

Brevet de technicien supérieur

Qualité dans les industries alimentaires et les bioindustries

Sujets et corrigés

Sessions 2018 - 2019



IH-500

UPBM-Édition
Publications de l'UPBM

Les Annales du **BTS Qualité dans les Industries alimentaires et les bioindustries** ont été réalisées par Raphaël BOUQUET (Paris).

Mesdames Clarisse LIPOFF et Caroline PLATROZ (Lyon) en assurent la diffusion.

Tous nos remerciements à Frédérique BRUN, Jean-François BRUN, Gisèle RIGARD, Philippe SUCHET, Françoise WILLER, (Clermont-Ferrand), Catherine EGO, Thérèse FERLIN (L'Isle-d'Abeau), Sandrine ALEXANDRE, Christine GAUFICHON CHARRIER, Philippe VOLLEAU (Niort), Isabelle ETIENNE, Alexandre FRADAGRADA, Élise MARCHE, Laurent MICHEL (Paris), Antoine GAUDIN (Saint-Denis), Christelle CHATELAIS (Toulouse) et **Jean-Luc LESTRA**, IA-IPR pilote national du BTS QIAB pour le recueil des sujets et des corrigés.

Rappelons que l'ensemble du travail réalisé est bénévole.

Photographie de couverture :

Automate d'immunohématologie IH 500 de Biorad (clichés d'Antoine GAUDIN 2019)

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. Vous pouvez adresser vos remarques à **raphael.bouquet@ac-paris.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.org>** à la rubrique annale.

ISBN 978-2-910069-60-5



ANNALES du BTS qualité dans les industries alimentaires et les bioindustries

Sessions 2018 et 2019

Éditions UPBM ÉDILION
Lycée la Martinière
Avenue Andreï SAKHAROV
69338 LYON Cedex 9
<http://www.upbm.org>

Sommaire

ANNALES du BTS qualité dans les industries alimentaires et les bioindustries Sessions 2018 et 2019	1
Sommaire	1
Règlement d'examen	2
Annexes techniques d'analyses et de contrôles	5
Sujets 2018.....	9
E2-U21 Mathématiques 2018.....	9
E2-U22 Sciences physiques 2018.....	13
E3-U3 Biochimie - Biologie 2018.....	18
E4-U4 Sciences appliquées 2018	28
E5-U52 Techniques d'analyses et de contrôles (A) 2018.....	38
E5-U52 Techniques d'analyses et de contrôles (B) 2018.....	51
E6-U62 Étude de cas 2018	62
Sujets 2019.....	79
E2-U21 Mathématiques 2019.....	79
E2-U22 Sciences physiques 2019.....	83
E3-U3 Biochimie - Biologie 2019.....	90
E4-U4 Sciences appliquées 2019	100
E5-U52 Techniques d'analyses et de contrôles (A) 2019.....	113
E5-U52 Techniques d'analyses et de contrôles (B) 2019.....	125
E6-U62 Étude de cas 2019	137
Éléments de corrigés	147
Corrigés sujets 2018.....	147
E2-U21 Mathématiques 2018.....	147
E2-U22 Sciences physiques 2018.....	149
E3-U3 Biochimie - Biologie 2018.....	152
E4-U4 Sciences appliquées 2018	156
E6-U62 Étude de cas 2018	159
Corrigés sujets 2019.....	164
E2-U21 Mathématiques 2019.....	164
E2-U22 Sciences physiques 2019.....	166
E3-U3 Biochimie - Biologie 2019.....	169
E4-U4 Sciences appliquées 2019	173
E6-U62 Étude de cas 2019	178

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.2.1	Mathématiques	Écrite	2 h	2
		E.2.2	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.5.1	Techniques d'atelier du génie industriel	Pratique	4 h	3
		E.5.2	Techniques d'analyses et de contrôles	Pratique	6 h	3
E.6	Qualité appliquée aux industries alimentaires et aux bioindustries	E.6.1	Soutenance de projet	Orale (soutenance)	1 h	3
		E.6.2	Étude de cas	Écrite	4 h	4
					Total	30

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE, DE LA RECHERCHE ET DE LA TECHNOLOGIE

Direction de l'enseignement scolaire

Direction de l'enseignement supérieur

Arrêté du 24 mars 1998 portant définition et fixant les conditions de délivrance du brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries

LE MINISTRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE, DE LA RECHERCHE ET DE LA TECHNOLOGIE

• VU le décret no 95-665 du 9 mai 1995 modifié portant règlement général du brevet de technicien supérieur ;

• VU l'arrêté du 9 mai 1995 fixant les conditions d'habilitation à mettre en œuvre le contrôle en cours de formation en vue de la délivrance du baccalauréat professionnel, du brevet professionnel et du brevet de technicien supérieur ;

• VU l'arrêté du 9 mai 1995 relatif au positionnement en vue de la préparation du baccalauréat professionnel, du brevet professionnel et du brevet de technicien supérieur ;

• VU l'avis de la commission professionnelle consultative Chimie du 29 avril 1997 ;

• VU l'avis du Conseil national de l'enseignement supérieur et de la recherche du 19 janvier 1998 ;

• VU Vu l'avis du Conseil supérieur de l'éducation du 18 décembre 1997 ;

ARRÊTE

ARTICLE 1er

La définition et les conditions de délivrance du brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries sont fixées conformément aux dispositions du présent arrêté.

ARTICLE 2

Les unités constitutives du référentiel de certification du brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries sont définies en annexe I au présent arrêté.

ARTICLE 3

La formation sanctionnée par le brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries comporte des stages en milieu professionnel dont les finalités et la durée exigée pour se présenter à l'examen sont précisées en annexe II au présent arrêté.

ARTICLE 4

En formation initiale sous statut scolaire, les enseignements permettant d'atteindre les compétences requises du technicien supérieur sont dispensés conformément à l'horaire hebdomadaire figurant en annexe III au présent arrêté.

ARTICLE 5

Le règlement d'examen est fixé en annexe IV au présent arrêté. La définition des épreuves ponctuelles et des situations d'évaluation en cours de formation est fixée en annexe V au présent arrêté.

ARTICLE 6

Pour chaque session d'examen, la date de clôture des registres d'inscription et la date de début des épreuves pratiques ou écrites sont arrêtées par le ministre chargé de l'éducation nationale.

La liste des pièces à fournir lors de l'inscription à l'examen est fixée par chaque recteur.

ARTICLE 7

Chaque candidat s'inscrit à l'examen dans sa forme globale ou dans sa forme progressive conformément aux dispositions des articles 16, 23, 24 et 25 du décret du 9 mai 1995 modifié susvisé.

Il précise également s'il souhaite subir l'épreuve facultative.

Dans le cas de la forme progressive, le candidat précise les épreuves ou unités qu'il souhaite subir à la session pour laquelle il s'inscrit.

Le brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries est délivré aux candidats ayant passé avec succès l'examen défini par le présent arrêté conformément aux dispositions du titre III du décret du 9 mai 1995 susvisé.

ARTICLE 8

Les correspondances entre les épreuves de l'examen organisées conformément à l'arrêté du 2 septembre 1993 fixant les conditions de délivrance du brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries et les épreuves de l'examen organisées conformément au présent arrêté sont précisées en annexe VI au présent arrêté.

La durée de validité des notes égales ou supérieures à 10 sur 20 obtenues aux épreuves de l'examen subi selon les dispositions de l'arrêté du 2 septembre 1993 précité et dont le candidat demande le bénéfice dans les conditions prévues à l'alinéa précédent est reportée dans le cadre de l'examen organisé selon les dispositions

du présent arrêté conformément à l'article 17 du décret du 9 mai 1995 susvisé et à compter de la date d'obtention de ce résultat.

ARTICLE 9

La première session du brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries, organisée conformément aux dispositions du présent arrêté aura lieu en 1999. La dernière session du brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries, organisée conformément aux dispositions de l'arrêté du 2 septembre 1993 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 et de l'arrêté du 2 septembre 1993 fixant les conditions de délivrance du brevet de technicien supérieur Qualité dans les industries alimentaires et les bio-industries, aura lieu en 1998. A l'issue de cette session, les arrêtés du 2 septembre 1993 précités sont abrogés.

ARTICLE 10

La directrice de l'enseignement supérieur, le directeur de l'enseignement scolaire et les recteurs sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au Journal officiel de la République française.

Nota. - Le présent arrêté et ses annexes III, IV et VI seront publiés au Bulletin officiel de l'éducation nationale du 16 avril 1998, vendu au prix de 14 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 l'ensemble de ses annexes seront diffusés par les centres précités.

Fait à Paris, le 24 mars 1998.

Définition des épreuves

1. Anglais

- Coefficient : 2

L'épreuve a pour but d'évaluer **au niveau B2** les activités langagières suivantes :

- Compréhension de l'oral
- Production et interaction orales
- Contrôle en cours de formation (2 situations)

Première situation d'évaluation : évaluation de la compréhension de l'oral : durée 30 minutes maximum sans préparation, au cours du deuxième trimestre de la deuxième année.

Deuxième situation d'évaluation : évaluation de la production orale en continu et de l'interaction au cours du deuxième et du troisième trimestre de la deuxième année (durée 15 minutes + 30 minutes de préparation)

- Épreuve ponctuelle

Compréhension de l'oral : 30 minutes sans préparation

Expression orale en continu et en interaction : 15 minutes assorties d'un temps de préparation de 30 minutes.

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)

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).

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 milieu
- C32 : vérifier les produits, réactifs et milieu
- 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 autocontrôle 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'autocontrôle 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.

Annexes techniques

d'analyses et de

contrôles

ANNEXE DÉNOMBREMENTS

Extrait de la norme NF ISO 7218 octobre 2007

Pour les cas généraux :

- ✓ Cette norme officialise le passage à **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 obtenues 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.

$$N = \sum c / (V \cdot 1,1 \cdot d)$$

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 de microorganismes par g ou par mL".
 - 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).

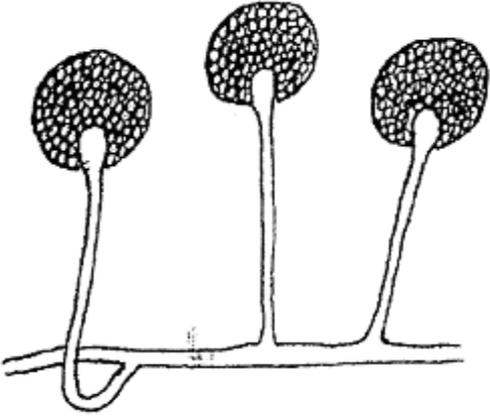
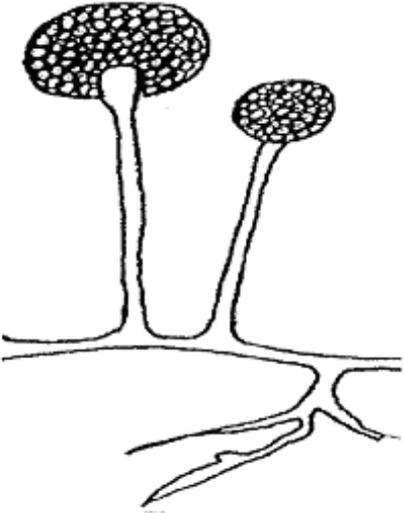
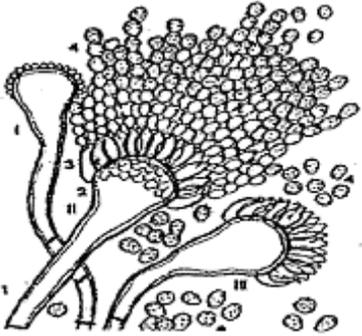
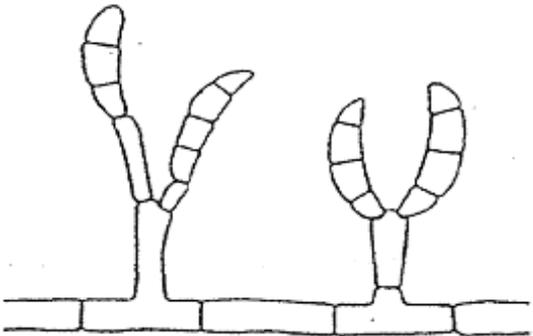
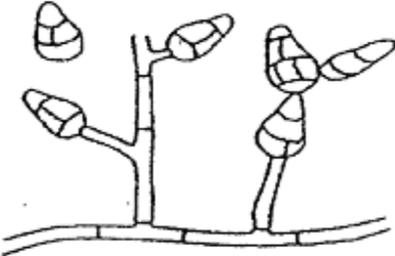
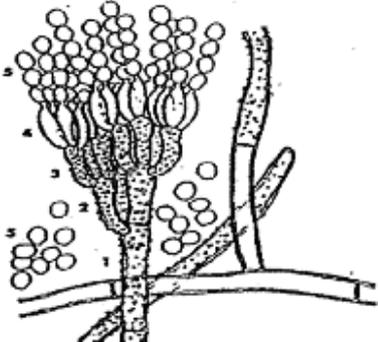
- ✓ **Pour les levures et moisissures :**

Sont retenus 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 MOISSISSURES

SCHÉMAS D'ORGANES DE FRUCTIFICATION DE MOISSISSURES

 <p>The diagram shows three upright, branched hyphae. Each hypha has a long, thin stalk that curves at the base. At the top of each stalk is a large, spherical, textured head representing a sporangium.</p>	 <p>The diagram shows two upright, branched hyphae. Each hypha has a long, thin stalk that branches at the base. At the top of each stalk is a large, spherical, textured head representing a sporangium.</p>
<p><i>Mucor</i></p>	<p><i>Rhizopus</i></p>
 <p>The diagram shows a complex, branched structure. It features a central stalk that branches into several smaller stalks. At the top of these stalks are numerous small, spherical spores. The diagram is labeled with numbers 1 through 5, indicating different parts of the structure.</p>	 <p>The diagram shows two upright, branched hyphae. Each hypha has a long, thin stalk that branches at the base. At the top of each stalk is a large, elongated, segmented head representing a conical head.</p>
<p><i>Aspergillus</i></p>	<p><i>Fusarium</i></p>
 <p>The diagram shows two upright, branched hyphae. Each hypha has a long, thin stalk that branches at the base. At the top of each stalk is a large, elongated, segmented head representing a conical head.</p>	 <p>The diagram shows a complex, branched structure. It features a central stalk that branches into several smaller stalks. At the top of these stalks are numerous small, spherical spores. The diagram is labeled with numbers 1 through 5, indicating different parts of the structure.</p>
<p><i>Alternaria</i></p>	<p><i>Penicillium</i></p>

ANNEXE MÉTROLOGIE

Établissement Centre d'examen	INSTRUCTION DE TRAVAIL	RÉF :
	VÉRIFICATION DE L'EXACTITUDE ET EXPRESSION DU RÉSULTAT DE MESURE	Version : 6 Révisée le 15/11/2017 Page 1 sur 2
Rédacteurs : membres de la commission de sujets Visa :	Vérificateur / Approbateur : inspection générale Visa :	

1. VÉRIFICATION DE L'EXACTITUDE DU RÉSULTAT DE MESURE

La vérification de l'exactitude d'un résultat de mesure s'effectue au moyen d'un matériau de contrôle dont la valeur est exprimée sous la forme : $y_{ref} \pm U_{ref}$ (où $U_{ref} = 2 s_{Rref}$ pour un niveau de confiance d'environ 95,5 %).

L'écart-type de reproductibilité s_R de la méthode doit être donné.

Une mesure y_{EC} du matériau de contrôle est réalisée et l'on s'assure que la relation ci-dessous est bien vérifiée.

$$|y_{EC} - y_{ref}| \leq 2 \sqrt{s_R^2 + u_{ref}^2}$$

Si tel est le cas, la mesure effectuée sur l'essai est alors considérée comme satisfaisante.

Exemple :

Soit la mesure unique y de la concentration molaire d'un essai : $y = 3,85$ mmol/L

Un matériau de contrôle de concentration $y_{ref} \pm U_{ref}$ soit $(4,12 \pm 0,12)$ mmol/L est testé dans les mêmes conditions de mesure que l'essai.

La valeur trouvée pour le matériau de référence est $y_{EC} = 3,98$ mmol/L

L'écart-type de reproductibilité s_R de la méthode est fourni : $s_R = 0,11$ mmol/L

La relation suivante doit être vérifiée :

$$|3,98 - 4,12| \leq 2 \sqrt{0,11^2 + 0,06^2}$$
$$0,14 \text{ mmol/L} \leq 0,251 \text{ mmol/L}$$

L'exactitude est vérifiée et la valeur de l'essai est confirmée : $y = 3,85$ mmol/L

Dans le cas contraire, la valeur n'est pas retenue.

Remarque :

Lorsque la valeur de référence est donnée sans incertitude, celle-ci est considérée comme négligeable, c'est-à-dire $U_{ref} \ll s_R$.

Établissement Centre d'examen	INSTRUCTION DE TRAVAIL	RÉF :
	VÉRIFICATION DE L'EXACTITUDE ET EXPRESSION DU RÉSULTAT DE MESURE	Version : 6 Révisée le 15/11/2017 Page 2 sur 2
Rédacteurs : membres de la commission de sujets Visa :	Vérificateur / Approbateur : inspection générale Visa :	

2. EXPRESSION DU RÉSULTAT DE MESURE

2.1. Détermination de l'incertitude élargie

L'expression du résultat nécessite de connaître l'incertitude type composée u_c qui est soit donnée avec l'unité de grandeur, soit donnée en valeur relative.

Exemple 1 : $n_y = 0,3457 \mu\text{mol}$ $u_c = 0,018 \mu\text{mol}$

Exemple 2 : $c_y = 0,1257 \text{ mol/L}$ incertitude-type composée relative = 1,3 %
donc $u_c = 0,1257 \times 0,013 = 0,0016 \text{ mol/L}$

L'incertitude élargie U est donnée en supposant une distribution normale et en multipliant par un facteur 2 l'incertitude-type composée. Le niveau de confiance obtenu ainsi est d'environ 95,5 %.

$$\text{Incetitude élargie : } U = 2 \times u_c$$

2.2. Arrondi du résultat de mesure

L'incertitude élargie U est ensuite arrondie selon les cas :

- si le premier chiffre significatif est 1, 2, 3 ou 4 : garder deux chiffres significatifs ;
- si le premier chiffre significatif est 54 ou plus : garder un chiffre significatif.

Le résultat final est arrondi de la manière suivante :

- le dernier chiffre significatif de la valeur retenue pour le résultat doit être à la même position décimale que le dernier chiffre de l'incertitude élargie ;
- les règles usuelles mathématiques d'arrondi s'appliquent.

Exemple 1 :

valeur retenue : $c_y = 0,24319 \text{ mmol/L}$
 $U = 0,0052 \text{ mmol/L}$ arrondi à $0,005 \text{ mmol/L}$
 écrire : $c_y = (0,243 \pm 0,005) \text{ mmol/L}$

Exemple 2 :

valeur retenue : $c_y = 0,24364 \text{ mmol/L}$
 $U = 0,0052 \text{ mmol/L}$ arrondi à $0,005 \text{ mmol/L}$
 écrire : $c_y = (0,244 \pm 0,005) \text{ mmol/L}$

Rendre le résultat de mesure en donnant sa valeur numérique, son incertitude, son unité et accompagné de la notation « niveau de confiance d'environ 95,5 % » ou « $k = 2$ » ou « $IC = 0,95$ » et de toutes informations pertinentes disponibles.

