566 \hat{E} \mu mol \cdot L^{-1} \cdot \text{min}^{-1} = 566 \hat{E} U \cdot L^{-1}$$

Rappel : l'unité internationale de l'activité d'un enzyme est le Katal de dimension mol.s⁻¹. L'U (unité internationale) utilisée ici n'est pas une unité SI et sa dimension est la μmol.min⁻¹.

3.2.6. Calcul de l'activité dans la solution d'extrait

Il s'agit du calcul de l'activité spécifique notée Z_{sp}.

$$Z_{sp} = Z / q_{m \text{ protéines}} \quad \text{ou encore } Z_{sp} = catc / \rho_{protéines}$$

d'où

$$Z_{sp} = 10 \cdot 10^{-3} L \times 566 U \cdot L^{-1} / 1,45 \cdot 10^{-3} g = 3900 U \cdot g^{-1} = 3,9 kU \cdot g^{-1} \text{ (ou } 65 \mu kat \cdot g^{-1})$$

TOXICOLOGIE (20 pts)

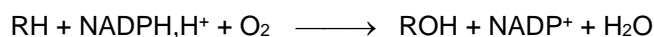
1. LA PHASE TOXICOCINÉTIQUE

Les glucuroconjugés se forment par métabolisation dans le foie ; il y a liaison de type hémiacétalique avec le xénobiotique (fonction alcool) Le composé formé est plus hydrophile, ce qui facilite son excrétion.

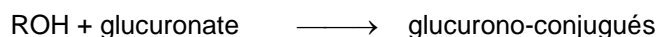
ou de façon plus détaillée :

Les phytoestrogènes sont absorbés au niveau de l'intestin et remonte au foie en utilisant la veine porte. Au niveau du foie, ils subissent la détoxification appelée voie microsomiale qui comprend deux phases :

La phase I d'activation qui utilise une chaîne d'accepteurs d'électrons dont le cytochrome P450. Si RH représente le xénobiotique, le bilan peut s'écrire ainsi :



La phase II de conjugaison



Les glucurono-conjugés obtenus sont hydrosolubles et peuvent être excrétés soit par voie urinaire soit par voie biliaire .

2- LA NOAEL

No observable adverse effect level ou dose sans effet : c'est la dose maximale n'entraînant aucun effet détectable sur l'animal.

À partir de la dose sans effet sur animal, on détermine la dose journalière tolérable pour l'homme (dose qu'il peut ingérer quotidiennement durant toute sa vie) en faisant intervenir un facteur 10 pour les variations entre espèces puis un facteur 10 pour les variations interindividuelles : NOAEL = 120 mg/kg/jour Limite acceptable = 1 mg/kg/jour. Pour des molécules particulièrement toxiques on peut encore faire intervenir un facteur 10 ou 100.

3. DÉFINITIONS

Génotoxicité : capacité d'une substance à induire des effets toxiques par action directe sur le génome.

Cancérogénicité : capacité d'une substance à induire la transformation de cellules normales en cellules malignes immortelles n'obéissant plus aux facteurs de régulation tissulaire et capables d'aller coloniser d'autres tissus. Une substance cancérogène peut agir par augmentation de la fréquence d'apparition des tumeurs, par le développement de nouvelles tumeurs, par l'apparition plus précoce de nouvelles tumeurs.

4. UTILISATION PAR LES NOURRISSONS

Pour un litre de lait de soja, pour un bébé de 5 kg (masse corporelle)

Consommation = concentration x consommation quotidienne / masse corporelle

Consommation = $40 \times 1 / 5 = 8 \text{ mg/kg/jour}$

Consommation quotidienne 8 fois supérieure à celle retenue comme limite acceptable pour l'adulte.

5. AUTRES SUBSTANCES INDÉSIRABLES

- anti-nutriments
- inhibiteur de la trypsine : il empêche la digestion des protéines dans le tube digestif par la trypsine pancréatique.
- l'acide phytique est un antiminéralisant qui capte le calcium et empêche son absorption.

MICROBIOLOGIE (40 points)

1. ÉTAPE 1 : FABRICATION DU KOJI

1.1.1.

- Champignon microscopique : Organisme eucaryote unicellulaire (levure) ou pluricellulaire (moisissure), possédant une paroi, sans capacité photosynthétique.
- Moisissure : Champignon filamenteux.
- Septomycète : Champignon présentant un mycélium septé.

1.1.2. Mucor n'est pas un septomycète.

1.2. Schéma légendé d'une tête aspergillaire avec le conidiophore, la vésicule (en goupillon), les phialides, les conidies.

1.3. Conidie (spore asexuée) → germe et donne un filament mycélium → le filament se ramifie et produit des fructifications → la fructification génère des conidies

1.4. Les glucides pour *Aspergillus* constituent une source de carbone et d'énergie ; ils sont dégradés par la glycolyse puis le cycle de Krebs.

1.5. Les protéases sécrétées par les moisissures hydrolysent les protéines en acides aminés qui servent ensuite de source d'azote, de carbone, d'énergie, de facteurs de croissance, etc...

2. ÉTAPE 2 : FABRICATION DU MOROMI

2.1.

- la levure est un champignon microscopique c'est donc une cellule eucaryote, son noyau est entouré d'une membrane (enveloppe) nucléaire (vrai noyau), elle possède de nombreux organites comme des mitochondries, du réticulum endoplasmique (RE)...
- la bactérie est un procaryote, c'est à dire que son ADN est libre dans le cytoplasme et son organisation cellulaire est plus simple (absence de mitochondries et de RE par exemple)

2.2. Microorganismes acidophiles (car cultivent à pH acide (5,5)) et mésophiles (car poussent à 28°C).

2.3.1. Un conservateur alimentaire est un additif incorporé à un aliment dans le but de limiter la croissance des microorganismes (effet bactériostatique) en particulier les flores pathogènes et d'altération, sans toxicité pour le consommateur aux doses consommées.

2.3.2. NaCl 18% crée une pression osmotique élevée qui entraîne une sortie importante d'eau dans le milieu ; le solvant est moins disponible (A_w diminue) et les réactions biochimiques perturbées ; l'effet produit est un arrêt de la croissance microbienne.