Sujets 2018

E2-U21 Mathématiques

2018

Durée : 2 heures Coefficient : 2

Calculatrice autorisée

EXERCICE 1 (9 POINTS)

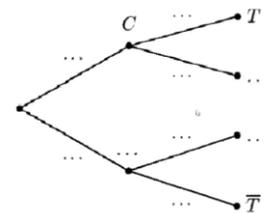
La scanographie est un procédé radiologique, réalisé à l'aide d'un scanner, qui permet de reconstruire informatiquement l'image d'une coupe du corps humain à partir d'une série d'analyses. Elle permet notamment de détecter des tumeurs. Dans cet exercice, on s'intéresse aux scanographies réalisées dans un hôpital.

PARTIE A

Une étude effectuée dans cet hôpital montre que :

- 60 % des scanographies effectuées concernent le cerveau et, parmi celles-ci, 20 % détectent une tumeur ;
- 90 % des autres scanographies effectuées ne détectent pas de tumeur au patient.

Parmi les patients de l'hôpital qui ont besoin d'une scanographie, on en choisit un au hasard. On note C l'événement « le patient fait une scanographie du cerveau » et T l'événement « le patient a une tumeur ».



1. Recopier et compléter l'arbre pondéré ci-contre :

2. Montrer que la probabilité que le patient a une tumeur est égale à 0,16.

3. La scanographie permet de détecter une tumeur au patient. Quelle est la probabilité que cette tumeur ait été détectée au cerveau ?

4. Sur un échantillon de 40 patients atteints d'une tumeur au cerveau, un médecin constate que 25 patients ont été guéris après un traitement approprié.

5. Donner une estimation ponctuelle f de la proportion inconnue p de patients guéris d'une tumeur au cerveau après un traitement approprié.

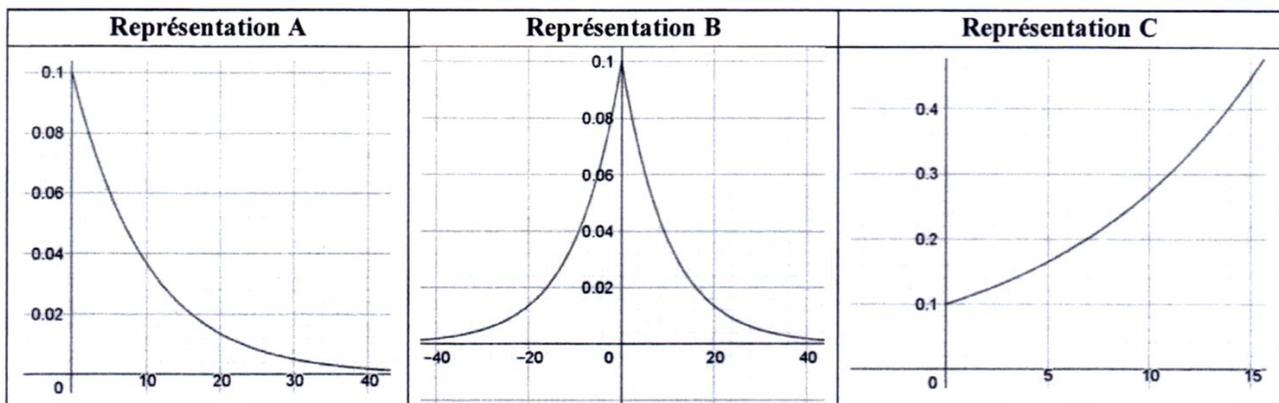
6. Estimer maintenant cette proportion p par un intervalle de confiance au seuil de 95 % (on prendra des valeurs approchées à 10^{-3} près pour les bornes de l'intervalle).

PARTIE B

On admet que le délai d'attente en jours pour réaliser une scanographie à cet hôpital suit une loi exponentielle de paramètre λ et que le délai d'attente moyen est égal à 10 jours.

1. Déterminer la valeur de λ .

2. Parmi les trois représentations graphiques ci-dessous, une seule représentation correspond à la densité de probabilité de cette loi exponentielle. Sans justifier la réponse, indiquer la représentation correspondante.



3. On rappelle que, si T est une variable aléatoire qui suit la loi exponentielle de paramètre λ , alors pour tout réel t de $[0; +\infty[$, on a : $P(T \leq t) = 1 - e^{-\lambda t}$.

Déterminer alors la probabilité, arrondie au millième, que le délai d'attente d'un patient pour une scanographie ne dépasse pas 8 jours.

PARTIE C

Cette partie est un questionnaire à choix multiples. Pour chacune des questions, trois réponses sont proposées, dont une seule est exacte. Le candidat portera sur la copie le numéro de la question suivi de la réponse choisie. On ne demande pas de justification. Aucun point n'est enlevé en l'absence de réponse ou en cas de réponse fausse.

On admet que la probabilité, arrondie au centième, que le délai d'attente d'un patient pour une scanographie ne dépasse pas 8 jours est égale à 0,55.

On construit aléatoirement un échantillon de 200 patients de l'hôpital, qui se voient prescrire une scanographie. On appelle X la variable aléatoire égale au nombre de ces patients dont le délai d'attente ne dépasse pas 8 jours.

Question 1 :

La variable aléatoire X suit :

- A) la loi binomiale de paramètres 200 et 0,55 ;
- B) la loi normale de paramètres 200 et 0,55 ;
- C) la loi exponentielle de paramètres 200 et 0,55.

Question 2 :

La probabilité que le quart de ces 200 patients ait un délai d'attente qui ne dépasse pas 8 jours est égale à :

- A) $P(X \leq 8)$;
- B) $P\left(X = \frac{1}{4}\right)$;
- C) $P(X=50)$.

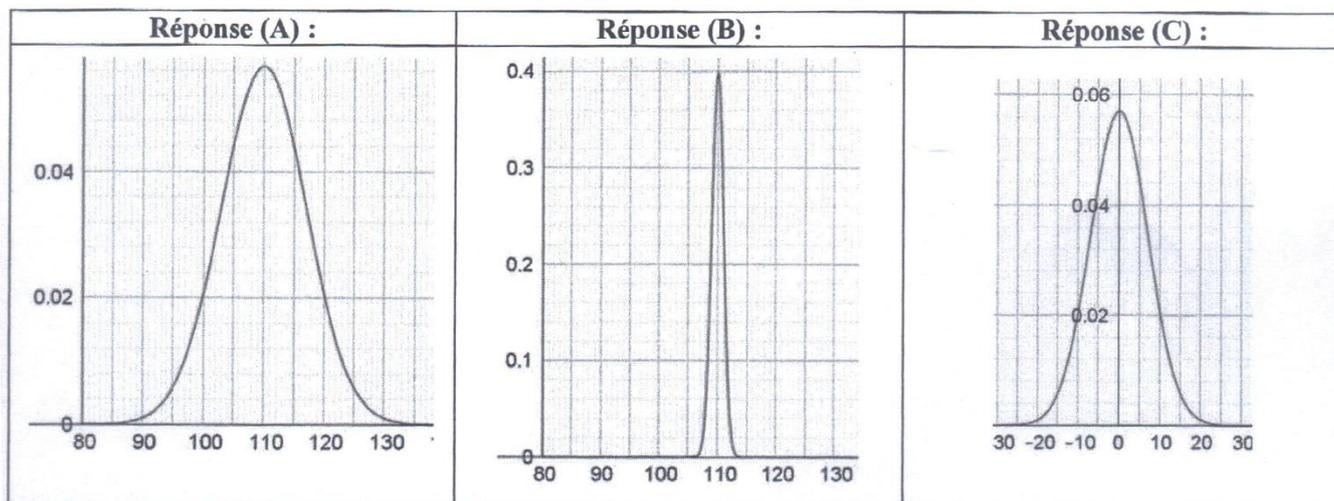
Question 3 :

La probabilité que moins de la moitié des 200 patients ait un délai d'attente qui ne dépasse pas 8 jours est égale à 10^{-3} près à :

- A) 0,021 ;
- B) 0,068 ;
- C) 0,932.

Question 4 :

On admet que la loi suivie par la variable aléatoire X peut être approchée par une loi normale. La représentation graphique de cette loi normale est alors :



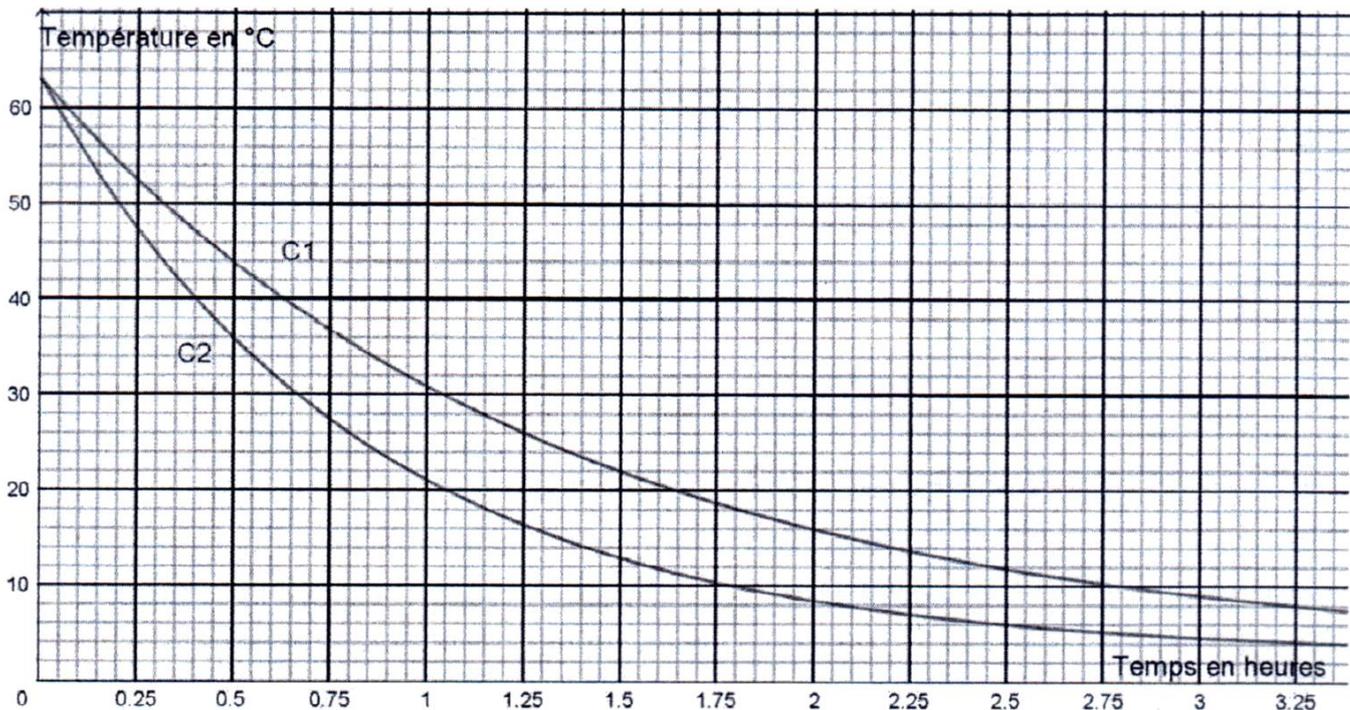
EXERCICE 2 (11 POINTS)

Lors du processus de fabrication de plats cuisinés en restauration collective, le refroidissement est une phase cruciale pour éviter la croissance de germes. La réglementation impose que le refroidissement rapide des barquettes de plats cuisinés soit opéré de telle manière que leur température ne demeure pas à des valeurs comprises entre +10°C et +63°C pendant plus de 2 heures (arrêté du 8 octobre 2013, dispositions particulières applicables aux établissements de restauration collective).

Une entreprise de restauration collective fabrique des barquettes de plats cuisinés, soumises à une attention particulière : lorsqu'elles ont atteint une température de +63°C, elles sont placées dans une cellule de refroidissement rapide, et cela afin de respecter la réglementation précédente.

PARTIE A

On procède à deux réglages différents de la cellule de refroidissement rapide (réglage n° 1 et réglage n° 2). Sur le graphique ci-dessous, sont représentées les courbes C1 et C2, qui correspondent respectivement à la température d'une barquette placée dans la cellule en fonction du temps pour le réglage n° 1 et pour le réglage n° 2.



1. Indiquer la température de la barquette au bout de 90 minutes dans la cellule de refroidissement rapide avec le réglage n° 1.
2. a) Le réglage n° 1 satisfait-il à la réglementation définie ci-dessus ? Justifier.
b) Le réglage n° 2 satisfait-il à la réglementation définie ci-dessus ? On estimera, avec ce réglage, combien de temps la barquette doit rester dans la cellule de refroidissement rapide pour atteindre une température de +10°C.
3. Un employé en charge du réglage de la cellule de refroidissement rapide affirme que la température de la barquette baisse de 5 % toutes les minutes avec le réglage n° 2. Expliquer pourquoi cette affirmation est en contradiction avec la courbe C2.
4. Dans cette question, on admet que la température de la barquette baisse de 2 % toutes les minutes avec un réglage n° 3. Recopier et compléter les lignes 3, 4 et 5 de l'algorithme ci-dessous afin que ce dernier permette de déterminer au bout de combien de temps la température de la barquette sera inférieure à +10°C :

1	N ← 0
2	T ← 63
3	Tant que
4	Affecter à N la valeur
5	Affecter à T la valeur
6	Fin Tant que

PARTIE B

Dans toute cette partie, la température de la cellule de refroidissement rapide est réglée à +3°C (afin que la température de la barquette ne soit jamais inférieure à + 3 °C).

Pour le réglage n° 2, la température de la barquette est modélisée par une fonction f qui, à tout temps t en heures, associe la température $f(t)$ de la barquette en °C.

1. On admet que la fonction f est solution de l'équation différentielle $y' = -1,2(y - 3)$ sur $[0 ; +\infty[$.
 - a) Démontrer que cette équation différentielle s'écrit encore sous la forme (E) : $y' + 1,2y = 3,6$.
 - b) Déterminer les solutions de l'équation différentielle $y' + 1,2y = 0$ sur $[0 ; +\infty[$.
 - c) Vérifier que la fonction constante $t \rightarrow 3$ est une solution particulière de l'équation différentielle (E).
En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).
 - d) Expliquer pourquoi $f(0) = 63$. Déduire de ce qui précède une expression de $f(t)$ pour tout réel t de $[0 ; +\infty[$.

Dans ce qui suit, on admet que, pour tout réel t de $[0 ; +\infty[$, $f(t) = 60 e^{-1,2t} + 3$.

2. Donner la valeur arrondie à 10^{-2} de $f(2)$. Interpréter dans le contexte de l'exercice.
3. Déterminer la limite de la fonction f en $+\infty$. Interpréter dans le contexte de l'exercice.
4. Avec un logiciel de calcul formel, on obtient : $\frac{1}{1,5-0} \int_0^{1,5} f(t) dt \approx 30,8$ (à 10^{-1} près). Interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.
5. Pour le réglage n° 1, la température de la barquette est modélisée par une fonction g , qui, à tout temps t en heures, associe la température $g(t)$ de la barquette en °C. On admet que la courbe C1 est la représentation graphique de cette fonction g .

En s'inspirant de la forme de l'expression de la fonction f proposer une expression de $g(t)$ pour tout réel t de $[0 ; +\infty[$. Expliquer la démarche.

FORMULAIRE

Intervalle de confiance d'une proportion

On mesure une fréquence f d'un caractère d'un échantillon de taille n et on souhaite estimer la proportion p inconnue de la population toute entière. L'intervalle de confiance à 95% de la proportion p inconnue est l'intervalle centré sur f :

$$\left[f - 1,96\sqrt{\frac{f(1-f)}{n}} ; f + 1,96\sqrt{\frac{f(1-f)}{n}} \right]$$

Lois de probabilités suivies par la variable aléatoire X

Nom de la loi	Paramètre(s)	Espérance $E(X)$	Ecart type $\sigma(X)$
Binomiale	n et p	np	$\sqrt{np(1-p)}$
Normale	μ et σ	μ	σ
Poisson	λ	λ	$\sqrt{\lambda}$
Exponentielle	λ	$\frac{1}{\lambda}$	$\frac{1}{\lambda}$

Équation différentielle : $ay' + by = 0$

Les solutions sont les fonctions de la forme $f(t) = ke^{-\frac{b}{a}t}$ où k est une constante réelle.

Durée : 2 heures Coefficient : 3

Calculatrice autorisée

L'acide ascorbique

L'acide L-ascorbique (ou vitamine C) constitue un acide organique ayant entre autres des propriétés anti-oxydantes. Le nom « ascorbique » vient du préfixe grec a (privatif) et de scorbut, signifiant littéralement anti-scorbut. La vitamine C intervient dans de nombreuses réactions d'oxydo-réduction dans l'organisme, dans le métabolisme du fer et des acides aminés.

Le scorbut est une maladie due à une carence en vitamine C qui se traduit chez l'être humain, dans sa forme grave, par un déchaussement des dents et la purulence des gencives, des hémorragies, puis la mort. Maladie très répandue chez les marins du XV^e au XVII^e siècle, le scorbut fut combattu grâce à l'introduction dans leur régime d'aliments très riches en vitamine C, tels la choucroute, les oranges ou le citron.

La forme naturelle de l'acide ascorbique peut se représenter par :

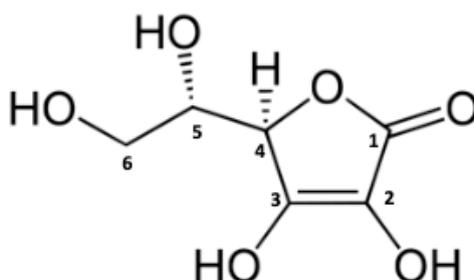


Figure 1 : acide L-(+)-ascorbique (notée A)

PARTIE A - LA MOLÉCULE D'ACIDE L-(+)-ASCORBIQUE (5 POINTS)

- A.1.** Donner la définition d'un carbone asymétrique.
- A.2.** Reproduire la molécule (A) de la **figure 1** sur votre copie, marquer d'un astérisque le (ou les) atome(s) de carbone asymétrique(s) présent(s).
- A.3.** Sur la représentation effectuée à la question précédente, entourer et nommer les groupes caractéristiques présents dans cette molécule.
- A.4.** Déterminer la configuration absolue du carbone numéroté **5** sur la **figure 1**. Justifier succinctement, en précisant le nom des règles utilisées.
- A.5.** Préciser la signification du terme « L » utilisé dans le nom de cet acide. Préciser également la signification du signe « + ».
- A.6.** Donner la définition de « molécules énantiomères ». Représenter l'énantiomère de l'acide L-(+)-ascorbique.
- A.7.** La molécule suivante (B) est un diastéréoisomère de (A) :

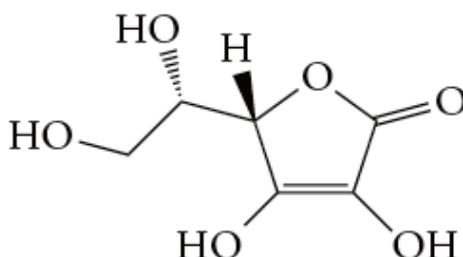


Figure 2 : acide L-isoascorbique (notée B)

A.7.a) Quelle différence peut-on remarquer entre les molécules notées (A) et (B) ?

A.7.b) Sur votre copie répondre par VRAI ou FAUX aux affirmations suivantes :

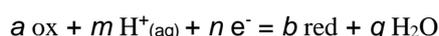
- (a) Les molécules (A) et (B) ont comme formule brute $C_6H_6O_6$.
- (b) Les molécules (A) et (B) ont des propriétés physiques différentes.
- (c) Les molécules (A) et (B) ont des propriétés chimiques similaires vis-à-vis de réactifs non chiraux.
- (d) La molécule (B) possède un seul énantiomère.

PARTIE B - PROPRIÉTÉ RÉDUCTRICE DE L'ACIDE ASCORBIQUE (4 POINTS)

L'acide ascorbique est un agent réducteur qui réagit facilement (en s'oxydant) notamment avec le dioxygène présent dans l'air. Cette propriété entraîne un ralentissement de l'oxydation par le dioxygène de certains constituants présents dans les aliments par exemple. On peut oxyder l'acide ascorbique par différents composés, en particulier en laboratoire par une solution de diiode ($I_{2(aq)}$).

Formule de Nernst

Dans le cas d'un couple dont la demi-équation électronique fait intervenir l'ion $H^+_{(aq)}$ du type :



la formule de Nernst s'écrit :

$$E = E^0 + \frac{0,06}{n} \times \log \frac{[\text{ox}]^a \times [H^+]^m}{[\text{red}]^b}$$

Pour le couple de l'acide ascorbique, $E^0(C_6H_6O_6(aq)/C_6H_8O_6(aq)) = 0,13 \text{ V}$

B.1. Expliquer ce que représente la notation : $E^0(C_6H_6O_6(aq)/C_6H_8O_6(aq))$.

B.2. Écrire la demi-équation électronique en milieu acide du couple associé à l'acide ascorbique.

B.3. Donner l'expression littérale du potentiel de Nernst à 298 K pour le couple associé à l'acide ascorbique. Montrer qu'il dépend du pH.

B.4. Dans un diagramme potentiel-pH, il y a une droite frontière pour laquelle on impose la condition $[\text{ox}] = [\text{red}]$.

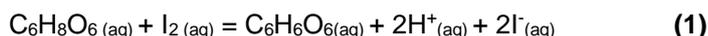
Pour le couple de l'acide ascorbique, la droite frontière du diagramme potentiel-pH a pour équation :

$$E = 0,13 - 0,06 \cdot \text{pH}$$

Tracer cette droite frontière dans le diagramme potentiel-pH donné sur le **document réponse (à rendre avec la copie)** et faire apparaître les zones de prédominance de l'oxydant et du réducteur du couple de l'acide ascorbique.

B.5. En utilisant le diagramme potentiel-pH qui vient d'être complété, montrer que le diiode ($I_{2(aq)}$) peut oxyder l'acide ascorbique pour des pH acides.

B.6. Montrer que l'équation de la réaction d'oxydoréduction, notée **(1)**, qui a lieu entre l'acide ascorbique et le diiode, peut s'écrire :



B.7. L'enthalpie libre standard de réaction $\Delta_r G^\circ$ de cette réaction d'oxydoréduction **(1)** vaut :

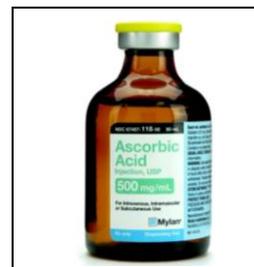
$$\Delta_r G^\circ = -9,5 \cdot 10^4 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$$

En déduire que la constante d'équilibre associée à l'équilibre **(1)** vaut $K = 4,6 \cdot 10^{16}$ à 298 K. Quel commentaire suscite cette valeur ?

Donnée : constante des gaz parfaits, $R = 8,31 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$

PARTIE C - DOSAGE D'UNE SOLUTION D'ACIDE ASCORBIQUE (6 POINTS)

Dans le traitement du scorbut, l'administration d'acide ascorbique par voie parentérale (injection par voie intraveineuse, intramusculaire ou sous-cutanée) est nécessaire chez les patients souffrant d'une carence aiguë ou chez ceux pour qui l'absorption ou l'ingestion orale d'acide ascorbique est incertaine ; la solution injectable utilisée contient **500 mg d'acide ascorbique par mL**.



Données :

- Masse molaire de l'acide ascorbique : $M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) = 176,13 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$;
- Potentiels standard à 298 K :
 $E^\circ(\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6(\text{aq})/\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6(\text{aq})) = 0,13 \text{ V}$;
 $E^\circ(\text{I}_2(\text{aq})/\text{I}^-(\text{aq})) = 0,68 \text{ V}$;
 $E^\circ(\text{S}_4\text{O}_6^{2-}(\text{aq})/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}(\text{aq})) = 0,09 \text{ V}$;
- Toutes les espèces en solution sont incolores sauf $\text{I}_2(\text{aq})$ qui est jaune-orange.

1- Dosage direct

Nous allons, dans un premier temps, vérifier par titrage direct la concentration de cette solution injectable. On utilisera les propriétés réductrices de l'acide ascorbique pour le titrage de cette solution. L'oxydant utilisé dans ce cas est le diiode I_2 .

La réaction support du dosage est donc l'équation **(1)** de la question **B.6**.

La solution d'acide ascorbique injectable est diluée 100 fois pour préparer 500 mL d'une solution d'acide ascorbique notée solution S.

On prélève un volume $V_0 = 10,0 \text{ mL}$ de la solution S.

On réalise le dosage colorimétrique : le volume de solution aqueuse de diiode versé à l'équivalence de la réaction de dosage est $V_{\text{éq}} = 14,2 \text{ mL}$. La solution aqueuse de diiode a une concentration molaire $C_1 = 0,0200 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

C.1. Lister le matériel nécessaire pour la réalisation de la solution S. Justifier votre choix.

C.2. Réaliser un **schéma légendé** du dispositif de titrage.

C.3. Définir l'équivalence lors d'un titrage.

C.4. En déduire la relation entre C_s , concentration en acide ascorbique de la solution S, et V_0 , C_1 , $V_{\text{éq}}$.

C.5. Vérifier que la concentration en acide ascorbique de la solution injectable C_{AA} calculée à partir du titrage est cohérente avec les indications données sur l'étiquette, à savoir : « 500 mg d'acide ascorbique par mL ».

2- Dosage en retour

Le dosage direct est peu précis car l'acide ascorbique peut s'oxyder.

On préfère le dosage en retour.

Protocole du dosage en retour :

- introduire avec une pipette un volume V_S de la solution S d'acide ascorbique dans un erlenmeyer. Ajouter un volume V_{diiode} d'une solution aqueuse de diiode de concentration molaire C_{diiode} connue précisément et de l'acide orthophosphorique à environ 5 % pour acidifier le milieu. Agiter. On observe alors la coloration jaune-orange du milieu ;
- verser à la burette une solution de thiosulfate de sodium ($2 \text{ Na}^+(\text{aq}), \text{S}_2\text{O}_3^{2-}(\text{aq})$) de concentration C_{thio} connue précisément jusqu'à décoloration complète du mélange présent dans l'erlenmeyer. On note alors $V_{\text{éq}}$ le volume de solution de thiosulfate versé.

C.6. Expliciter le raisonnement qui permet de déterminer C_s , la concentration en acide ascorbique de la solution S (aucun calcul n'est demandé, mais on pourra justifier l'intérêt des deux étapes, notamment en écrivant les équations des réactions d'oxydoréduction mises en jeu, et on pourra préciser les relations entre les différentes quantités de matière).

PARTIE D - INJECTION D'ACIDE ASCORBIQUE A UN PATIENT (5 POINTS)

La **figure 3** ci-dessous représente une partie du piston d'une seringue servant à administrer l'acide ascorbique contenu dans la solution injectable étudiée précédemment à un patient atteint de scorbut.

On considère que le piston se déplace sans frottement dans un cylindre de section S_1 et de diamètre $d_1 = 2,0$ cm rempli d'une solution d'acide ascorbique à $500 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, considérée comme un fluide parfait de masse volumique $\rho = 1000 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Un infirmier exerce sur le piston une force \vec{F} d'intensité égale à 12 newtons (N) en moyenne et le fluide contenu dans la seringue possède alors une vitesse \vec{v}_1 constante. Le fluide peut s'échapper vers l'extérieur par un cylindre de section S_2 (partie où vient se fixer l'aiguille) et de diamètre $d_2 = 0,50$ cm à une vitesse \vec{v}_2 et une pression $P_2 = P_{\text{atm}} = 1,0$ bar.

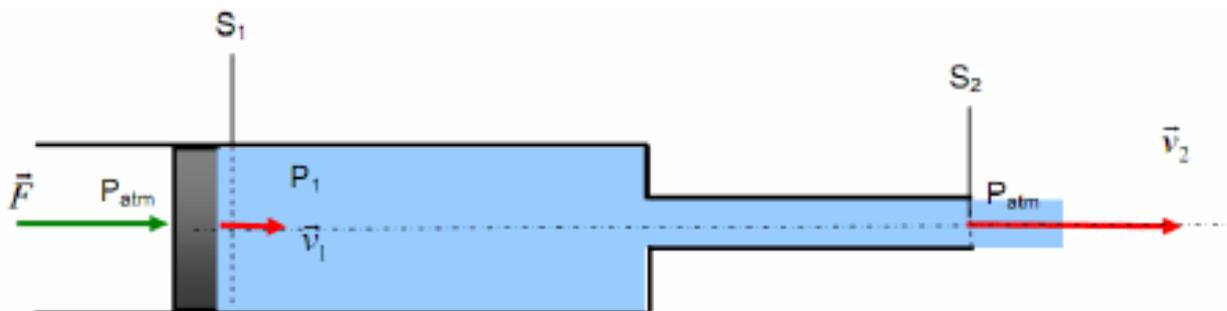


Figure 3 : schéma simplifié de la seringue

Données :

- Intensité de la pesanteur terrestre : $g = 9,81 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$;
- $1 \text{ bar} = 10^5 \text{ Pa}$.

D.1. Si la vitesse de poussée sur le piston est constante, alors la pression P_1 du fluide à l'intérieur du piston est la somme de la pression due à la force \vec{F} exercée sur le piston et de la pression atmosphérique.

Montrer que la pression P_1 peut s'écrire : $P_1 = \frac{4 \cdot F}{\pi \cdot d_1^2} + P_{\text{atm}}$ et vérifier que P_1 vaut 1,4 bar.

D.2. À partir de la conservation du débit volumique, montrer que l'expression de v_1 en fonction de v_2 peut s'écrire sous la forme : $v_1 = \frac{1}{16} \times v_2$

D.3. En appliquant le théorème de Bernoulli, déterminer l'expression littérale de la vitesse d'écoulement v_2 en fonction de P_1 , P_{atm} et ρ .

Déterminer la valeur de la vitesse v_2 .

On supposera que la seringue est tenue horizontalement au moment de l'injection.

Théorème de Bernoulli

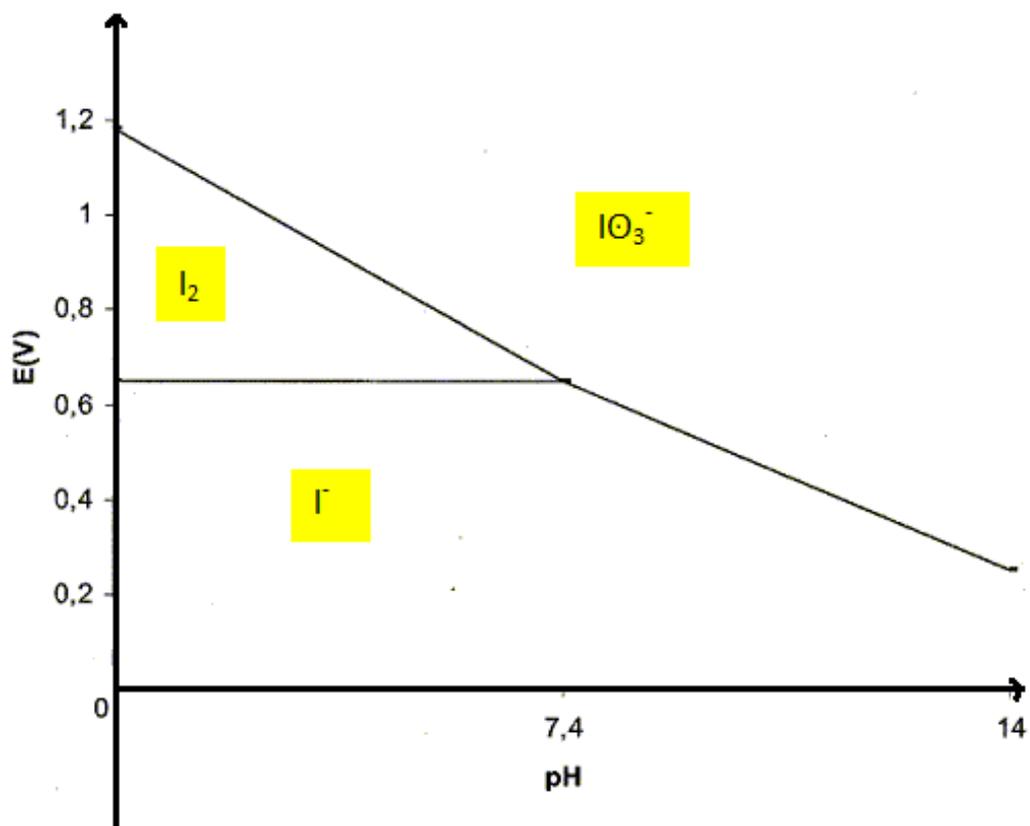
Pour un fluide parfait incompressible en régime permanent, pour deux points A et B situés sur une même ligne de courant, on a :

$$\frac{\rho}{2} (v_B^2 - v_A^2) + \rho g (z_B - z_A) + (P_B - P_A) = 0$$

D.4. À l'extrémité de la partie de section S_2 vient se fixer l'aiguille de la seringue.

Sachant que cette aiguille a un diamètre inférieur à d_2 , comparer la vitesse du fluide à la sortie de cette aiguille et v_2 ? Justifier votre réponse sans calcul.

DOCUMENT RÉPONSE (À RENDRE AVEC LA COPIE)



Durée : 4 heures Coefficient : 5

Calculatrice autorisée

OPTIMISATION DE FERMENTS LACTIQUES

Le yaourt est un lait fermenté dont certaines caractéristiques sont présentées dans le tableau suivant :

Nature des ferments lactiques	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii sbsp bulgaricus</i>
Nombre de bactéries	> 10 millions par gramme
Teneur en acide lactique	> 0,7 %

L'optimisation des ferments lactiques est un enjeu essentiel pour les fabricants de produits laitiers, la sélection des souches bactériennes est en effet primordiale. Une nouvelle technique adaptée d'un phénomène de résistance naturelle de bactéries aux phages permet la modification du génome des bactéries et l'amélioration de leur efficacité. Quelques aspects théoriques et appliqués de la technique Crispr-Cas 9 seront étudiés.

PARTIE BIOCHIMIE (40 POINTS)

1. ASPECTS THÉORIQUES DE LA FERMENTATION LACTIQUE

1.1. Lors de la fabrication de yaourt, la fermentation lactique met en jeu le lactose du lait. Représenter la molécule de lactose (β -D galactopyranose 1-4 D glucopyranose) selon Haworth et préciser en justifiant s'il s'agit d'un glucide réducteur.

1.2. Compléter l'**annexe A** présentant un schéma simplifié du métabolisme assuré par les ferments lactiques et donner le bilan énergétique de la transformation du lactose en acide lactique. Préciser l'intérêt pour les bactéries lactiques de réaliser cette fermentation.

1.3. Le lait utilisé pour fabriquer 100 g de yaourt contient 4,8 g de lactose.

Déterminer la masse de lactose nécessaire pour produire 0,7 g d'acide lactique pour 100 g de yaourt. Calculer le pourcentage de lactose hydrolysé.

Déterminer la teneur en lactose résiduel d'un yaourt et préciser la possibilité de consommation de ce produit par une personne intolérante vis-à-vis du lactose.

Données :

$M_{\text{acide lactique}} = 90,08 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $M_{\text{lactose}} = 342,3 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Le devenir du galactose ne sera pas envisagé et 2 moles d'acide lactique sont produites à partir d'une mole de lactose.

2. DOSAGE DE L'ACIDITÉ DU YAOURT PAR MÉTHODE ENZYMATIQUE

L'**annexe 1** présente le dosage enzymatique de l'acide lactique d'un yaourt.

2.1. Donner en le justifiant le nom de cette méthode de dosage enzymatique.

2.2. Justifier la réalisation de la dilution 1/100 pour l'échantillon.

2.3. Préciser l'intérêt de la mesure de l'absorbance A1 puis de l'absorbance A2.

2.4. Vérifier la formule : $\rho_{\text{(acide lactique, échantillon dilué)}} = 0,3232 \times \Delta A$ en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. En déduire la teneur en acide lactique du yaourt et conclure sur sa conformité.

Donnée : densité yaourt = 1,033

3. AMÉLIORATION DES FERMENTS GRACE A LA TECHNIQUE CRISPR-CAS9

3.1. Structure de l'ADN

L'ADN bactérien est un polynucléotide avec une structure en double hélice.

3.1.1. Indiquer la composition d'un nucléotide. En vous aidant de l'**annexe 2**, citer les molécules constitutives de l'ADN.

3.1.2. Donner le nom des interactions faibles permettant la formation de la double hélice d'ADN et préciser la nature des bases azotées complémentaires.

3.1.3. Schématiser une partie de l'ADN (enchaînement de 3 paires de bases).

3.2. Modification du génome des ferments par la technique Crispr-Cas9

La technique Crispr-Cas9, consiste à associer à l'enzyme Cas9 un petit ARN reconnaissant la région du génome à modifier (**annexe 3**). L'enzyme Cas9 coupe l'ADN à l'endroit ciblé. Cette coupure déclenche sa réparation, soit par recollement des deux extrémités séparées, soit par recombinaison avec un fragment d'ADN de synthèse introduit dans la cellule.

3.2.1. Nommer la liaison détruite par Cas9 et préciser la famille de cette enzyme.

3.2.2. Indiquer le nom des molécules A et B et de l'interaction C de l'**annexe 3**.

3.2.3. En considérant que l'enzyme Cas9 coupe l'ADN au milieu de la séquence guide, écrire les séquences des bases azotées des deux extrémités générées (cinq par brin et par extrémité).

3.2.4. Expliquer pourquoi cette technique peut permettre d'améliorer les ferments lactiques.

PARTIE MICROBIOLOGIE (39 POINTS)

1. CARACTÉRISTIQUES DES FERMENTS LACTIQUES DU YAOURT

Le tableau de l'**annexe 4** présente plusieurs critères microbiologiques des ferments du yaourt.

1.1. Réaliser un schéma de l'ultrastructure de la paroi de ces deux types de bactéries.

1.2. Indiquer le test enzymatique à réaliser après la coloration de Gram dans une démarche d'identification des deux souches bactériennes.

1.3. Préciser la signification du terme « homofermentaire » et qualifier le comportement des deux souches bactériennes du ferment vis-à-vis de la température.

1.4. Définir l'expression « facteur de croissance » et illustrer par différents exemples. Préciser en le justifiant le type trophique des deux souches bactériennes vis-à-vis des facteurs de croissance.