2.3.3. Microorganismes halophiles ou halotolérants (ou xérophiles).

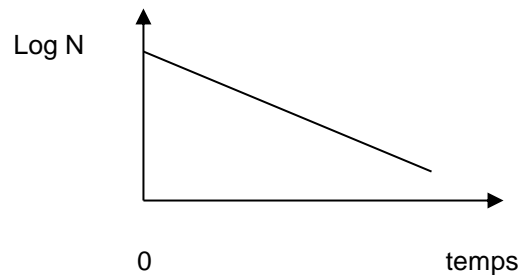
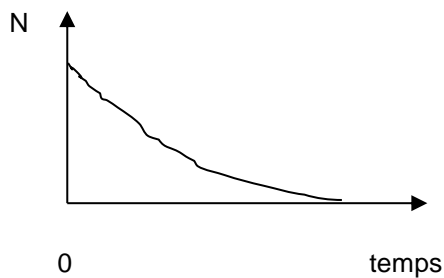
.2.3.4. La saumure n'est ajoutée qu'après la formation du koji par *Aspergillus* ; il est probable qu'*Aspergillus* ne soit pas capable de cultiver sous NaCl 18%.

2.4. Le pH diminue car les levures et les bactéries transforment les glucides du soja en acide lactique au cours de la fermentation homolactique. La production de CO₂ au cours de la fermentation éthanolique contribue également (dans une moindre mesure) à la baisse du pH.

- - Glucose + 2 ADP + 2 Pi → 2 Acide-lactique + 2 ATP
- - Glucose + 2 ADP + 2 Pi → 2 Éthanol + 2CO₂ + 2 ATP

3. ÉTAPE 3 : FABRICATION DE LA SAUCE DE SOJA

3.1. Pour une température donnée, la courbe N=f(t) est une exponentielle décroissante. La courbe Log(N)=f(t) est donc une droite décroissante.



3.2. La pasteurisation élimine toutes les formes végétatives mais pas les formes de résistances comme les endospores ; ici les trois ferments utilisés (*Aspergillus*, *Zygosaccharomyces orizae*, *Pediococcus halophilus*) sont des microorganismes sous forme végétative ne produisant pas de spore de résistance, donc ils sont tous éliminés au moment de la pasteurisation. Le taux de destruction dépendra de la température et de la durée du traitement (importance du « couple temps (durée)-température »).

3.3. La sauce soja présente des conditions physicochimiques (pH bas, NaCl 18%) défavorables à la croissance de la plupart des microorganismes.

4. FERMENTATION INDUSTRIELLE

4.1. Un batch est une culture en discontinu, réalisées à volume constant, sans renouvellement du milieu.

4.2.

- Une culture continue est réalisée à volume constant avec renouvellement continu du milieu et élimination concomitante des déchets ; si les conditions sont bien réalisées la phase exponentielle est prolongée tout au long de la production. La culture continue présente donc un intéressant rendement, bien qu'elle soit délicate à mettre au point, sujette aux contaminations et qu'elle présente un risque de dérive génétique du(des) ferment(s).
- Le batch est aisé à mettre au point mais l'appauvrissement rapide du milieu limite grandement la phase exponentielle qui est rapidement suivie d'une phase stationnaire ; les temps de maintenance (nettoyage, stérilisation) intermédiaire abaissent considérablement le rendement.

4.3. Une culture continue est plutôt intéressante dans le cas de la production de biomasse, ou d'un métabolite. Ici il s'agit d'une transformation du milieu de culture lui-même : la culture continue n'est pas intéressante car elle diluerait sans cesse le milieu fermenté par du milieu neuf, et on n'aboutirait jamais à un produit fini totalement transformé.

Sciences appliquées 2009

PREMIÈRE PARTIE : GÉNIE INDUSTRIEL

1 – Préparation des graines (5 points)

1.1. Élimination des corps étrangers (sable, pierres etc.) et des graines indésirables (endommagées, germées etc...).

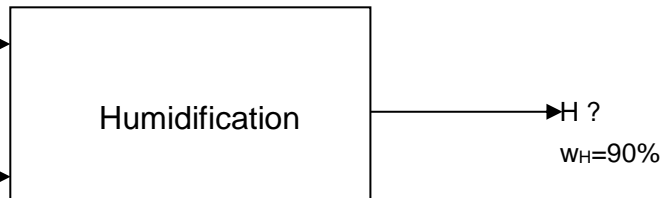
1.2.

$G = 1 \text{ kg}$

$w_G = 91.5\%$

$E ?$

$w_E = 0\%$



Bilan matière global: $G + E = H$

Bilan en extrait sec: $G.w_G + E.w_E = H.w_H$

$$H = \frac{G.w_G}{w_H} = \frac{1 * 91.5}{90} = 1.0167 \text{ kg}$$

$$E = H - G = 16.7 \text{ g}$$

2 – Broyage (5 POINTS)

2.1. 1 Alimentation

2 Arbre

3 Cylindre

4 Broyat

2.2.- C'est un broyeur à cylindres

2.3. Le broyeur est composé de deux cylindres horizontaux, d'axes parallèles qui tournent en sens inverse avec des vitesses de rotation légèrement différentes. La matière est broyée entre les deux cylindres par écrasement et cisaillement. L'espace entre les deux cylindres règle la finesse du broyat.

3 – Séparation du tonyu (phase liquide) et de l'Okara (phase solide) par centrifugation (20 points)

3.1. Débit d'alimentation maximal permettant d'effectuer correctement la séparation.

3.2. Facteurs influençant v_s : le diamètre des particules, la viscosité de la solution dispersante etc.

Facteurs influençant l'aire équivalente : la surface de cloisonnement, la vitesse angulaire, etc.

$$3.3. \quad v_s = \frac{(3.10^{-5})^2 \cdot (1028 - 1010) \cdot 9,81}{18 \cdot 4,10^{-3}} = 3,7 \cdot 10^{-6} \text{ m.s}^{-1}$$

3.4.

$$3.4.1. \quad \omega = \frac{1100 \cdot 2\pi}{60} = 115 \text{ rad.s}^{-1}$$

$$3.4.2. \quad Ae = \frac{115^2 \cdot 2\pi \cdot 50 \cdot \tan(45) \cdot (0,15^3 - 0,05^3)}{3 \cdot 81} = 459 \text{ m}^2$$

3.5. $Q_{lim} = v_s \cdot Ae$

$$AN: \quad Q_{lim} = 3,7 \cdot 10^{-6} \cdot 459 = 1,7 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} = 6120 \text{ L.h}^{-1}$$