1.5. Citer trois critères de sélection de ferments lactiques.

2. SUIVI DE CROISSANCE DES FERMENTS LACTIQUES

Les résultats du dénombrement de ferment de yaourt sont présentés en **annexe 5**.

2.1. Lister les différentes phases de croissance de *Lactobacillus bulgaricus*. Indiquer leur durée.

2.2. Déterminer le temps de génération pour *Lactobacillus bulgaricus*.

2.3. Analyser les courbes de croissance de l'annexe 5. Proposer une hypothèse concernant les interactions entre les deux souches.

2.4. Déterminer la concentration de bactéries (UFC•g⁻¹ de yaourt) en fin de fermentation et conclure sur la conformité du yaourt fabriqué.

3. CRISPR-CAS9 ET ACTIVITÉ DES FERMENTS LACTIQUES DU YAOURT

3.1. Résistance naturelle des bactéries vis-à-vis des phages grâce au système Crispr-Cas9

Chez les bactéries, Crispr est une région du génome qui a intégré des fragments d'ADN provenant des phages les ayant infectés. En cas de nouvelle infection phagique, les bactéries comparent l'ADN du virus à ces fragments. Si une séquence est reconnue, une enzyme (Cas9) guidée par un court fragment d'ARN, coupe l'ADN viral dans cette séquence, ce qui le détruit.

3.1.1. Définir le terme phage et expliquer les deux types d'infection phagique en nommant les types de phages concernés.

3.1.2. Préciser la conséquence possible de la présence de phages dans le lait lors de la fabrication de yaourt.

3.2. Amélioration des performances des ferments lactiques grâce au système Crispr-Cas9

Le génome d'une souche de *Streptococcus thermophilus* a été modifié afin de rendre la souche plus efficace.

L'**annexe 6** présente une expérience comparant la dépendance de la souche modifiée et de la souche native à différents facteurs de croissance.

Le tableau de l'**annexe 7** récapitule les caractéristiques cinétiques des deux souches.

3.2.1. Après avoir indiqué la composition et le rôle du témoin, analyser les résultats de cette expérience et conclure sur l'intérêt de la modification génomique de *Streptococcus thermophilus* grâce au système Crispr-Cas9.

3.2.2. Comparer les performances cinétiques de la souche native et de la souche modifiée de *Streptococcus thermophilus* grâce au système Crispr-Cas9.

PARTIE TOXICOLOGIE (21 POINTS)

Les ferments lactiques peuvent être utilisés pour lutter contre les mycotoxines telles que les aflatoxines.

1. POUVOIR TOXIQUE DES MYCOTOXINES

1.1. Définir le terme mycotoxine. Citer 2 types d'aliments concernés par la contamination aux mycotoxines. Nommer un genre microbien producteur de mycotoxine.

1.2. Certaines aflatoxines peuvent être mutagènes, tératogènes et cancérogènes. Définir ces trois termes.

1.3. Les aflatoxines sont métabolisées par diverses enzymes microsomiales et sont ensuite éliminées.

1.3.1. Décrire les deux étapes constituant la voie microsomiale. Préciser les voies d'élimination.

1.3.2. Lors de la métabolisation des aflatoxines, certains dérivés époxydes peuvent apparaître. Nommer ce phénomène, l'expliquer brièvement et indiquer les conséquences possibles pour l'organisme.

1.4. L'aflatoxine B1 a une DSE établie chez le rat à $0,63 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$, sa DJT dans les aliments est de $0,15 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$.

1.4.1. Définir DSE et DJT.

1.4.2. Expliquer la technique classique de détermination de la DJT. Préciser en justifiant si cette technique s'applique à l'aflatoxine B1. Proposer une explication.

2. UTILISATION DE FERMENTS LACTIQUES CONTRE LES MYCOTOXINES

Des études sont réalisées pour utiliser les ferments lactiques afin de détruire les mycotoxines ayant pu contaminer des aliments.

L'exemple de l'aflatoxine M1 est présenté en **annexe 8**.

2.1. Analyser la courbe témoin et proposer une hypothèse d'explication.

2.2. Préciser pourquoi certaines courbes sont incomplètes.

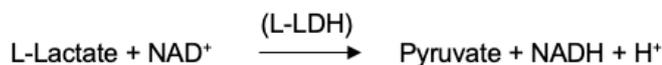
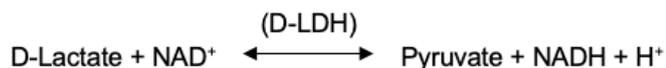
2.3. Analyser les résultats des laitsensemencés et conclure sur l'efficacité *in vitro* des ferments lactiques dans la destruction des mycotoxines.

2.4. Proposer une application *in vivo* de ces résultats.

ANNEXE 1 :

DOSAGE ENZYMATIQUE DE L'ACIDE LACTIQUE

Équations de réaction :



La quantité de NADH formé est mesurée par lecture de l'absorbance à 340 nm.

Réactifs :

Solution 1 : tampon

Suspension 2 : NAD⁺

Suspension 3 : D-glutamate pyruvate transaminase

Suspension 4 : L-lactate déshydrogénase

Suspension 5 : D-lactate déshydrogénase

Échantillon : yaourt

Mode opératoire :

Déposer dans les cuves :	Blanc (µL)	Échantillon (µL)
Eau désionisée	1600	1500
Échantillon	-	100
Solution 1	500	500
Solution 2	100	100
Suspension 3	20	20
Mélanger, lire l'absorbance A1 après environ 3 minutes et ajouter :		
Suspension 5	20	20
Suspension 4	20	20
Mélanger, lire l'absorbance A2 après environ 10 minutes.		

Résultats :

	Blanc	Échantillon
A1	0,101	0,103
A2	0,102	0,351

Données :

$$\Delta A = (A2_{\text{échantillon}} - A1_{\text{échantillon}}) - (A2_{\text{blanc}} - A1_{\text{blanc}})$$

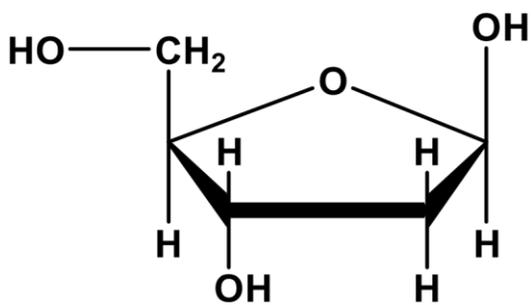
$$\epsilon_{(\text{NADH}, 340 \text{ nm})} = 6300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Dilution de l'échantillon :

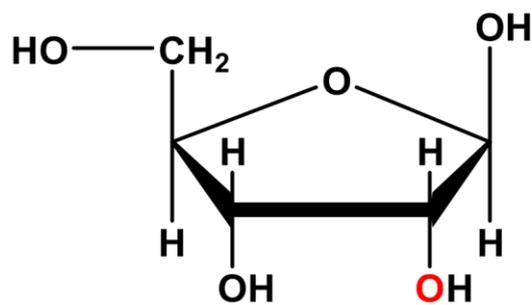
Concentration estimée d'acide lactique (g/L)	Facteur de dilution
<0,3	1
0,3 – 3	10
3 – 30	100
>30	1000

ANNEXE 2 :

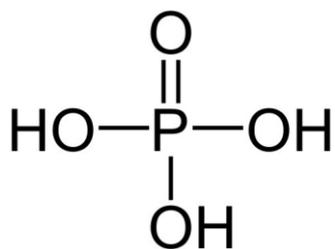
FORMULES MOLÉCULAIRES



Désoxyribose

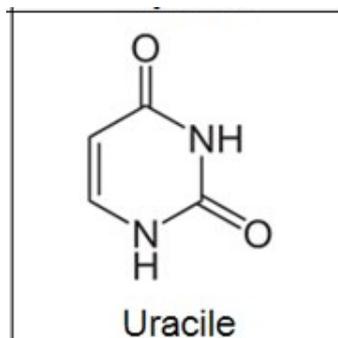
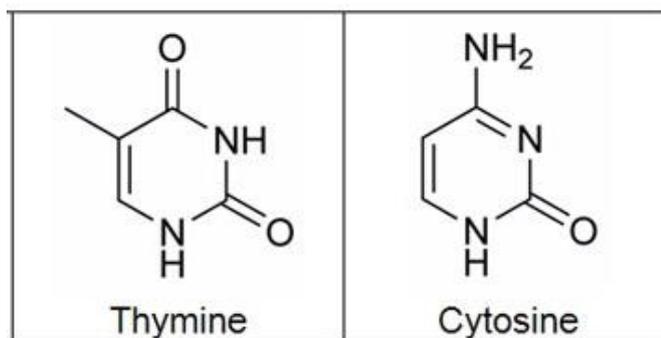
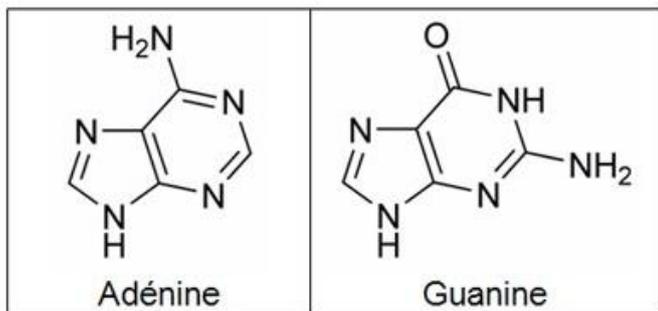


Ribose



Acide phosphorique

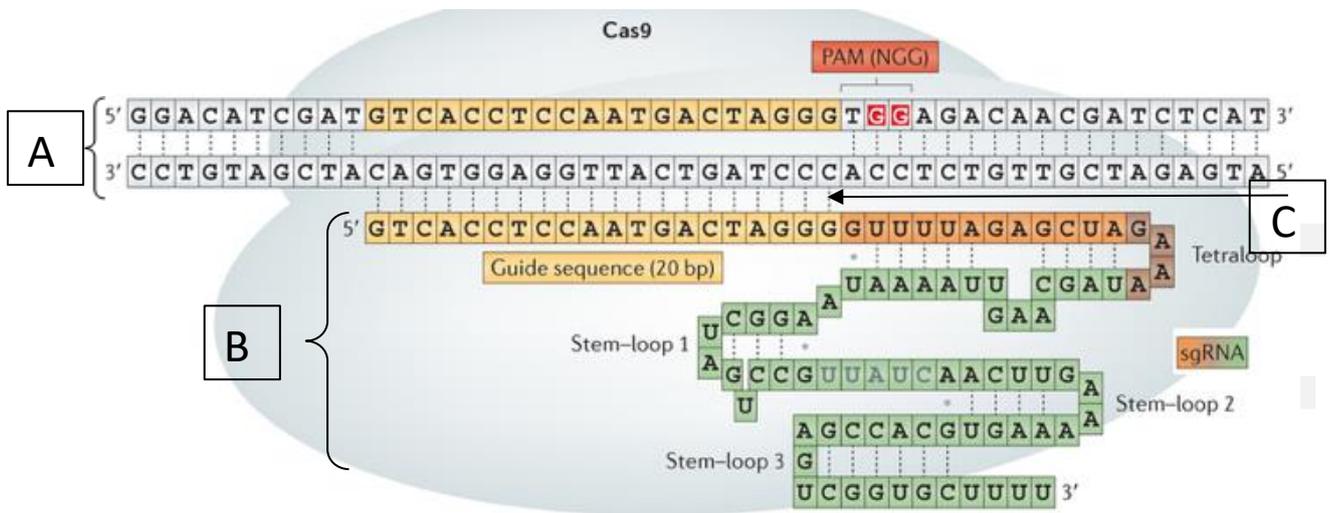
Bases azotées :



ANNEXE 3 :

SCHÉMA SYNTHÉTIQUE DU SYSTÈME CRISPR-CAS9

Source : Adapté de Kim et Kim. *A guide to genome engineering with programmable nucleases.*
Nature Reviews Genetics, 2014, 15.5, 321-34



ANNEXE 4 :

CRITÈRES MICROBIOLOGIQUES DES FERMENTS DU YAOURT

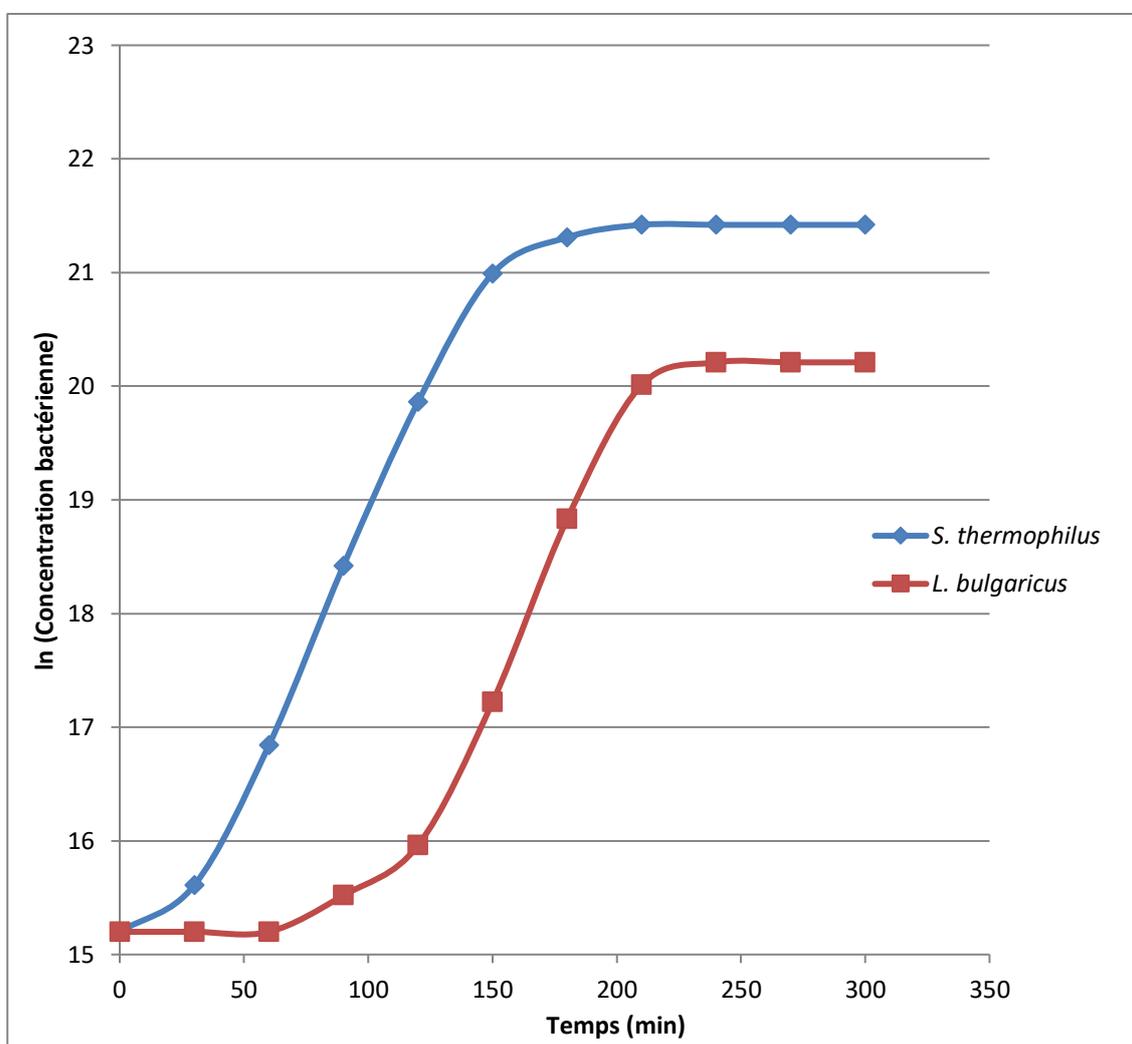
	Morphologie	Type de métabolisme	Température optimale de croissance	Croissance en absence de facteurs de croissance	Sensibilité aux β -lactamines
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Coques Gram+	Homofermentaire	45 °C	Non	Oui
<i>Lactobacillus delbrueckii sbsp bulgaricus</i>	Bacilles Gram+	Homofermentaire	45 °C	Non	Oui

ANNEXE 5 :

DÉNOMBREMENT DE FERMENTS DE YAOURT

Temps (min)	ln (concentration bactérienne en UFC•g ⁻¹)	
	<i>S. thermophilus</i>	<i>L. bulgaricus</i>
0	15,20	15,20
30	15,61	15,20
60	16,84	15,20
90	18,42	15,52
120	19,86	15,96
150	20,99	17,22
180	21,31	18,83
210	21,42	20,01
240	21,42	20,21
270	21,42	20,21
300	21,42	20,21

SUIVI DE CROISSANCE DES FERMENTS LACTIQUES



ANNEXE 6 :

DÉPENDANCE DES SOUCHES ÉTUDIÉES VIS-À-VIS DE DIFFÉRENTS FACTEURS DE CROISSANCE

Mode opératoire :

Deux boîtes de gélose exempte de facteurs de croissance sontensemencées, la première avec la souche native de *Streptococcus thermophilus* et la deuxième par la souche modifiée grâce à Crispr-Cas9.

Trois disques sont déposés à la surface de la gélose :

- un témoin,
- un disque imprégné du facteur de croissance 1,
- un disque imprégné du facteur de croissance 2,
- un disque imprégné du mélange des facteurs de croissance 1 et 2.

Résultats :

Les diamètres des zones de croissance (en mm) sont indiqués dans le tableau :

	Boîte <i>Streptococcus thermophilus</i> native	Boîte <i>Streptococcus thermophilus</i> Modifiée (Crispr-Cas9)
Témoin	0	0
Disque Facteur de croissance 1	0	20
Disque Facteur de croissance 2	0	0
Disque mélange de facteurs croissance 1 et 2	20	30

ANNEXE 7 :

CARACTÉRISTIQUES CINÉTIQUES DES SOUCHES BACTÉRIENNES ÉTUDIÉES

	Souche <i>Streptococcus thermophilus</i> native	Souche <i>Streptococcus thermophilus</i> modifiée (Crispr-Cas9)
Temps de génération (min)	30	13
Productivité (UFC•g ⁻¹ •min ⁻¹)	6.10 ⁶	6.10 ⁷

ANNEXE 8 :

INFLUENCE DES SOUCHES ÉTUDIÉES SUR L'ÉLIMINATION DE L'AFLATOXINE EN COURS DE FERMENTATION

Mode opératoire :

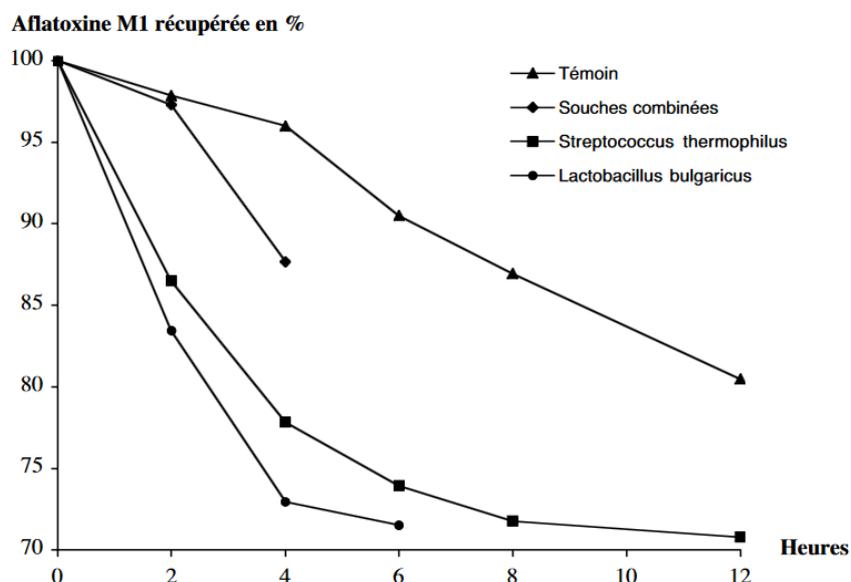
Des laits sont contaminés avec une solution d'aflatoxine M1, ils sont ensuiteensemencés soit avec *Lactobacillus bulgaricus*, soit avec *Streptococcus thermophilus*, soit avec les deux souches combinées. Un témoin sans ensemencement est également réalisé. L'ensemble est incubé à 44 °C.

Afin de suivre l'évolution de la concentration en aflatoxine M1 au cours des différentes fermentations, des prélèvements sont réalisés à des intervalles de temps réguliers. L'incubation est arrêtée lorsque l'acidité Dornic du mélange atteint 90 °D, valeur obtenue après 6 h pour *Lactobacillus bulgaricus* et 4 h pour les deux souches combinées.

L'aflatoxine résiduelle est ensuite extraite, purifiée et dosée par chromatographie haute performance.

L'efficacité de l'extraction diminue avec la durée de contact entre l'aflatoxine et les protéines du milieu.

Résultats :

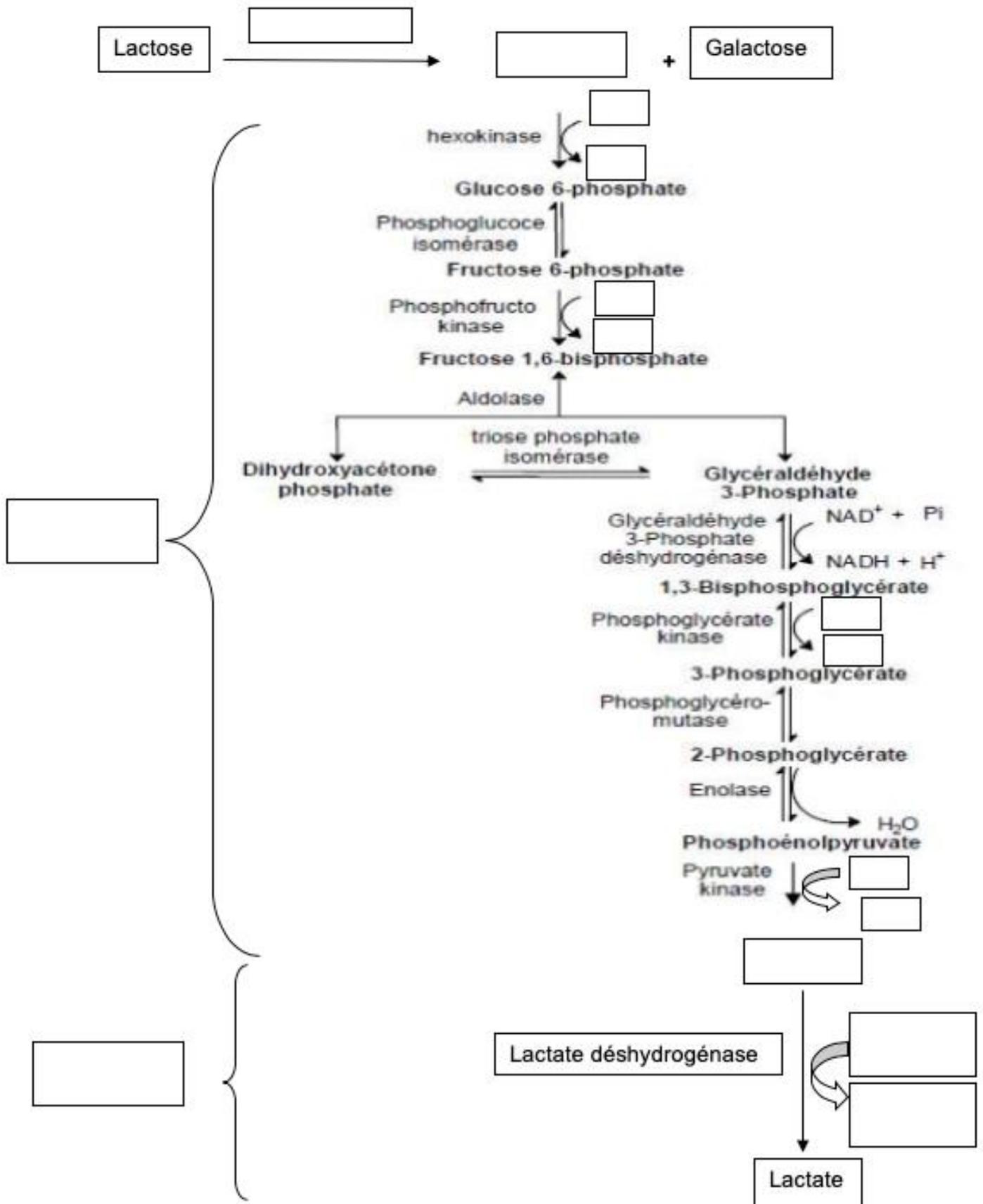


Effet de deux bactéries lactiques en cultures pures ou combinées sur l'évolution de la concentration d'aflatoxine M1 d'un lait contaminé.

Source : M. KHADDOR et al. Destruction de l'aflatoxine M1 par les bactéries lactiques du Lben marocain et du yaourt. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2003, 142, 101-112.

ANNEXE A :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE



Durée : 4 heures Coefficient : 5

Calculatrice interdite

ÉTUDE D'UN CAFÉ GOURMAND

Cette formule de fin de repas qui associe café et assortiment de mini-desserts est de plus en plus proposée par les restaurateurs.

PREMIÈRE PARTIE : SCIENCES DES ALIMENTS (50 POINTS)

Le café servi est accompagné, entre autre, d'un mini-cannelé, d'une verrine de mousse au chocolat et d'un sorbet citron.

1. CAFÉ BOISSON (10 points)

Après récolte, les cerises de caféier sont travaillées afin d'isoler les grains.

L'**annexe 1** présente le diagramme de fabrication du café vert par voie humide. Cette technique est généralement utilisée pour la variété « Arabica ».

1.1. Expliquer le but des étapes de dépulpage, démucilagination et déparchage.

La démucilagination peut se faire par fermentation naturelle.

1.2. Nommer les deux principales enzymes impliquées dans la démucilagination.

1.3. Présenter un avantage et un inconvénient de cette technique par rapport à un traitement mécanique.

1.4. Le café vert obtenu après déparchage est ensuite torréfié.

Nommer et décrire ce procédé. Présenter les principales modifications subies par le grain de café.

2. MINI-CANNELÉ (19 points)

Le mini-cannelé est une spécialité pâtissière caractérisée par son intérieur moelleux et son extérieur croustillant et légèrement caramélisé.

Les ingrédients classiquement utilisés sont les suivants :

- des œufs entiers,
- des jaunes d'œufs,
- de la farine extra-fine,
- du lait demi-écrémé,
- du beurre extra-fin,
- des gousses de vanille,
- du rhum.

L'**annexe 2** rappelle certains éléments comparatifs des différentes parties de l'œuf.

2.1. Préciser la principale protéine retrouvée dans le blanc et dans le jaune d'œuf.

2.2. Le blanc d'œuf peut être assimilé à une solution colloïdale et le jaune plutôt à une émulsion. Présenter les différents constituants biochimiques responsables de ces caractéristiques.

2.3. Comparer les propriétés technologiques du blanc et du jaune d'œuf.

2.4. Le sucre participe aux deux textures du mini-cannelé. Préciser un rôle du sucre dans le moelleux du cœur et un rôle dans le croustillant de l'enveloppe.

2.5. Après repos, la pâte est mise en moule et la cuisson se fait en deux temps : 5 minutes à 240 °C, puis 1 heure à 180 °C. Justifier l'importance de ce protocole de cuisson pour l'obtention du produit final. Préciser les phénomènes biochimiques principaux qui se déroulent pendant ces deux étapes.

2.6. Exposer deux phénomènes responsables de la perte de croustillant en surface au-delà de 4-5 jours.

3. VERRINE DE MOUSSE AU CHOCOLAT (9 points)

Cette mousse est préparée à partir des constituants présentés en **annexe 3**.

3.1. Contrairement à une mousse traditionnelle, cette préparation contient des stabilisants. Citer deux constituants assurant cette fonction. Préciser pour chacun son rôle et son origine.

3.2. Présenter un exemple d'amidon modifié. Justifier son utilisation dans cette fabrication.

3.3. Expliquer succinctement le mode d'obtention du beurre de cacao en complétant le diagramme de fabrication de l'**annexe A**.

4. BOULE DE SORBET AU CITRON (12 points)

4.1. La fabrication industrielle du sorbet met en jeu différentes étapes présentées ci-après dans le désordre : surgélation, foisonnement, fabrication du mix, maturation, pasteurisation.

Construire un diagramme simplifié de fabrication reprenant les différentes étapes listées. Préciser l'intérêt des étapes de pasteurisation, foisonnement et surgélation.

4.2. Le Code des pratiques loyales élaboré par les professionnels impose pour les sorbets aux fruits un poids minimum de 450 grammes par litre. Préciser l'étape de la fabrication déterminante pour le respect de ce critère. Justifier la réponse.

4.3. La composition du sorbet citron fait apparaître en faible quantité des gélifiants (pectine, gomme xanthane, gomme tara). Expliquer le rôle technologique de ces gélifiants dans la fabrication du sorbet.

4.4. Le produit fini subit un certain nombre de contrôles qualité. Donner pour chacun des contrôles physique, chimique et microbiologique, un exemple pertinent pour ce type de produit.

DEUXIÈME PARTIE : GÉNIE INDUSTRIEL (50 POINTS)

1. CRISTALLISATION (10 points)

L'opération unitaire de cristallisation intervient dans le diagramme de fabrication de différents types de produits retrouvés dans un café gourmand, comme le chocolat et le sucre.

1.1. Identifier dans le chocolat et le sucre, les molécules qui composent les cristaux.

1.2. Décrire comment est initiée la cristallisation du sucre et comment est assurée la croissance des cristaux. Expliquer l'étape de tempérage du chocolat.

La cristallisation peut également intervenir dans d'autres contextes comme la surgélation ou la lyophilisation.

1.3. Présenter le principe de réalisation de ces deux techniques en développant le rôle que joue la cristallisation dans chaque cas.

2. ÉVAPORATION (15 points)

Avant la cristallisation, le jus sucré subit une étape d'évaporation qui est généralement réalisée dans une installation à multiples effets.

2.1. Modélisation d'une évaporation à double effet

2.1.1. Un schéma correspondant à une évaporation double effet est présenté en annexe B. Le compléter en explicitant précisément chacun des flux et en reliant correctement les deux effets.

2.1.2. Écrire les équations littérales des différents bilans matières qui permettent de caractériser le premier effet.

2.2. Considérations pratiques concernant l'installation multiple à effet

2.2.1. L'évaporation à multiple effet entraîne des coûts d'investissement et de fonctionnement pour l'industriel. Expliquer les conséquences de l'augmentation du nombre d'effets sur ces coûts.

2.2.2. En dehors de l'aspect financier, l'opération elle-même et le produit traité entraînent des limites liées au nombre d'effets. Expliquer la limite liée à la température concernant le premier effet. Pour obtenir un écoulement correct au niveau du dernier effet, la température doit être supérieure à 40 °C. Justifier.

2.2.3. Indiquer comment évolue la pression au cours des effets successifs et justifier cette évolution d'un point de vue technique.

3. EXTRACTIONS RÉALISÉES SUR LE CAFÉ (15 points)

Pour produire du café soluble, il est nécessaire de réaliser une extraction par l'eau chaude sur les grains de café moulu. Si l'on souhaite que le café soit décaféiné, il faut auparavant extraire la caféine des grains de café avec un solvant hydrophobe tel que le chlorure de méthylène, le trichloroéthylène ou le CO₂ supercritique.

3.1. Décaféination du café par le dioxyde de carbone supercritique (CO₂ supercritique)

3.1.1. Du point de vue de l'industriel et du point de vue du consommateur, donner les avantages du CO₂ supercritique par rapport aux autres solvants hydrophobes.

3.1.2. La succession des opérations réalisées lors de l'extraction et du recyclage du CO₂ supercritique est présentée en **annexe 4**. A l'aide de ce document, compléter le diagramme d'état du CO₂ fourni en **annexe C**.

3.2. Extraction du café par l'eau chaude

3.2.1. Le sens de circulation du solvant (eau) au contact du café peut se faire de deux façons. Citer les deux techniques et justifier leurs avantages et leurs inconvénients.

L'extraction des grains de café moulu produit donc l'extrait liquide de café souhaité ainsi que du marc de café encore gorgé d'eau. Pour pouvoir valoriser ce marc de café, il est nécessaire de le déshydrater, ce qui peut être réalisé à l'aide d'une presse à bandes.

3.2.2. Indiquer sur la copie les repères A, B, C, D et E du schéma fourni en **annexe 5** et les annoter.

3.2.3. Expliquer succinctement le principe de fonctionnement de cet appareil.

4. FILTRATION FRONTALE (10 points)

Dans le procédé de fabrication du sucre, le jus sucré obtenu par extraction à l'eau chaude sur les cossettes de betteraves doit subir une étape de filtration frontale pour retirer les particules avant évaporation.

4.1. En vous aidant du diagramme fourni en **annexe 6**, situer le domaine d'utilisation de la filtration frontale en justifiant la réponse en fonction de la taille des particules et de la charge.

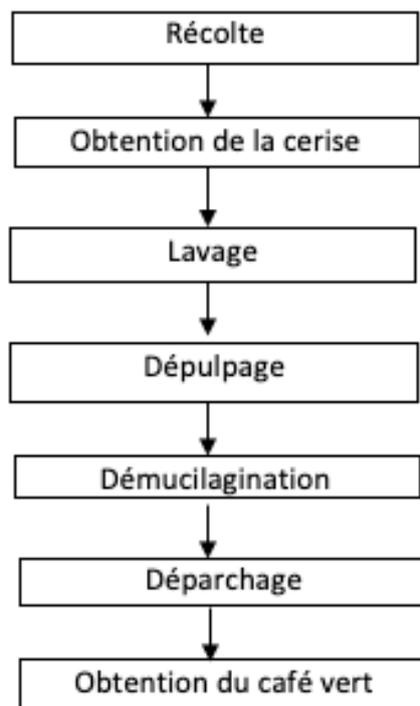
Lors d'une filtration frontale, l'opération se déroule généralement en deux temps en fonction des débits et pertes de charges imposés.

4.2. Représenter l'évolution du débit et de la perte de charge en fonction du temps. Justifier la succession des deux phases distinctes.

4.3. La filtration frontale peut être réalisée « dans la masse » ou « sur gâteau ». Définir chacune des deux expressions. Expliquer dans quel cas est préférée une filtration « dans la masse » et dans quel cas est préférée une filtration « sur gâteau ».

ANNEXE 1 :

DIAGRAMME DE FABRICATION DU CAFÉ VERT PAR VOIE HUMIDE



ANNEXE 2 :

ÉTUDE COMPARATIVE DES DIFFÉRENTES PARTIES DE L'ŒUF

		Œuf entier	Blanc	Jaune
Poids (g) avec coquille		58	33	18
Partie comestible	Eau (%)	74,1	87,3	50
	Protides (%)	12,9	11,1	16,1
	Lipides (%)	11,2	0,2	31,9
	Glucides (%)	0,7	0,7	0,3
	Minéraux (%)	1,1	0,7	1,7

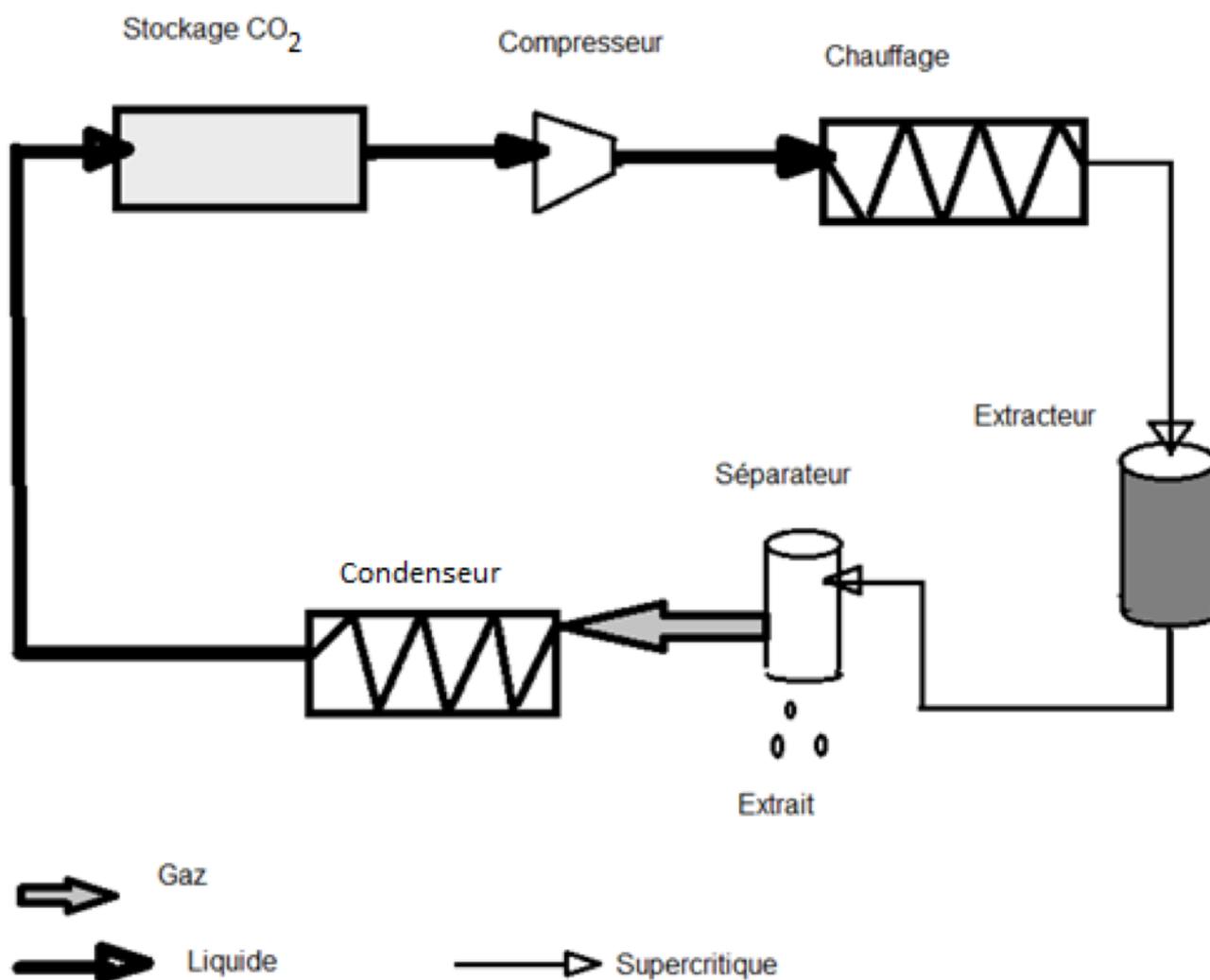
ANNEXE 3 :