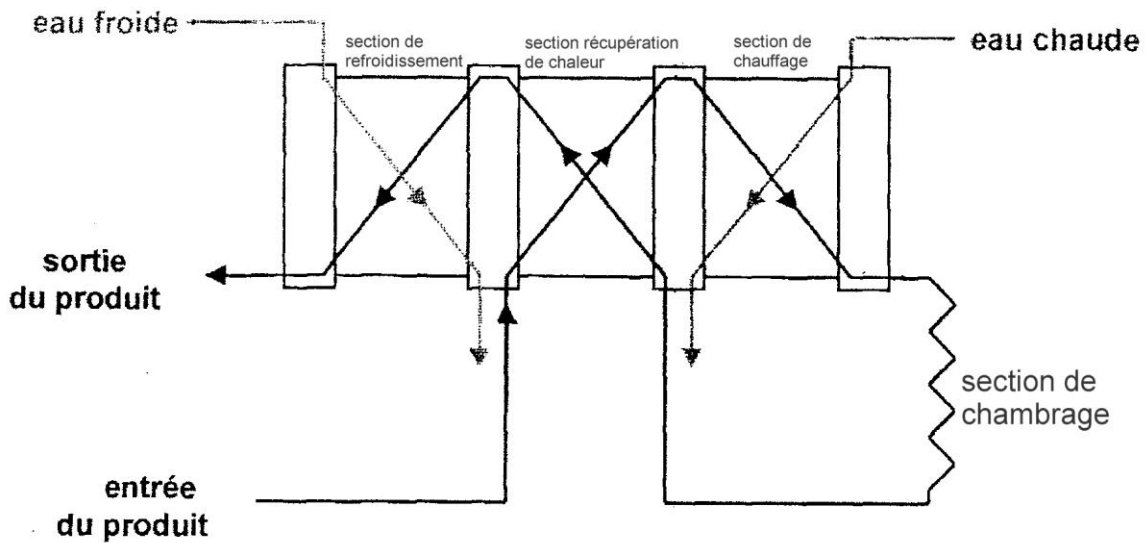
- 3.6 . 1 Alimentation
- 2 Assiette
- 3 Turbine
- 4 Phase liquide
- 5 Piston
- 6 Phase solide, débouillage

4 – Traitement thermique du tonyu (20 points)

4.1. Pasteurisation : traitement par la chaleur ayant pour but de détruire la flore végétative pathogène et de réduire significativement la flore banale.

Valeur pasteurisatrice : durée équivalente au traitement rapportée à la température de référence de 70°C. (La température de référence est supposée constante et peut varier en fonction des produits)

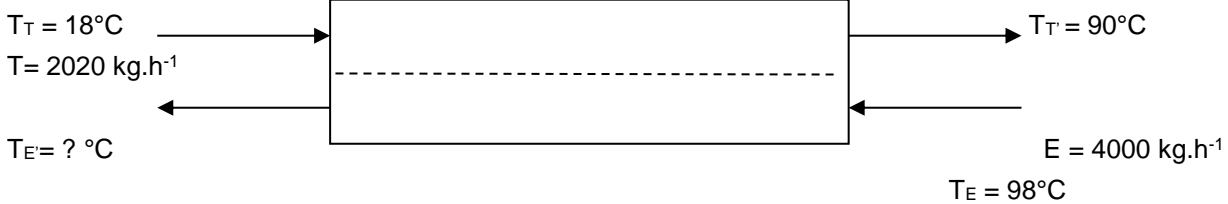
4.2.



- Section de récupération de chaleur : permet le préchauffage et le prérefroidissement du produit (échangeur produit froid / produit chambré).
- Section de chauffage : permet d'atteindre la température du barème (échangeur fluide caloporteur / produit préchauffé).
- Section de chambrage : permet de maintenir le produit à la température du barème.
- Section de refroidissement : permet de refroidir le produit (échangeur fluide de refroidissement / produit prérefroidi)

4.3.

4.3.1.



$T = 2000 \cdot 1.01 = 2020 \text{ kg.h}^{-1}$
 $P = T \cdot C_p T \cdot (T_T - T_T)$
 AN: $P = 2020 \cdot 3,96 \cdot (90-18) = 575\,942 \text{ kJ.h}^{-1}$ soit 160 kW

4.3.2. Puissance fournie = Puissance reçue

$$E \cdot C_p E \cdot (T_E - T_{E'}) = P$$

$$T_{E'} = T_E - \frac{P}{E \cdot C_p E}$$


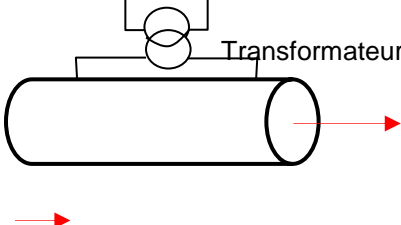
AN: $T_{E'} = 98 - \frac{575942}{4,18 \cdot 4000} = 63.6^\circ\text{C}$

4.3.3.

$$A = \frac{P}{U \cdot \Delta T_m} \text{ avec } \Delta T_m = \frac{(63,6 - 18) - (98 - 90)}{\ln\left(\frac{63,6 - 18}{98 - 90}\right)} = 21,6^\circ\text{C}$$

$$A = \frac{160000}{1800 \times 21,6} = 4,1 \text{ m}^2$$

4.4.

	Échangeur tubulaire	Tubes à passage de courant
Principe	 <p>Circuit de tubes concentriques: le fluide à traiter et le fluide auxiliaire (caloporteur ou réfrigérant) circulent dans les deux tubes concentriques. L'un occupe l'espace central et l'autre le canal annulaire.</p>	 <p>Série de tubes dans lesquels le produit à traiter circule. Soumis à une basse tension, le tube s'échauffe par effet joule et la chaleur est transmise au produit.</p>
Avantages / Inconvénients	<p>A: Utilisation de forts débits, récupération de chaleur possible, peu cher etc.</p> <p>I: Moins bon coefficient de transfert de chaleur.</p>	<p>A: Fort coefficient de transfert de chaleur, montée en température strictement linéaire, régulation de température très précise, encrassement limité etc</p> <p>I: coût plus élevé</p>

DEUXIÈME PARTIE : SCIENCES DES ALIMENTS

1. Du lait aux yaourts

1.1.