COMPOSITION DE LA MOUSSE AU CHOCOLAT NOIR

Constituants	Lait écrémé, sucre, chocolat 4 % (cacao, sucre, beurre de cacao, émulsifiant : lécithine de soja, arôme), crème, chocolat en poudre (cacao, sucre), lait écrémé en poudre, beurre, matières grasses végétales hydrogénées, caramel (eau, sucre), gélatine de porc, esters lactiques de mono et diglycérides (E472), amidon modifié, alginates (E401), carraghénanes (E407), hydroxyde de sodium (E524). (Traces éventuelles de fruits à coques)
--------------	--

ANNEXE 4 :

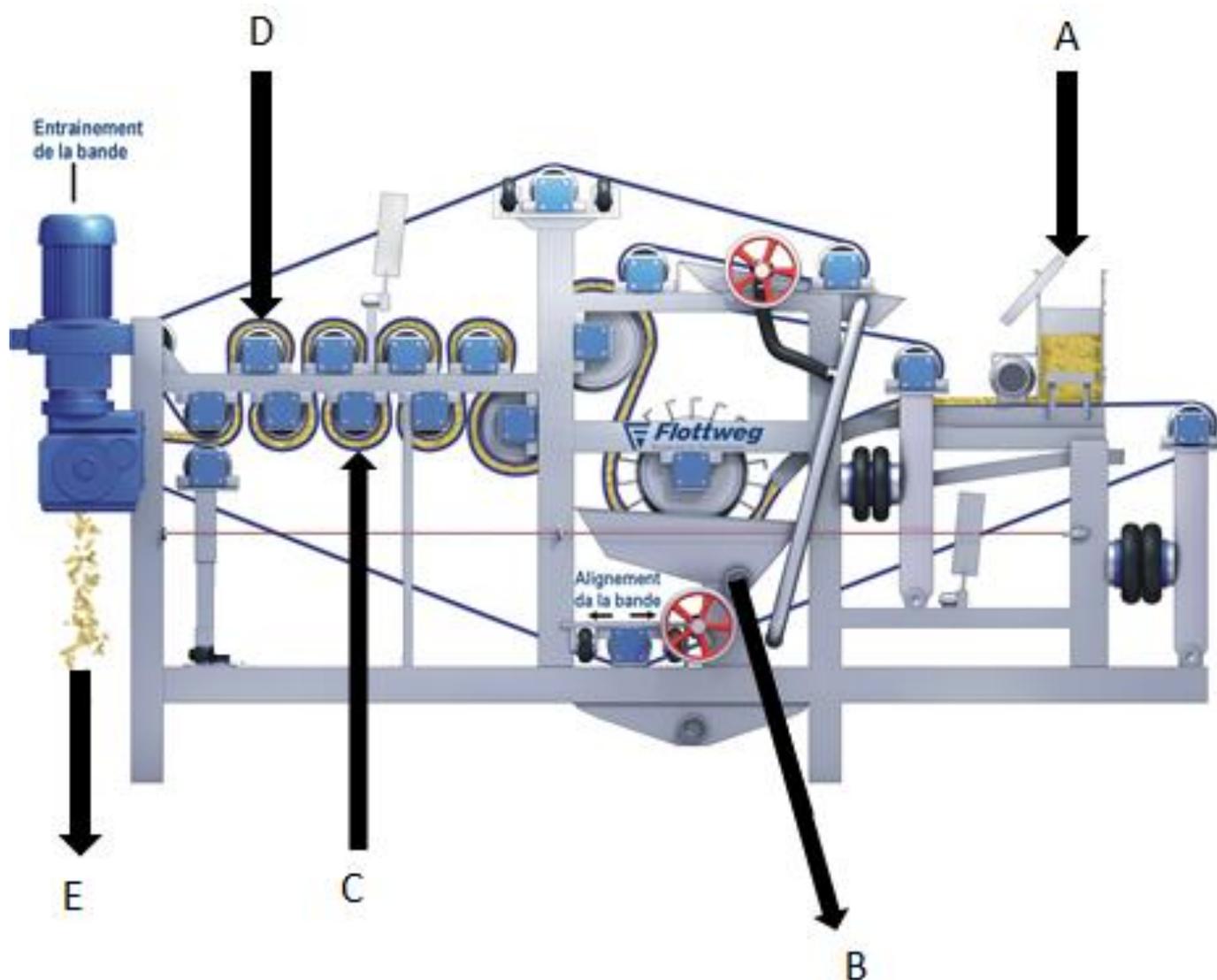
SCHÉMA DE PRINCIPE D'EXTRACTION PAR CO₂ SUPERCRITIQUE



D'après une source du fabricant « HITTEX ».

ANNEXE 5 :

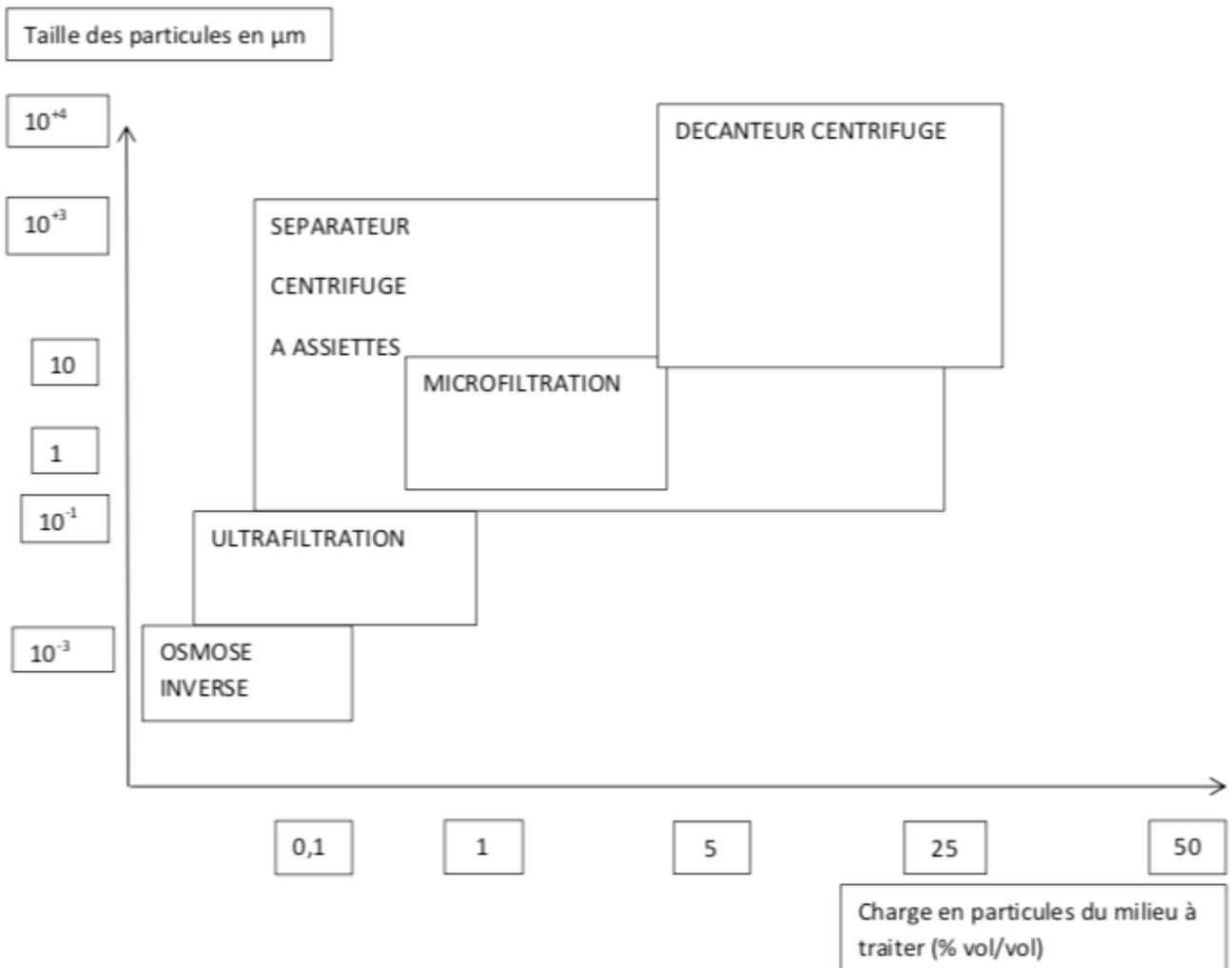
SCHÉMA DE FONCTIONNEMENT DE LA PRESSE A BANDES FLOTTWEG



D'après une source du fabricant « Flottweg ».

ANNEXE 6 :

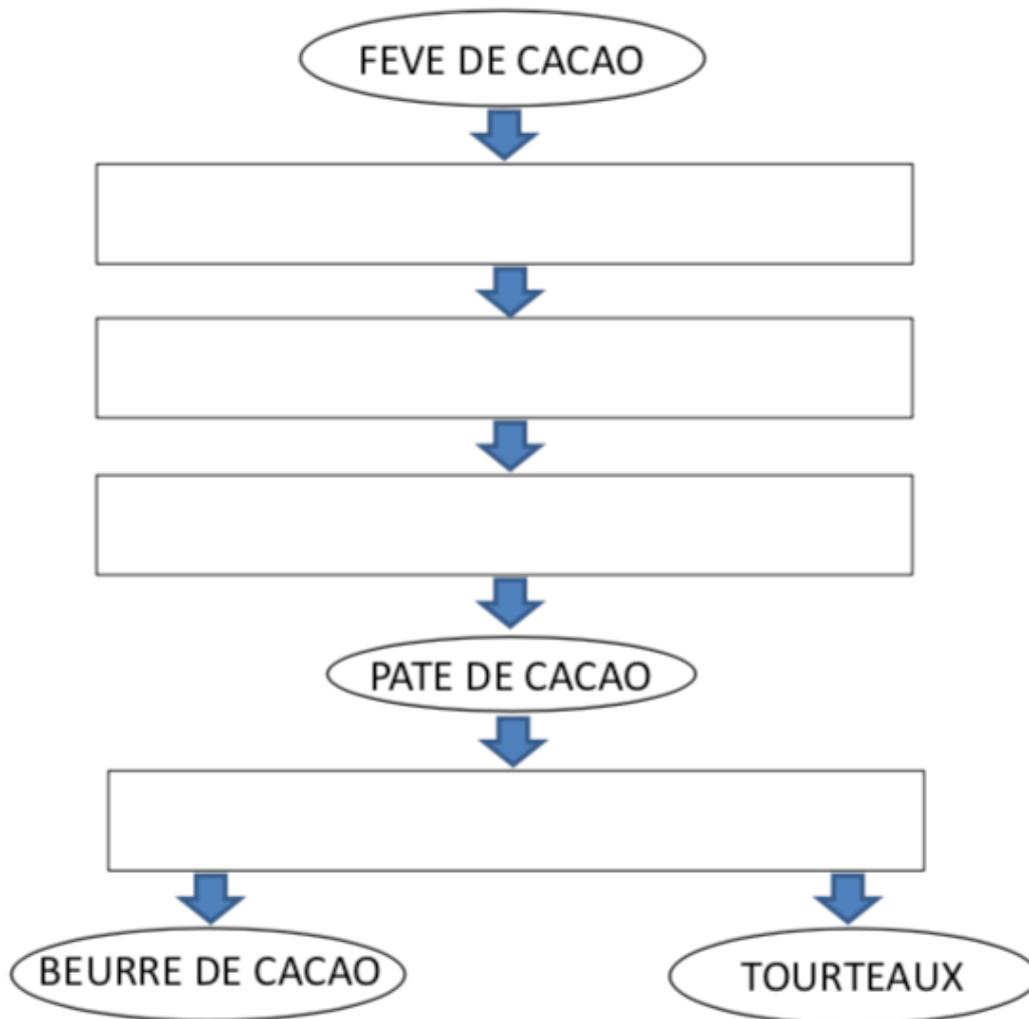
DOMAINES D'UTILISATION DES TECHNIQUES DE SÉPARATION EN FONCTION DE LA TAILLE DES PARTICULES ET DE LA CHARGE EN PARTICULES



D'après une source des techniques de l'ingénieur

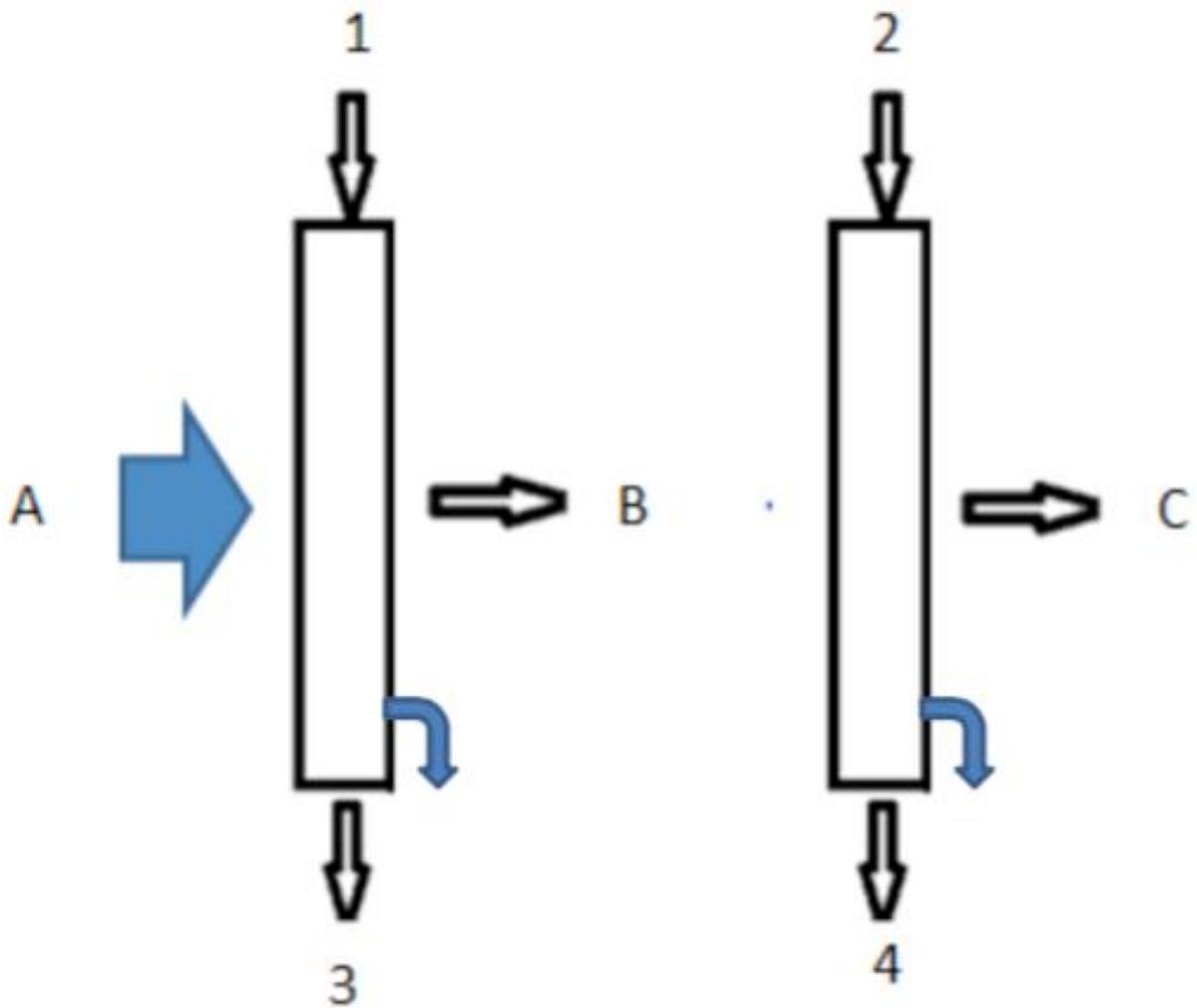
ANNEXE A :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE



ANNEXE B :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE



1 :

2 :

3 :

4 :

A :

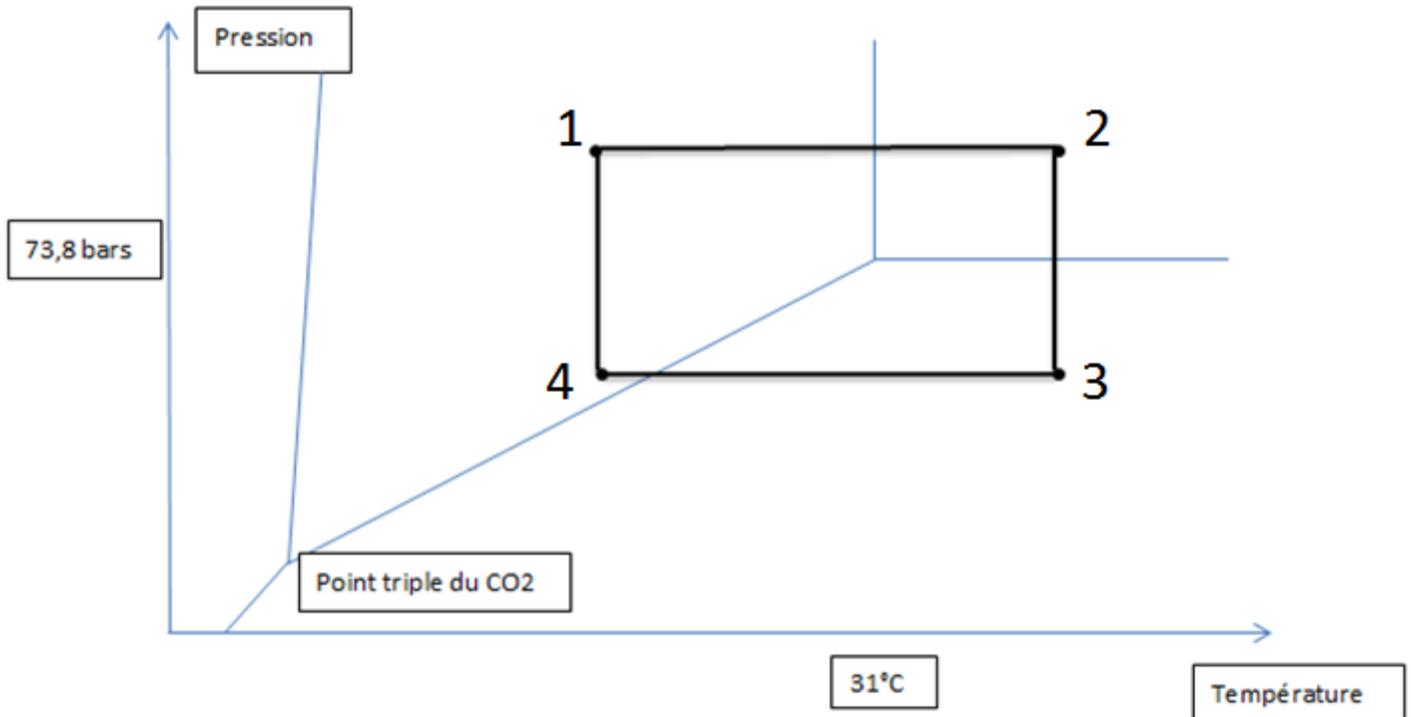
B :

C :

ANNEXE C :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

DIAGRAMME D'ÉTAT DU CO₂ SUPERCRITIQUE



État de la matière au point :

- 1 :
- 2 :
- 3 :
- 4 :

Replacer les termes suivants : Chauffage, Compresseur, Extracteur, Condenseur

- Passage du point 1 au point 2 :
- Passage du point 2 au point 3 :
- Passage du point 3 au point 4 :
- Passage du point 4 au point 1 :

CONTRÔLES QUALITÉ DANS UNE BEURRERIE

Premier jour : 4 heures 30

La beurrerie « Beurrallie » est spécialisée dans la fabrication de beurres. L'usine transforme annuellement 100 millions de litres de crème et génère 50 mille tonnes de produits finis : beurre cru, beurre extra-fin et fin, beurre concentré et de cuisine, beurre salé et demi-sel, beurre allégé, beurre clarifié, ...