Définition du lait : Le mot **lait** sans indication d'espèce désigne en France le lait de vache ; il est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée ; il doit être recueilli correctement et ne pas contenir de **colostrum** (premier produit de sécrétion après la parturition).

Définition du yaourt : produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre, écrémés ou non, enrichis ou non de constituants du lait, ayant subi un traitement thermique au moins égal à la pasteurisation,ensemencés au moyen des seuls *Lactobacillus bulgaricus* (*Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus*) et *Streptococcus thermophilus* (*Streptococcus salivarius subsp thermophilus*).

Ces bactéries doivent se retrouver vivantes à la concentration de $10^7/g$ et la teneur en acide lactique $\geq 0,7 \%$ à la vente du yaourt.

1.2.

1.2.1. Trois phases sont présentes dans le lait :

- une phase aqueuse, le **lactosérum**,
- deux phases particulaires, composées respectivement :
 - de **globules de matière grasse** (98% de triacylglycérol)
 - de **micelles de caséines** (dont 92% de la matière sèche est constituée de protéines et le reste de minéraux principalement).

1.2.2. On peut citer les caséines (α_{S1} , α_{S2} , β et κ) ou des protéines du lactosérum comme la β -lactoglobuline, l' α lactalbumine, la sérumalbumine, les immunoglobulines, les protéoses-peptones ou des enzymes comme la PAL.

1.3.

On peut citer l'étape de pasteurisation et celle de fermentation

La pasteurisation entraîne la destruction des formes végétatives des microorganismes.

Lors de la fermentation, le développement microbien produit de l'acide lactique et la diminution du pH à une valeur \leq au pHi des caséines. Les micelles de caséines ne pouvant plus se repousser s'agglutinent : c'est la coagulation du yaourt.

On peut également citer la standardisation du lait qui ajuste la teneur en protéines et en matière grasse.

1.4.

1.4.1. Il s'agit de l'intolérance au lactose.

1.4.2. Il s'agit d'un déficit en lactase intestinale qui empêche l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose absorbables par la muqueuse intestinale. Le lactose s'accumule et crée un flux osmotique engendrant des troubles intestinaux.

1.4.3. Dans le yaourt une certaine quantité de lactose a été hydrolysé par les bactéries et transformé en acide lactique. Le yaourt contient environ 8 g/L d'acide lactique ce qui correspond approximativement à 16 g/L de lactose transformé. Or le lait contient en moyenne 50 g/L de lactose, il en reste donc 34 g/L soit 68 %. L'intolérance au lactose sera donc moins importante.

2. Desserts lactés

2.1.

Un dessert lacté a subi un traitement thermique, souvent une stérilisation, avant la commercialisation alors que c'est interdit pour le yaourt qui doit contenir des ferments lactiques vivants.

Dans un dessert lacté, la texture est donnée par des agents texturants : amidons modifiés ou non, additifs épaississants ou gélifiants, gélatine ou protéines laitières.

2.2.

2.2.1. Un yaourt est un produit stabilisé par l'acidité et la présence de germes vivants.

2.2.2. Les procédés que l'on utilise sont :

- Un traitement thermique au moins égale à une pasteurisation
- L'ajout d'additifs conservateurs

2.2.3. Le yaourt doit rester un produit « vivant » contenant 10^7 bactéries/g ; aucun de ces traitements ne peut donc être utilisé.

3. Desserts au soja

3.1. On peut citer : pouvoir hydratant, pouvoir gélifiant, propriétés émulsifiantes, foisonnantes, pouvoir de rétention d'arômes...

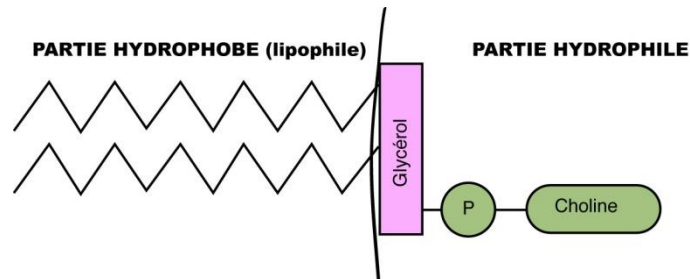
3.2. Le soja est une légumineuse. Il est riche en protéines (> 20 %), pauvre en matières grasses et les acides gras présents sont plutôt polyinsaturés, riche en amidon. Il faut noter la présence de facteurs antinutritionnels : inhibiteurs de trypsine, lectines, présence de glycosides indigestibles et dégradés par la flore colique d'où flatulences...

3.3. Les qualités organoleptiques du soja sont généralement peu appréciées. L'aromatisation facilite sa consommation.

3.4.

3.4.1. Définition : un additif alimentaire est toute substance habituellement non consommée comme aliment en soi, habituellement non utilisée comme ingrédient caractéristique dans l'alimentation, possédant ou non une valeur nutritive et dont l'adjonction intentionnelle aux denrées alimentaires, dans un but technologique, au stade de leur fabrication, transformation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage, a pour effet, ou peut raisonnablement être estimée avoir pour effet, qu'elle devient elle-même ou que ses dérivés deviennent, directement ou indirectement, un composant de ces denrées alimentaires.

3.4.2. Il s'agit de la lécithine. C'est une molécule amphiphile au pouvoir émulsifiant très marqué.



3.4.3. Un auxiliaire de fabrication n'est plus présent dans le produit final et l'on n'attend de la lécithine qu'elle stabilise l'émulsion du produit alimentaire donc qu'elle soit toujours présente dans le produit fini.

3.5. Le produit chocolaté est beaucoup plus sucré ($19 \gg 2$) et moins riche en protéines ($3,4 < 4,6$).

L'apport de sucre et de chocolat en poudre a diminué la proportion en tonyu et donc en protéines. Elle a bien sûr accru la teneur en glucides.

3.6. On peut citer les emplois suivants :

- Fabrication d'huile de soja ayant un ratio $\omega 6/\omega 3$ favorable.
- Fabrication de compléments alimentaires pour lutter contre les effets de la ménopause. (phytoœstrogènes).
- Consommation de pousses de soja.
- Utilisation de tourteaux de soja pour l'alimentation animale.
- Production de farine de soja et de concentrés protéiques, incorporés dans l'alimentation humaine.

4. Étiquetage

4.1. Le produit doit être conservé à la température de réfrigération. Il n'a donc pas été stérilisé et conditionné aseptiquement.

4.2. C'est une DLUO qui est proposée (date limite d'utilisation optimale) c'est à dire la date au-delà de laquelle les qualités organoleptiques et nutritionnelles ne sont plus garanties.

Si le produit doit être conservé au froid il doit plutôt s'agir d'une DLC (date limite de consommation) c'est à dire la date au delà de laquelle les qualités sanitaires ne sont plus garanties et sa vente constitue une infraction.

Étude de cas 2009

1^{ère} partie : Démarche qualité

1.1. L'entreprise

1.1.1. Caractérisation succincte des référentiels et/ ou normes dont la certification pourrait se révéler utile à l'entreprise :

Référentiel	Commentaires
Norme ISO 9001	Norme internationale qui traite des exigences concernant le système de management de qualité de toute entreprise quelle qu'elle soit Bien insister en cours sur le fait qu'elle comporte uniquement des exigences de résultats et que la démarche d'adhésion est volontaire.
Norme ISO 22000	Norme internationale qui spécifie les exigences de résultats concernant les systèmes de management de la sécurité des denrées alimentaires à tous les niveaux de la chaîne alimentaire. Démarche d'adhésion volontaire.
Normes IFS et BRC	Elles concernent le management de la sécurité alimentaire des produits. Il s'agit de référentiels d'audit des fournisseurs de MDD (marques de distributeurs anglaises (BRC) et européennes (marchés allemand, français et italien pour l'IFS). Ces référentiels comportent des exigences de résultats et de moyens à mettre en œuvre. Démarche d'application obligatoire (si imposée par MDD) ou volontaire.

1.1.2. Choix paraissant le plus judicieux pour l'entreprise :

- L'entreprise est présente avant tout sur le marché français où elle travaille avec certaines MDD françaises qui peuvent exiger d'elle l'application d'un **référentiel d'audit tel l'IFS** spécifiquement développé dans ce cadre (audits fournisseurs). Son application pourra donc devenir dans un avenir proche absolument nécessaire pour poursuivre son activité.
- La **norme ISO 22000**, norme internationale reconnue par les organismes officiels, est appliquée à l'ensemble des acteurs de la filière et assure la sécurité sanitaire. Son application est donc pertinente.
- La **norme ISO 9001**, ne concerne pas à proprement parler la sécurité des aliments, mais pourrait éventuellement aider l'entreprise dans son souci d'amélioration en matière de qualité interne de fonctionnement.

Remarque : Le BRC concerne le marché britannique des MDD sur lequel l'entreprise n'est pas présente, aussi ce référentiel n'est pour l'instant pas intéressant pour cette entreprise.

1.1.3. Caractéristiques des organismes auxquels l'entreprise pourra s'adresser afin d'obtenir de l'aide quant à la mise en place du référentiel choisi et de l'obtention de la certification :

L'entreprise doit s'adresser à des organismes de certification dont la compétence est reconnue, c'est-à-dire accrédités par le COFRAC (comité français d'accréditation) pour la réalisation d'audits vis-à-vis du référentiel choisi.

Exemples d'organismes de certification : AFAQ, Ecocert, Veritas...

Ces organismes proposent également une aide à la préparation de la certification.

1.2. Les produits

1.2.1. AOC : Appellation d'origine contrôlée

Spécificités associées au sigle AOC :

- Identification d'un produit qui tire son authenticité et sa typicité de son origine géographique,
- Garantie d'un lien étroit entre produit et terroir, c'est à dire une zone géographique bien circonscrite avec ses caractéristiques géologiques, agronomiques, climatiques.....et des disciplines particulières que se sont imposées les hommes pour tirer le meilleur parti de celles-ci
- Garantie d'une notoriété.

1.2.2. Certification de conformité

La certification de conformité atteste qu'une denrée alimentaire ou qu'un produit agricole non-alimentaire et non-transformé est **conforme à des caractéristiques spécifiques reconnues** consignées dans un cahier des charges

validé ou dans des normes. Elle permet d'apporter au consommateur des garanties sur certaines caractéristiques du produit grâce à la certification par un organisme certificateur indépendant.

Elle ne correspond en aucun cas à un niveau de qualité supérieure du produit.

Rappel de la définition (non demandée dans le sujet) : « La certification de conformité atteste qu'une denrée alimentaire ou qu'un produit agricole non-alimentaire et non-transformé est conforme à des caractéristiques spécifiques ou à des règles préalablement fixées dans un cahier des charges portant, selon le cas, sur la production, la transformation ou le conditionnement et, le cas échéant, l'origine géographique de la denrée ou du produit lorsque cette origine est enregistrée comme indication géographique protégée » (Lamy Dehove Novembre 2005).

1.2.3. Lien avec le terroir :

la certification de conformité n'apporte aucune information concernant un lien quelconque du produit avec le terroir, dont il est issu. Le moyen dont dispose l'entreprise pour faire référence au terroir et qui est compatible avec la certification de conformité serait de faire enregistrer ses produits disposant de la certification comme **IGP (Indication Géographique Protégée)**.

1.3. Le cadre législatif

1.3.1. Obligations rappelées dans le règlement 2073 / 2005 s'imposant aux exploitants du secteur alimentaire et leurs conséquences :

Critères généraux :

§ 3 : « Les exploitants du secteur alimentaire sont tenus de retirer du marché des denrées alimentaires dangereuses », ce qui suppose d'effectuer des contrôles et de mettre en œuvre un système permettant d'éviter l'apparition d'un risque. (système basé sur les principes de l'HACCP et les GBPH : guides de bonnes pratiques d'hygiène).

§ 6 « Les exploitants du secteur alimentaire doivent respecter les critères microbiologiques ». Pour ceci, ils sont tenus de prendre des mesures d'application concernant les méthodes d'analyse (incertitude, plan d'échantillonnage, limites microbiologiques). Ils doivent également « prendre des mesures d'application concernant les denrées alimentaires et les points de la chaîne alimentaire auxquels s'appliquent ces critères, ainsi que les actions à engager en cas de non respect des critères. Parmi les mesures que doivent prendre les exploitants du secteur alimentaire pour assurer le respect des critères déterminant l'acceptabilité d'un procédé figurent, entre autres, les contrôles des matières premières, de l'hygiène, de la température et de la conservation du produit. »

Fréquence et modalités des contrôles :

§ 21 : « Le producteur ou le fabricant d'un produit alimentaire doit décider si l'on peut consommer ce produit tel quel, sans devoir le cuire ou le soumettre à un traitement pour en assurer la sécurité ainsi que le respect des critères microbiologiques. » Si la consommation telle quelles n'est pas possible, il faut faire figurer les modalités d'usage du produit et il faut en tenir compte dans la fréquence des contrôles microbiologiques effectués.