Dans le cadre du contrôle des matières premières, du suivi de production des produits finis, ainsi que de l'hygiène des locaux, le responsable du laboratoire interne de l'entreprise propose d'effectuer les vérifications suivantes :

- la qualité microbiologique d'une crème,
- le contrôle de l'air du laboratoire interne,
- la conformité de la teneur en sel du beurre demi-sel,
- la détermination de la teneur en cholestérol dans un beurre,
- la conformité de composition d'un beurre clarifié.

1. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Des crèmes de mauvaise qualité et donc exclues de la fabrication de beurre cru sont contaminées par une flore microbienne psychrotrophe, sécrétant des lipases actives à basses températures. Les lipases provoquent l'hydrolyse des triglycérides et leur oxydation, générant des goûts et odeurs de rance.

Il est donc nécessaire de dénombrer la flore lipolytique constituée principalement du genre *Pseudomonas*. Les crèmes contenant plus de 10^4 UFC \cdot mL $^{-1}$ de *Pseudomonas* seront exclues de la fabrication.

1.1. Dénombrement des *Pseudomonas* en milieu solide dans une crème

1.1.1. Réalisation pratique

À l'aide de la fiche technique 1, déterminer les dilutions décimales à réaliser puis procéder au dénombrement de la crème notée « X + n° de poste » permettant de conclure à sa conformité pour la fabrication de beurre cru.

Montrer la réalisation de 2 dilutions successives à un examinateur.

1.1.2. Exploitation des résultats

Q1. Justifier les dilutionsensemencées.

1.2. Mise en évidence de l'activité lipolytique de souches isolées d'une crème

1.2.1. Réalisation pratique

À partir de la fiche technique 2, rechercher le pouvoir lipolytique des souches isolées d'une crème, notées « SA », « SB » et « SC » + n° de poste.

Réaliser un témoin négatif et un témoin positif.

Montrer à un examinateur l'imprégnation et l'ajout du disque de tributyrine pour un des tubes réalisés.

1.2.2. Exploitation des résultats

Q2. Préciser la composition des témoins. Indiquer et justifier leurs aspects attendus après incubation.

1.3. Contrôle de l'air du laboratoire

Dans le cadre des contrôles hebdomadaires d'hygiène des locaux, des contrôles de la charge microbienne de l'air du laboratoire sont réalisés. Les résultats sont présentés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : résultats de l'analyse de l'air des 4 semaines précédentes, après 5 jours d'incubation à 30 °C.

PNC / boîte	Semaine S-4	Semaine S-3	Semaine S-2	Semaine S-1
Aspect moisissure	2	1	10	25
Aspect bactérie	6	8	4	5

(PNC particule donnant naissance à colonie)

A l'aide de la fiche technique 3, réaliser un prélèvement d'air par sédimentation.

2. ANALYSES BIOCHIMIQUES

2.1. Détermination de la teneur en chlorure de sodium dans un beurre par la méthode de Fajans

La teneur en sel (chlorure de sodium NaCl) permet de déterminer la catégorie à laquelle appartient le beurre analysé. Elle est exprimée en m/m ou en % :

- beurre salé (≥ 2 %),
- beurre demi-sel (entre 0,5 et 2 %),
- beurre doux ($< 0,5$ %).

Le laboratoire est chargé de contrôler la teneur en sel dans un beurre demi-sel.

2.1.1. Réalisation pratique

A l'aide de la fiche technique 4, réaliser le dosage volumétrique des chlorures après les avoir extraits du beurre.

Montrer à un examinateur :

- la pesée du beurre,
- la récupération de la phase aqueuse dans la fiole,
- le prélèvement de l'extrait B ainsi obtenu,
- la chute de burette.

2.1.2. Exploitation des résultats

Q3. Compléter le document A.

Q4. Une solution de contrôle de chlorure de sodium a été dosée dans les mêmes conditions. Le résultat de mesure est le suivant : $\rho_{(\text{NaCl}; \text{solution contrôle})} = 0,956 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Grâce à l'**annexe métrologie pages 7 et 8**, vérifier l'exactitude de la mesure.

Q5. Déterminer la concentration massique en chlorure de sodium dans l'extrait B (équation aux grandeurs, équation aux unités et équation aux valeurs numériques).

Q6. Déterminer la teneur en chlorure de sodium dans le beurre (équation aux grandeurs, équation aux unités et équation aux valeurs numériques). Exprimer le résultat grâce à l'**annexe métrologie pages 7 et 8**.

Q7. Conclure quant à la conformité du produit.

2.2. Détermination de la teneur en cholestérol dans le beurre

La société « Beurralie » produit également du beurre allégé en cholestérol. D'après le cahier des charges, le procédé utilisé pour alléger le beurre doit entraîner une diminution de 90 % du cholestérol présent dans le beurre.

En dosant le cholestérol dans le beurre allégé et dans le beurre avant extraction, le laboratoire souhaite vérifier l'efficacité du procédé utilisé.

2.2.1. Réalisation pratique

A l'aide de la fiche technique 5, réaliser le dosage du cholestérol dans la solution contrôle et dans les extraits C1 (extrait contenant le cholestérol du beurre) et C2 (extrait contenant le cholestérol du beurre allégé).

Montrer les mesures d'absorbance à un examinateur.

2.2.2. Exploitation des résultats

- Q8.** Compléter la feuille de résultats du document A.
- Q9.** Déterminer la concentration massique en cholestérol dans la solution de contrôle (équation aux grandeurs, équation aux unités et équation aux valeurs numériques). Vérifier l'exactitude grâce à l'**annexe métrologie pages 7 et 8**.
- Q10.** Déterminer la concentration massique en cholestérol dans les extraits C1 et C2 (équation aux grandeurs, équation aux unités et équation aux valeurs numériques).
- Q11.** Déterminer la teneur en cholestérol dans le beurre et le beurre allégé en g de cholestérol pour 100 g de beurre (équation aux grandeurs, équation aux unités et équation aux valeurs numériques). Exprimer la teneur en cholestérol dans chaque extrait grâce à l'**annexe métrologie pages 7 et 8**.
- Q12.** Calculer le pourcentage d'extraction et conclure sur l'efficacité du procédé d'élimination du cholestérol.

3. ANALYSE IMMUNOLOGIQUE

La société « Beurralie » produit du beurre clarifié liquide.

Le beurre clarifié présente l'avantage de pouvoir être chauffé sans être le siège de réactions de Maillard entre protéines et glucides, à l'origine de composés toxiques. D'autre part, le beurre clarifié, ne contenant plus de protéines de lait ou de lactose, peut être consommé par les personnes intolérantes au lactose ou allergiques aux protéines de lait.

Le service qualité doit donc contrôler que l'étape de filtration est efficace et que le beurre clarifié de l'entreprise ne contient plus de caséine.

3.1. Réalisation pratique

A l'aide de la fiche technique 6, rechercher la présence de caséine dans des échantillons de beurre clarifié provenant des fabrications du lundi, mardi, mercredi et jeudi.

Montrer à un examinateur le dépôt de la solution de caséine dans la cupule 1.

Montrer la barrette à un examinateur dans les 5 minutes qui suivent la fin du test.

3.2. Exploitation des résultats

Q13. Dans le tableau 1 du document B, schématiser les interactions entre molécules au cours des différentes étapes de la manipulation pour les cupules 1 et 4. Préciser le rôle de chaque lavage.

En déduire le type de réaction immuno-enzymatique employé.

Q14. Préciser le rôle des cupules 1 et 4, puis justifier les résultats attendus pour les cupules 2 et 3.

Q15. Compléter le tableau 2 de résultats sur le document B et conclure pour chaque échantillon.

BARÈME

Analyses microbiologiques	21 points
Analyses biochimiques	22 points
Analyse immunologique	8 points
Compétences transversales	9 points

DOSSIER TECHNIQUE

DOCUMENTS

Fiche technique 1 : Dénombrement des *Pseudomonas* en milieu solide

Fiche technique 2 : Mise en évidence de l'activité lipolytique

Fiche technique 3 : Prélèvement de l'air par sédimentation

Fiche technique 4 : Dosage des chlorures par la méthode de Fajans

Fiche technique 5 : Dosage du cholestérol par méthode enzymatique

Fiche technique 6 : Recherche de caséine par réaction immuno-enzymatique

1. Principe

Les microorganismes de l'inoculum sont introduits en surface d'un milieu RHAPSODY Agar® (fiche technique fournie en jour 2). Chaque microorganisme vivant donnera donc une colonie visible après étuvage. Le nombre total de colonies sera égal au nombre total de microorganismes présents dans l'inoculum.

2. Matériel et réactifs

Crème à analyser « X + n° de poste »

3 géloses RHAPSODY Agar®

3 tubes de 9 mL d'eau physiologique stérile

4 pipettes de 1 mL stériles ou équivalent

Billes ou étaleurs stériles

3. Mode opératoire

Dénombrer en surface 3 dilutions successives en simple essai et incuber les boîtes à 30 °C pendant 24 h.

1. Principe

L'activité lipolytique bactérienne est liée à la présence de lipases. Les lipases hydrolysent les triglycérides en glycérol et en acide gras. Les acides gras libérés acidifient le milieu. L'acidification est mise en évidence par le virage d'un indicateur de pH.

2. Matériel et réactifs

Souches bactériennes à tester présentées sur GN inclinées notées « SA », « SB » et « SC » + n° de poste

Souche bactérienne Lipase + présentée sur GN inclinée notée « S lipase + »

1 tube de 9 mL d'eau physiologique stérile

2 mL de tributyrine neutre

1 mL de solution de rouge de phénol

1 tube Mac Farland 2

5 tubes à hémolyse

1 pipette graduée stérile de 1 mL

5 disques de papier

2 pipettes compte-gouttes

1 pince stérile

3. Mode opératoire

Réaliser une suspension dense (d'opacité Mac Farland > 2) de chaque souche à tester dans 1 mL d'eau physiologique stérile.

Imprégner un disque de papier d'une goutte de tributyrine.

Ajouter le disque de tributyrine dans la suspension, puis ajouter 1 goutte de rouge de phénol.

Incuber à 37 °C pendant 24 h.

1. Principe

Les particules, supports des microorganismes de l'air, se déposent par sédimentation sur un milieu gélosé. Après incubation, on dénombre les particules donnant naissance à colonie (PNC).

2. Matériel

Gélose PCA notée « PCA »

Étuve à 30 °C

3. Mode opératoire

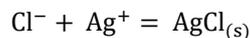
Ouvrir une boîte de gélose PCA (Plate Count Agar) pendant 30 minutes à environ 1 m du poste de travail.

Refermer la boîte.

Incuber 24 h à 30 °C.

1. Principe

Les ions chlorures ont la propriété de former un précipité blanc en présence d'ion Ag^+ selon la réaction :



Cette méthode, utilisant comme indicateur la fluorescéine, a été mise au point par Fajans. La fluorescéine est vert-jaune en présence d'ions chlorure et rose-rouge en présence d'ions argent.

Il est nécessaire d'extraire les chlorures du beurre avant le dosage.

2. Matériels

Fiole jaugée de 200 mL

Béchers 200 mL

Ampoule à décanter + support

Pipette jaugée de 10 mL

2 fioles d'Erlenmeyer de 250 mL

Burette

Plaque chauffante et cristalliseur

3. Réactifs

Beurre à analyser

Solution de nitrate d'argent à $0,0100 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

Indicateur : Fluorescéine

4. Mode opératoire

Extraction de chlorures du beurre salé

Les ions chlorures sont très solubles dans l'eau ; ils peuvent être extraits du beurre en présence d'eau déminéralisée chaude selon le protocole ci-dessous.

Faire chauffer de l'eau déminéralisée dans un bécher de 200 mL.

Peser une masse de beurre voisine de $m = 5,00$ g directement dans un bécher de 100 mL.

Ajouter 50 mL d'eau déminéralisée chaude afin de faire fondre le beurre.

Transvaser dans une ampoule à décanter.

Réaliser successivement 3 fois les étapes suivantes :

- mélanger en agitant ;
- ouvrir le robinet pour faire baisser la pression et laisser décanter 5 minutes ;
- récupérer la phase aqueuse dans une fiole de 200 mL.

Ajuster à 200 mL avec de l'eau déminéralisée.

Le contenu de la fiole constitue **l'extrait B**.

Dosage des chlorures de l'extrait B

Introduire dans une fiole d'Erlenmeyer de 125 mL :

- E1 = 10 mL d'extrait B,
- 10 mL d'eau distillée,
- 5 gouttes de fluorescéine.

Verser à la burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à l'apparition d'une couleur orangée persistante.

Le dosage doit être réalisé rapidement : verser directement 10 mL de nitrate d'argent, puis ajouter du nitrate d'argent jusqu'au virage.

Réaliser un premier essai pour distinguer la teinte orangée de la teinte rose-rouge.

Réaliser un deuxième essai pour le dosage.

Données :

Matériau de contrôle : $\rho_{(\text{chlorure de sodium}; \text{solution de référence})} = (1,00 \pm 0,05) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

Écart type de reproductibilité de la méthode de dosage $s_R = 0,025 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

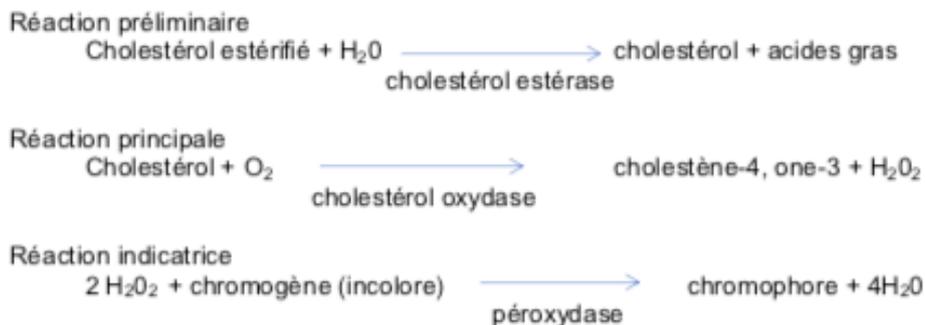
$M_{\text{chlorure de sodium}} = 58,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

Incertitude élargie sur la teneur en chlorure de sodium dans 100 g de beurre :

$U = 0,18 \text{ g}/100 \text{ g}$

1. Principe

Le dosage du cholestérol est réalisé par méthode enzymatique selon le schéma réactionnel suivant :



Le dosage du cholestérol total nécessite de doser toutes les formes du cholestérol. Or le cholestérol est présent sous 2 formes : une forme libre et une forme estérifiée. La séquence des réactions commence donc par une réaction préliminaire au cours de laquelle le cholestérol estérifié est hydrolysé. La réaction indicatrice donne naissance à un complexe coloré en rouge (chromophore) dont on évalue la quantité par mesure de l'absorbance à 505 nm.

2. Matériels

5 micro-cuves

Parafilm

Pipettes à piston P1000, P20 avec cônes

Spectrophotomètre

3. Réactifs

Solution étalon de cholestérol à $0,200 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

Solution de contrôle $\rho_{(\text{cholestérol}; \text{solution contrôle})} = (0,150 \pm 0,020) \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

Extrait C1 dilué au $\frac{1}{2}$

Extrait C2

Solution réactionnelle

4. Mode opératoire

Extraction du cholestérol du beurre :

L'extraction du cholestérol de 10 g de beurre est réalisée. L'extrait est recueilli dans une fiole jaugée de 100 mL.

On appelle :

Extrait C1 : l'extrait contenant le cholestérol du beurre ; on réalise ensuite une dilution au $\frac{1}{2}$ de l'extrait C1 (échantillon fourni) ;

Extrait C2 : l'extrait contenant le cholestérol du beurre allégé (échantillon fourni).

Réaction colorée :

Dans des micro-cuves, réaliser la réaction colorée comme décrit ci-dessous :

Microcuve	Blanc réactif	Étalon	Contrôle	Essai Extrait Cx
Eau physiologique (µL)	20	-	-	-
Solution Étalon (µL)	-	20	-	-
Solution contrôle (µL)	-	-	20	-
Extrait Cx (µL)	-	-	-	20
Solution réactionnelle (mL)	1	1	1	1

Mélanger.

Laisser la coloration se développer 20 min à température ambiante.

Lire l'absorbance de chaque solution contre le blanc réactif à 505 nm.

$$P_{(\text{cholestérol};\text{essai})} = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{étalon}}} \times \rho_{(\text{cholestérol};\text{étalon})} \times Fd$$

$\rho_{\text{cholestérol}}$: concentration massique en cholestérol

A : absorbance lue à 505 nm

Fd : facteur de dilution de l'essai

Données :

Solution étalon : $\rho_{(\text{cholestérol};\text{solution contrôle})} = (0,150 \pm 0,020) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

$s_R = 0.008 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

Incertitude type composée sur la teneur en cholestérol du beurre : $u_c = 0,001 \text{ g}/100 \text{ g}$

FICHE TECHNIQUE 6

RECHERCHE DE CASÉINE A L'AIDE D'UNE TECHNIQUE IMMUNO-ENZYMATIQUE

1. Principe

Étape de sensibilisation : la barrette fournie comprend 8 puits dont les parois ont été sensibilisées avec des anticorps anti-caséine bovine.

Étape de saturation : les sites non spécifiques ont ensuite été saturés par introduction dans chaque cupule d'une solution d'ovalbumine ; ces cupules ont été vidées et lavées par du tampon PBS Tween.

Étapes de la réaction immunologique : chaque beurre clarifié à contrôler sera déposé dans une cupule, des témoins sont prévus. Après incubation, plusieurs lavages seront réalisés.

Dans un deuxième temps une solution d'anticorps anti-caséine conjugués à l'enzyme peroxydase sera déposée dans les cupules (sauf pour certains témoins). Après incubation, plusieurs lavages seront réalisés.

Étape de révélation de l'activité enzymatique liée : l'activité enzymatique de la peroxydase est révélée par addition du substrat TMB (tétraméthylbenzidine) ; cette molécule est transformée en un produit bleu par l'activité de la peroxydase.