§ 23 « La fréquence des contrôles par échantillonnage concernant les produits, leur environnement et les procédures d'hygiène est laissée à la discrétion de l'exploitant (sauf cas particulier cf Annexe 1 du présent règlement- Article 4).

Les méthodes d'analyse :

§ 24 : « Chaque critère microbiologique doit être associé à une méthode de référence ou donnant des résultats comparables validées. » Les contrôles doivent être faits selon les plans d'échantillonnage adaptés aux critères microbiologiques.

L'analyse des résultats :

§ 25 : Les résultats doivent être analysés et leur évolution suivie et utilisée pour la prévention et éviter toute perte de maîtrise du procédé ;

1.3.2. Exigences auxquelles doit répondre cette PME dans le cadre de cette nouvelle réglementation :

- **Exigences du paquet hygiène dont le respect est obligatoire** pour cette entreprise du secteur agroalimentaire comme pour toutes les entreprises du domaine alimentaire (cf §(6) de l'annexe 01).
- **Exigences de la filière lait** dont les produits sont des **vecteurs potentiels pour certains microorganismes ou leurs toxines**, connus pour contaminer ces aliments (ex : *Listeria monocytogenes*, *E coli* vérotoxigène, staphylocoques, *Salmonella* : cf § (14), (15) et (16) de l'annexe 1) et présenter un **risque non acceptable pour la santé du consommateur**.

1.3.3. Tableau présentant l'étude comparative des critères et les références du texte normatif :

Produit	Critère recherché	Référence
Tome fraîche de l'Aubrac, Aubrac et Laguioles	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella</i> Entérotoxine staphylococcique Staphylocoque coagulase +	Annexe 1, Chap 1,1.3 Annexe 1, Chap 1,1.11 Annexe 1, Chap 1,1.12 Annexe 1, Chap 2,2.2.3
Crème fraîche pasteurisée	<i>Enterobacteriaceae</i>	Annexe 2, Chap 2,2.2.1
Aligot, Retortillat et Truffade	<i>Listeria monocytogenes</i>	Annexe 1, Chap 1,12

1.3.4. Modalités des contrôles du plan d'échantillonnage effectués sur l'aligot :

L'aligot est un **plat cuisiné** fabriqué à base de **lait cru entier**, il est donc susceptible de permettre le développement de ***Listeria monocytogenes*** (bactérie pathogène ubiquitaire, résistante et capable de cultiver encore à des températures faibles). Cette bactérie sera donc recherchée selon un plan d'échantillonnage dont les paramètres sont donnés dans l'annexe 1, chap 1,1.2 du règlement.

Le plan d'échantillonnage comprend les données suivantes :

- l'échantillon comporte « n » = 5 produits prélevés,,
- les limites pour chaque produit prélevé concernant la population bactérienne « m » et « M ». Ici « m » = « M », « m » = « M » = 100 ufc /g avant la mise sur le marché et le fabricant doit assurer la qualité microbiologique de ses produits jusqu'à leur date limite de consommation en effectuant des tests microbiologiques et vérifiant que le seuil de « m » = « M » = absence dans 25 g ne sera pas dépassé à la DLC.
le paramètre « c » = 0, ce qui signifie qu'aucun produit de l'échantillon ne doit dépasser la valeur « m » pour que le lot soit jugé de qualité satisfaisante.

Remarque : Les normes de référence qu'il est recommandé d'utiliser pour mener à bien les analyses sont EN / ISO 11290-1 et EN / ISO 11290-2. Mais d'après le §5 de l'article 5, d'autres méthodes peuvent être employées si elles ont été au préalable validées par rapport à la méthode de référence.

2^{ème} partie : Gestion des fournisseurs

2.1. Suivi des non conformités

2.1.1. Démarche générale de gestion des non conformités et documents indispensables à leur suivi :

Étape	Commentaire	Documents
Identification de la non-conformité	- Marquage du produit si la non-conformité affecte le produit et stockage à part de ce produit - Ouverture d'un rapport (ou d'une fiche de non-conformité)	- Étiquetage - Fiche d'enregistrement de la non-conformité
Traitement à court terme du produit Traitement de l'anomalie	- Éventuellement nouveau contrôle - Action corrective immédiate (reprise, réparation, dérogation, reclassement, rebut...) - Contact du fournisseur ou du client en fonction de la non-conformité	- Fiches d'enregistrement des actions
Suivi de la non-conformité	- Analyse des causes de la non-conformité - Mise en place d'actions correctives et / ou préventives	- Fiche d'enregistrement des actions
Clôture	- Vérification de la mise en place des actions correctives et de leur efficacité	- Fiche d'enregistrement des actions

2.1.2. Nouvelle fiche de non-conformité

Remarques concernant l'ancienne fiche :

- Le cartouche permettant l'identification, le référencement et le classement de la fiche est absent
- Le n° de lot des produits concernés n'est pas prévu
- La date de détection de la non-conformité et / ou d'ouverture de la fiche n'est pas prévue
- Le numéro ou l'identification de la non-conformité n'est pas prévu
- Les responsabilités pour les différentes actions à mener ne sont pas prévues
- La date de clôture de la non-conformité n'est pas prévue
- Le coût de l'action n'est pas prévu.

Nouvelle fiche possible :

		<u>FICHE DE NON CONFORMITÉ</u>		ER-015
				Rev. 02
NATURE DE LA NON CONFORMITÉ				
Émetteur : Réception – Quai 4 – Opérateur 01		Produit : Sel Alimentaire		N° de NC :
Date :		Quantité :		Lot :
Nature :	<input checked="" type="checkbox"/> Fournisseur / Transporteur	<input type="checkbox"/> Client	<input type="checkbox"/> Interne	
	N° de Commande :	N° Bon de Livraison :	Poste :	
	Date de livraison :	Date de Livraison :		
ORIGINE DE LA NON CONFORMITÉ : 1				
1. PRODUIT (hors spécifications, périmé, cassé, gelé, ...)		4. DOCUMENT (absent, erroné, faux, sans n° de lot, sans certificat, ...)		6. QUANTITÉ (erronée, livraison fractionnée, indisponible, ...)
2. EMBALLAGE (récipient percé, fût abîmé, fuite, ...)		5. RÉFÉRENCE (Produit, emballage, conditionnement, ...)		7. COMMERCIALE (prix, rabais, hausse, erreur d'adresse, facturation, ...)
3. ÉTIQUETAGE (absent, illisible, erroné, sans n° de lot, sans quantité, ...)		5. DÉLAI (avance ou retard)		8. AUTRE
DESCRIPTION CONSÉQUENCES				
Client : Retard éventuel dans les livraisons				
Produit : En attente – Pas de production				
Interne : Arrêt de la production – Retard – Perte de matières premières périssables				
CAUSE(S) PROBABLE(S) ou IDENTIFIÉE(S)				
Contamination Physique du sel soit lors de la production, du transport, du stockage ou du conditionnement.				
Travaux à proximité des installations chez le fournisseur				
TRAITEMENT DE LA NON-CONFORMITÉ				
Date	Action			Responsable
ACTION CORRECTIVE IMMÉDIATE				
Date	Action			Responsable
TRANSMISSION de LA FICHE				VALIDATION Service Qualité
Date :	Receveur : Service qualité			Signature du responsable
Date de Clôture :			Visa de clôture :	

2.2. Gestion des fournisseurs

2.2.1. Solution pour inciter les producteurs laitiers à s'impliquer davantage dans la démarche

- Indexer le prix d'achat du lait sur la qualité de ce dernier (solution la plus appropriée)
- Intéresser les producteurs laitiers à l'entreprise (participations financières, prix du meilleur producteur....)
- Informer, aider, guider les producteurs volontaires (aides financières, conseils, services annexes...)
- Rédiger un cahier des charges.

2.2.2. Principal moyen pour s'assurer auprès des fournisseurs du respect des critères qualité exigés

- D'une part : réaliser le contrôle de la production laitière
- D'autre part : réaliser le contrôle des installations et des méthodes de travail des fournisseurs par des audits fournisseurs.

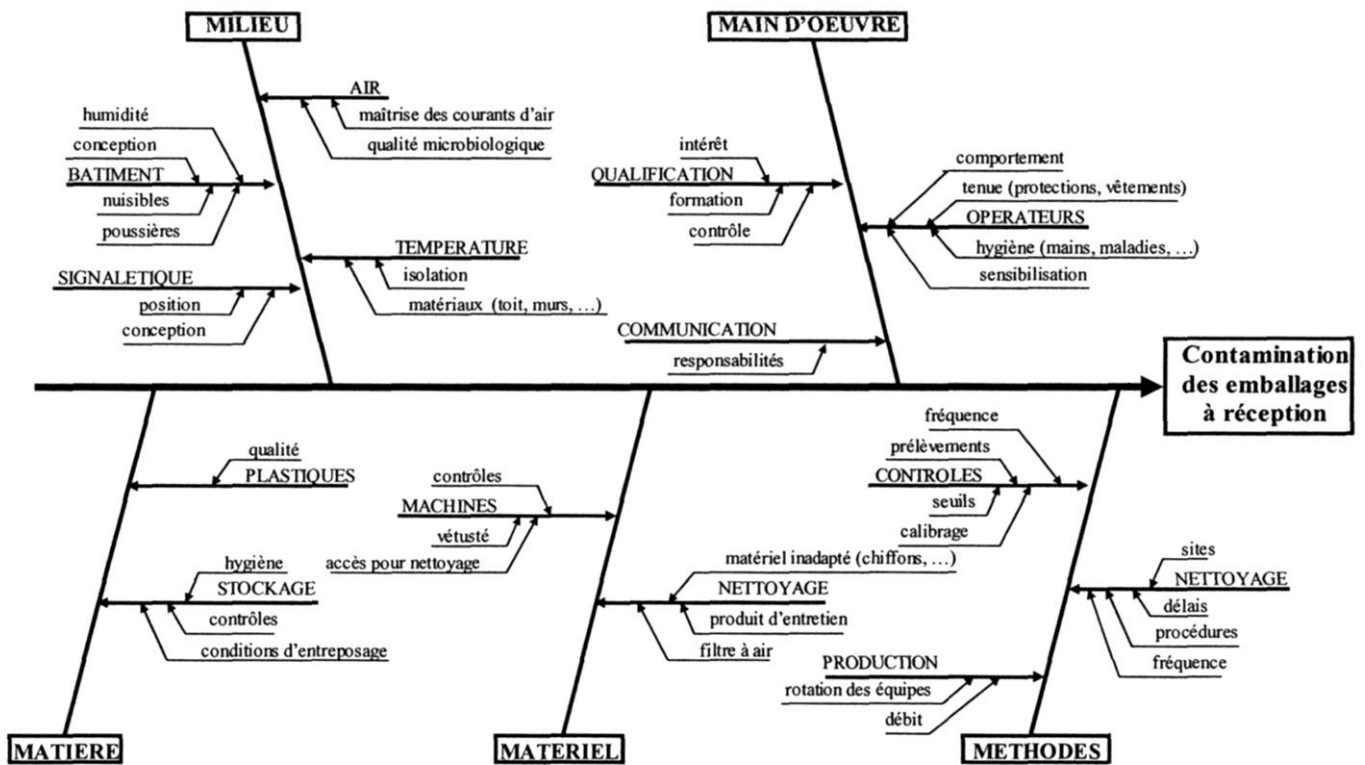
Démarche de l'audit

- **Préparation de l'audit** sachant que les exigences à vérifier, exigences servant à construire le questionnaire d'audit afin de ne rien oublier le jour de l'audit, sont contenues dans un cahier des charges ou un autre référentiel. La date de l'audit sera arrêtée par les deux partenaires.
- **Conduite de l'audit** : le(s) jour(s) de l'audit, après une brève réunion d'ouverture, l'auditeur a le champ libre pour interroger, observer, examiner tout point figurant au référentiel (documents, procédé, respect des règles d'hygiène, mise en place des contrôles... L'auditeur doit alors remplir scrupuleusement le questionnaire d'audit préparé et ceci en présence de l'audité. Il terminera par une brève réunion au cours de laquelle il dégagera les points forts et les points à améliorer éventuellement).
- **Rédaction du rapport d'audit** : l'auditeur va rédiger un rapport faisant le bilan du respect des exigences attendues : points positifs, points négatifs, conseils, critiques...
- **Si l'audit se passe mal, l'audité devra proposer et mettre en place des actions correctives concernant les points négatifs du rapport d'audit avant de subir un second audit de vérification de la mise en place des actions adéquates pour répondre aux exigences du référentiel.**

3^{ème} partie : Le cas des emballages contaminés

3.1. Causes potentielles concernant la contamination des emballages

Outil graphique = diagramme causes – effet ou diagramme d'Ishikawa permettant de visualiser de façon simple l'ensemble des causes potentielles d'un problème, afin d'orienter les recherches du groupe de travail sur les causes réelles d'un effet.



3.2. Outil pour sélectionner les causes restantes

Pour prioriser les causes restantes à traiter, il faut utiliser le diagramme de Pareto basé sur le principe des 80/20, à savoir que la plupart du temps, 20% des causes sont responsables de 80% des problèmes. C'est donc celles dont il faut s'occuper en priorité.

Catégories de causes	UFC	% fréquences	% cumulé des fréquences
Opérateurs - Opérateurs en production* - Opérateurs en impression* - Opérateurs en stockage	250	35,7	35,7
Transport - Tapis transport matières premières - Transport de l'impression au stockage - Transport de la production à l'impression	215	30,7	66,4
Conditionnement – stockage - Qualité de l'air en stockage - Emballages avant expédition	153	21,9	88,3
Impression - Surfaces des machines d'impression - Qualité de l'air en impression	72	10,3	98,6
Production - Surfaces des machines de production - Emballages après production - Emballages avant impression - Qualité de l'air en production	10	1,4	100,0

Remarques :

- D'autres regroupements sont possibles à conditions qu'ils soient cohérents.

Autre proposition

Catégories de causes	UFC	Fréquence %	% cumulé des fréquences
Opérateurs	250	35,7	35,7
Transport	215	30,7	66,4

Emballage	153	21,9	88,3
Surface	42	6	94,3
Air	40	5,7	100,0

- Nécessité de tracer le diagramme en bâtons et la courbe des fréquences cumulées.

Les problèmes à traiter en priorité sont donc :

- Le problème de la contamination des emballages par les opérateurs,
- Le problème de la contamination des emballages lors des transports
- Le problème de la contamination des emballages lors du stockage

Solutions proposées :

- Concernant les opérateurs : contrôles d'hygiène (notamment des mains), port de gants remplacés régulièrement, port de masques.....
- Concernant le transport : modalités du transport à revoir, procédures de contrôle à mettre en place ou à revoir...
- Concernant le conditionnement et le stockage : travail en « zone propre, procédures de contrôle à mettre en place ou à revoir...

Remarque : il y aurait peut-être un moyen plus efficace de régler le problème : **instaurer une procédure de stérilisation ou en tout cas de traitement désinfectant des emballages avant conditionnement qui devrait être ensuite réalisé, tout comme le stockage en « zone propre ».**

4^{ème} partie : Relations client-fournisseur

4.1. Plan d'échantillonnage simple

C'est un plan permettant d'accepter ou de rejeter un lot sur la base d'un échantillon.

Il consiste à prélever dans un lot un échantillon d'effectif donné n , de contrôler tous les produits de l'échantillon et de déterminer le nombre k de non conformes dans l'échantillon. Si ce nombre k de non conformes est inférieur ou égal à un critère « A » d'acceptation (critère défini), le lot sera accepté, sinon il sera refusé (k étant alors supérieur ou égal à « R » : critère de rejet avec « R » = « A » + 1).

4.2. Caractéristiques du plan d'échantillonnage simple

Caractéristiques du plan d'échantillonnage simple normal.:

- Effectif du lot 1000, donc lettre code : J
- $A = 1$; $R = 2$
- $NQA = 0,65 \%$
- $P_{95} = 0,444 \%$; $P_{10} = 4,78 \%$
- $n : 80$ (il faudra donc contrôler 80 emballages sur les 1000 du lot et dès qu'il y aura 2 non conformes parmi ces 80 emballages contrôlés, le lot sera à rejeter).

Caractéristiques du plan d'échantillonnage simple renforcé.:

- $A = 1$; $R = 2$
- $NQA = 0,4 \%$
- $P_{95} = 0,284 \%$; $P_{10} = 3,11 \%$
- $n : 125$ (il faudra donc contrôler 125 emballages sur les 1000 du lot et dès qu'il y aura 2 non conformes parmi ces 125, le lot sera rejeté).

Commentaires concernant les changements lors du passage d'un contrôle normal à un contrôle renforcé.:

L'effectif testé augmente : ce qui augmente la représentativité de l'échantillon et par là diminue les risques de se tromper quant à la qualité du lot, diminuant le risque client (c'est pourquoi le P_{10} diminue) et diminuant le risque fournisseur (c'est pourquoi le P_{95} diminue également). Par contre le contrôle sera plus cher.

Le NQA diminue, ce qui signifie que l'entreprise n'acceptera plus au maximum que 0,4 % de la population du lot soit non conforme contre 0,65 % lors du contrôle normal.

4.3

Situation permettant au fournisseur de repasser à un contrôle normal par l'entreprise : situation lui permettant de maîtriser sa production et donc de livrer un certain nombre de lots successifs qui soient acceptés, nombre de lots défini dans le plan d'échantillonnage (exemple : 5 lots successifs qui soient acceptés).

En cas d'échec (si le fournisseur d'emballages ne parvient pas à résoudre ses problèmes de contamination), il y a de fortes chances que le client ne souhaite plus travailler avec lui (qu'il soit déréféré).

CATALOGUE DE L'UPBM :



<http://www.upbm.org>

Vous trouverez sur notre site le catalogue avec possibilité d'édition des bons de commande.
Dès que possible, des corrigés complémentaires ou des erratums seront en ligne.

ISBN 978-2-910069-60-5



Annales du BTS QUALITÉ dans les INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIOINDUSTRIES Sessions 2008-2009

UPBM ÉDILION
Publications de l'UPBM

Sur Internet :

<http://www.upbm.org>

(téléchargement possible des annales épuisées)



ISBN 978-2-910069-53-7



9 782910 069537