2. Matériel et réactifs

1 barrette de 8 puits sensibilisés par des Ac anti-caséine bovine, ainsi qu'un support

Solution de caséine	200 µL	notée « cas »
Échantillon de beurre du lundi	100 µL	noté « B1 »
Échantillon de beurre du mardi	100 µL	noté « B2 »
Échantillon de beurre du mercredi	100 µL	noté « B3 »
Échantillon de beurre du jeudi	100 µL	noté « B4 »
Solution d'Ac anti-caséine conjugués à la peroxydase	600 µL	noté « Conjugué »
Tampon PBS	400 µL	noté « PBS »
Tampon PBS Tween	10 mL	noté « Tween »
Substrat TMB, fourni au dernier moment	700 µL	noté « TMB »
Pipette à piston P100 et cônes		

3. Mode opératoire

3.1. Numéroter les puits 1 et 8.

3.2. Dépôts

Déposer 80 µL de la solution de caséine dans les puits 1 et 3.

Déposer 80 µL de tampon PBS dans les puits 2 et 4.

Déposer 80 µL de B1 dans le puits 5.

Déposer 80 µL de B2 dans le puits 6.

Déposer 80 µL de B3 dans le puits 7.

Déposer 80 µL de B4 dans le puits 8.

Couvrir et incuber 15 minutes à température ambiante.

3.3 Lavages

Vider le contenu de la barrette par retournement au-dessus d'un cristalliseur.

Remplir chaque puits de 100 µL de tampon PBS tween, laisser agir 10 secondes puis vider dans le cristalliseur et égoutter la barrette en tapotant un papier absorbant. Recommencer le lavage deux fois.

3.4 Ajout des anticorps conjugués à l'enzyme

Déposer 80 µL de la solution d'anticorps anti-caséine conjugués à la peroxydase dans tous les puits sauf les puits 3 et 4. Déposer 80 µL de tampon PBS dans les puits 3 et 4.

Couvrir, homogénéiser et incuber 15 minutes à l'étuve à 30 °C.

3.5 Lavages

Procéder comme expliqué précédemment.

3.6 Addition du substrat

Déposer 80 µL du substrat TMB dans tous les puits.

Lire au bout de 2 minutes d'incubation à l'obscurité ; une coloration bleue franche se développe en présence de l'enzyme.

DOCUMENT A :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

N° de poste :

Dosage des chlorures par la méthode de Fajans

Masse de beurre pesée (g)	$m_{\text{beurre}} =$
Volume de nitrate d'argent (mL)	$V_{\text{AgNO}_3} =$

Dosage du cholestérol par méthode enzymatique

Cuve	Blanc réactif	Étalon	Contrôle	Essai C1	Essai C2
$A_{505 \text{ nm}}$					

DOCUMENT B :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

N° de poste :

TABLEAU 1 : SCHÉMA DE PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Étapes	Puits 1	Puits 4
Dépôt de la solution de caséine		
	Lavage :	
Dépôt des Ac conjugués à la peroxydase		
	Lavage :	
Dépôt du TMB		

Légendes utilisées :

TABLEAU 2 : RÉSULTATS

N° puits	1	2	3	4	5	6	7	8
Aspect observé								

Deuxième jour : 1 heure 30

1. ANALYSE MICROBIOLOGIE DE LA CRÈME

Des crèmes de mauvaise qualité et donc exclues de la fabrication de beurre cru sont contaminées par une flore microbienne psychrotrophe, sécrétant des lipases actives à basses températures. Les lipases provoquent l'hydrolyse des triglycérides et leur oxydation, générant des goûts et odeurs de rance.

Il est donc nécessaire de dénombrer la flore lipolytique constituée principalement du genre *Pseudomonas*. Les crèmes contenant plus de 10^4 UFC•mL⁻¹ de *Pseudomonas* seront exclues de la fabrication.

1.1. Dénombrement des *Pseudomonas* et apparentés en milieu solide

Compter, à l'aide de la fiche technique 1, les colonies spécifiques sur les milieux Rhapsody Agar® pour la crème analysée.

- Q1. Rendre compte des résultats dans un tableau.
- Q2. Calculer le nombre de *Pseudomonas* en UFC•mL⁻¹ de crème à l'aide de l'annexe dénombrements page 5.
- Q3. Conclure.

1.2. Mise en évidence de l'activité lipolytique de souches isolées d'une crème

- Q4. Lire les résultats et en rendre compte dans un tableau.
- Q5. Valider les témoins et conclure sur le potentiel lipolytique des souches étudiées.

2. CONTRÔLE DE L'AIR DU LABORATOIRE

2.1. Contrôle de l'air du laboratoire

Dans le cadre des contrôles hebdomadaires d'hygiène des locaux, un contrôle de la charge microbienne de l'air du laboratoire est réalisé.

Les résultats de l'analyse de l'air du laboratoire des semaines précédentes sont rappelés dans le tableau 1.

Tableau 1 : résultats de l'analyse de l'air des 4 semaines précédentes, après 5 jours d'incubation à 30 °C

PNC / boîte	Semaine S-4	Semaine S-3	Semaine S-2	Semaine S-1
Aspect moisissure	2	1	10	25
Aspect bactérie	6	8	4	5

(PNC particule donnant naissance à colonie)

- Q6. Analyser les résultats des précédentes semaines et conclure sur l'évolution de la qualité de l'air.
Compter les colonies sur la gélose PCA incubée 24 h à 30 °C en différenciant celles ayant l'aspect de moisissures des autres.
- Q7. Rendre compte des résultats dans un tableau. Les commenter en tenant compte des conditions d'incubation.

2.2. Identification d'une moisissure isolée de l'air en semaine S-1

Une souche a été isolée à partir d'un prélèvement effectué en semaine S-1. Le laboratoire souhaite l'identifier.

2.2.1. Réalisation pratique

A l'aide de la fiche technique 2, réaliser l'examen microscopique de la souche « Mx + n ° de poste ».

Montrer à un examinateur l'observation microscopique.

2.2.2. Exploitation des résultats

- Q8. Effectuer le compte-rendu de l'examen macroscopique.
- Q9. Réaliser le schéma légendé de l'observation microscopique et identifier la souche isolée notée « Mx + n ° de poste ».
- Q10. Conclure sur les risques associés à la présence de cette moisissure dans le laboratoire.

1. Domaine d'utilisation

RHAPSODY Agar® est un milieu sélectif destiné au dénombrement de *Pseudomonas* spp. dans les produits alimentaires et les échantillons de l'environnement.

2. Principe

Les peptones constituent les substrats nutritifs nécessaires à la multiplication rapide des *Pseudomonas*. Le substrat chromogénique inclus dans le milieu de culture est hydrolysé par tous les *Pseudomonas*. Les colonies présentent alors une coloration bleu pâle à bleu-vert. Le système sélectif retenu et la céphalosporine permettent l'inhibition de la majorité de la flore annexée.

3. Formule-type

Pour 1 litre de milieu complet :

Polypeptone 28,9 g

Système tampon 7,0 g

Chlorure de sodium 5,0 g

Système sélectif 5,5 g

Système chromogène 0,2 g

Agar agar bactériologique 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,0 ± 0,2

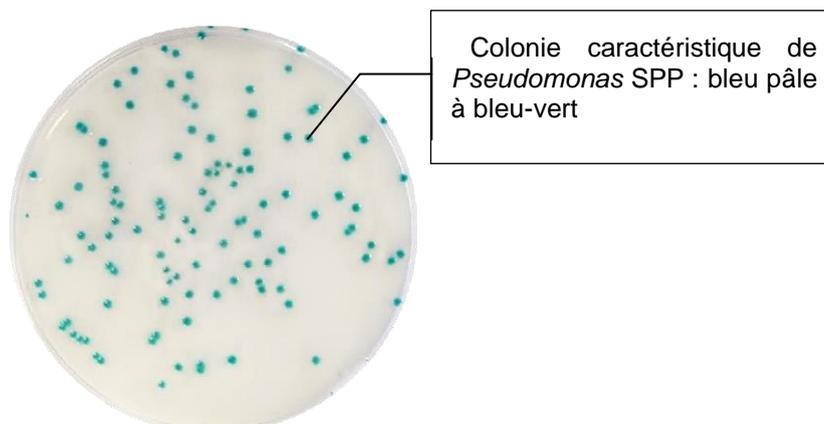
4. Ensemencement-incubation

Transférer 0,1 mL de l'échantillon et de ses dilutions à la surface d'une gélose.

Étaler l'inoculum à l'aide de billes ou d'un étaleur stérile.

Incuber à 30 ± 1 °C pendant 48 heures ± 3 heures.

5. Lecture



1. Matériels et réactifs

1 isolement sur gélose de la souche de Moisissure « Mx + n° de poste »

1 flacon de bleu coton ou lactique

1 lame + lamelle

Scotch

Matériel de prélèvement

2. Réalisation pratique

Réaliser une observation microscopique de la souche après coloration au bleu et identifier la moisissure à l'aide de l'annexe moisissures page 6.

E5-U52 Techniques d'analyses et de contrôles (B) 2018

Durée : 6 heures Coefficient : 3

Calculatrice autorisée

CONTRÔLE QUALITÉ DANS UN ÉLEVAGE PISCICOLE DE LOUP DES CARAÏBES

Premier jour : 4 heures 30

Dans les Antilles, la consommation de produits de la mer est traditionnellement élevée, ce qui a conduit au développement des élevages piscicoles, en particulier de loup des Caraïbes.

Pour garantir la fraîcheur des produits, les élevages disposent généralement d'une usine de transformation : le poisson est éviscéré et paré ; les filets sont levés puis congelés. Différents contrôles qualité sont effectués tout au long de la filière.

1. RECHERCHE IMMUNOLOGIQUE DE LA CIGUATOXINE

1.1. Détermination du plan de dépôt

Q1. Utiliser les réactifs indiqués dans la fiche technique 1 pour établir un plan de dépôt et compléter le document A.

1.2. Réalisation pratique

À l'aide la fiche technique 1, rechercher la présence de ciguatoxine dans deux échantillons différents de chair de poisson par la technique d'Ouchterlony.

Montrer la réalisation d'un dépôt à l'examineur.

2. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES SUR LE POISSON ET L'EAU DES BASSINS D'ÉLEVAGE

2.1. Contrôle de la qualité microbiologique de l'eau des bassins de pisciculture

Les eaux côtières peuvent parfois être contaminées par des déchets industriels ou ménagers compromettant alors la qualité de l'eau des bassins de pisciculture.

Un contrôle microbiologique a été réalisé sur l'eau d'un bassin d'élevage de loup des Caraïbes. La recherche de bactéries pathogènes, notamment halophiles, a permis d'isoler une souche suspecte notée « V » présentée sur milieu GTS.

2.1.1. Réalisation pratique

En vous appuyant sur la fiche technique 2, réaliser l'orientation de la souche suspecte « V ».

Montrer l'observation à l'examineur, accompagnée du compte-rendu d'observation sur le document B.

Réaliser le ou les tests complémentaires devant l'examineur.

Ensemencer les milieux et la microgalerie fournis par le centre.

Incuber 24 h à 37 °C.

2.1.2. Exploitation

Q2. Compléter le document B à remettre au plus tard 1 h avant la fin de l'épreuve.

2.2. Dénombrement de la flore aérobique mésophile de poisson avant congélation

Avant congélation, un échantillon de poisson est systématiquement contrôlé afin d'évaluer sa qualité hygiénique par le dénombrement dans la masse de la flore aérobique mésophile.

Une suspension mère est préparée avec 10 g de poisson broyé dans 90 mL d'eau peptonée stérile. Elle est notée « SP ». Cette suspension est fournie.

2.2.1. Réalisation pratique

En vous appuyant sur la fiche technique 3, réaliser les dilutions décimales demandées.

Montrer la réalisation de 2 dilutions successives à l'examineur.

Utiliser les 3 dernières dilutions pour réaliser un ensemencement en double couche dans la masse du milieu PCA, un essai par dilution.

Incuber 24 h à 48 h à 30 °C.

2.2.2. Exploitation

Q3. Justifier sur le compte-rendu le choix des dilutions utilisées.

Donnée : Critère microbiologique d'hygiène : 10^6 UFC de bactéries mésophiles aérobies par gramme de poisson

3. CONTRÔLES BIOCHIMIQUES SUR LE POISSON FRAIS

3.1. Détermination de la teneur en cholestérol du poisson

Lorsque les poissons sont trop nourris, le métabolisme produit des triglycérides et du cholestérol qui forment des dépôts graisseux dans les tissus. La qualité générale du poisson et le rendement diminuent car l'excédent de graisse est rejeté comme déchets lors de l'éviscération et du filetage. Les poissons d'élevage sont donc mis à jeûner plusieurs jours avant la récolte.

On considère qu'au-delà de 100 mg de cholestérol pour 100 g, le poisson est trop gras et il y aura de la perte lors de sa préparation. On effectue donc un dosage enzymatique du cholestérol sur un échantillon pour contrôler la qualité du poisson. Les résultats sont exprimés en mg cholestérol pour 100 g de poisson.

3.1.1. Réalisation pratique

Réaliser le dosage du cholestérol de la solution S en suivant les instructions de la fiche technique 4.

Appeler l'examineur lors de la préparation des tubes et pour les lectures d'absorbance.

3.1.2. Exploitation

- Q4. Compléter le document C.
- Q5. Démontrer l'équation présentée dans le paragraphe 5 de la fiche technique permettant le calcul de la concentration en cholestérol.
- Q6. Calculer les concentrations massiques des solutions « S » et « C ».
- Q7. Vérifier l'exactitude du résultat de mesure de la solution de contrôle grâce à l'**annexe métrologie pages 7 et 8**.
- Q8. Déterminer l'équation aux grandeurs de la teneur en cholestérol du poisson en mg de cholestérol pour 100 g de poisson.
- Q9. Effectuer le calcul, exprimer le résultat grâce à l'**annexe métrologie pages 7 et 8**, puis conclure.

3.2. Évaluation de la fraîcheur du poisson par dosage de l'ABVT

L'Azote Basique Volatil Total (ABVT) résulte de la dégradation des protéines et des acides aminés libres en ammoniac et amines volatils par l'action de bactéries ou d'enzymes présentes dans le poisson. Cette grandeur est utilisée pour évaluer l'altération de la chair de poisson cru et permet donc d'évaluer sa fraîcheur.

Les recommandations actuelles du CNERNA-CNRS concernant le critère ABVT pour les poissons à chair blanche sont indiquées ci-dessous :

ABVT (mg N/100g)	État de fraîcheur
< 20	Satisfaisant
20-25	Acceptable
> 25	Non satisfaisant

3.2.1. Réalisation pratique

Réaliser l'étalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium à l'aide de la fiche technique 5.

Réaliser un seul essai.

Appeler l'examineur pour la réalisation d'un pipetage.

Appeler l'examineur pour relever la chute de burette.

Réaliser une distillation sur l'extrait « E » à l'aide des instructions de la fiche technique 5.

Appeler l'examineur lors de l'utilisation de l'appareil.

Réaliser le dosage comme indiqué dans la fiche technique 5.

Réaliser un seul essai. *Appeler l'examineur pour relever la chute de burette.*

3.2.2. Exploitation des résultats

La vérification de l'exactitude de la mesure a été réalisée préalablement et validée.

Q10. Compléter le document C.

Q11. Établir l'équation aux grandeurs de la concentration molaire de la solution d'hydroxyde de sodium.

Q12. Calculer la concentration molaire de la solution d'hydroxyde de sodium.

Q13. Établir l'équation aux grandeurs de la concentration de l'ABVT présent dans l'extrait E ; la calculer et l'exprimer en mg d'azote par L.

Q14. Établir l'équation aux grandeurs de la teneur en ABVT : masse d'azote en mg pour 100 g de poisson.

Q15. Calculer et exprimer le résultat final grâce à l'**annexe métrologie pages 7 et 8**.

Q16. Conclure sur l'état de fraîcheur du poisson.

BARÈME

Recherche immunologique de ciguatoxine	6,5 points
Contrôles microbiologiques sur le poisson et l'eau des bassins d'élevage	22,5 points
Contrôles biochimiques sur le poisson frais	22 points
Compétences transversales	9 points

DOCUMENTS

Fiche technique 1 : Recherche de la ciguatoxine dans la chair de poisson par la technique d'Ouchterlony

Fiche technique 2 : Identification d'une souche suspecte

Fiche technique 3 : Dénombrement de la flore mésophile aérobie en milieu solide

Fiche technique 4 : Dosage enzymatique du cholestérol

Fiche technique 5 : Technique de dosage de l'ABVT

DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE

Fiche technique : Fiche d'ensemencement de la microgalerie (fournie au moment de l'ensemencement)

Fiche technique : Notice d'utilisation du distillateur semi-automatique

FICHE TECHNIQUE 1	RECHERCHE DE LA CIGUATOXINE DANS LA CHAIR DE POISSON PAR LA TECHNIQUE D'OUCHTERLONY
--------------------------	--

1. Principe

La ciguatoxine CTX-B1 est la plus puissante neurotoxine d'origine marine. Elle est produite par des microalgues (dinoflagellées) présentes dans les eaux tropicales. Consommée par divers poissons et concentrée au long de la chaîne alimentaire, elle peut présenter un risque pour le consommateur régulier de poissons. Présente en quantité élevée dans le foie et les viscères, elle peut contaminer la chair lors de l'éviscération automatisée des poissons. C'est pourquoi la ciguatoxine est régulièrement contrôlée.

On propose de rechercher la présence de la ciguatoxine CTX-B1 dans l'extrait de chair de poisson par méthode immunologique.

2. Matériel et réactifs

Gel d'agarose 1 % en tampon PBS et coulé en petite boîte de Petri

Emporte pièce

Extrait 1 de chair de poisson noté « E1 »

Extrait 2 de chair de poisson noté « E2 »

Solution de ciguatoxine CTX-B1 noté « B1 »

Sérum anti-ciguatoxine CTX-B1 noté « Ac B1 »

Tampon PBS noté « PBS »

Pipette automatique P20 ou P50 + Cônes

Chambre humide

3. Mode opératoire

3.1. Préparation de la boîte

Sur le modèle de l'abaque du document A, creuser les puits de dépôt à l'aide d'un emporte-pièce.

3.2. Réalisation des dépôts et diffusion

Suivant le plan de dépôt défini sur le document A, déposer 10 µL de réactif par puits.

Laisser diffuser en chambre humide 24 h à température ambiante.

1. Matériel et réactifs

Souche suspecte notée « V »

Kit de coloration de Gram

Réactif pour test oxydase

Réactif pour test catalase

Lame

Microscope et huile à immersion

Microgalerie d'identification et milieux complémentaires (fournis 1 h avant la fin de l'épreuve)

2. Mode opératoire

Réaliser un examen microscopique.

Réaliser le ou les tests complémentaires.

Ensemencer la microgalerie et les milieux complémentaires distribués par le centre.

1. Principe

Les microorganismes de l'inoculum sont introduits dans la masse d'un milieu PCA. Chaque microorganisme vivant donnera donc une colonie visible après étuvage. Le nombre total de colonies sera égal au nombre total de microorganismes présents dans l'inoculum.

2. Matériel et réactifs

Échantillon de solution mère présenté en tube noté « SP »

Flacon contenant 120 mL de milieu PCA en surfusion

Flacon de contenant 60 mL de milieu PCA en surfusion

6 boîtes de Pétri vides stériles

4 tubes de 9 mL de diluant stérile

5 pipettes stériles de 1 mL ou autre dispositif

3. Mode opératoire

Réaliser 4 dilutions décimales en série à partir de la solution mère « SP ».

Utiliser les 3 dernières dilutions pour un ensemencement en double couche dans la masse du milieu PCA, un essai par dilution.

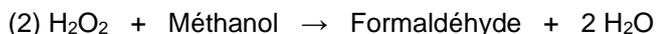
1. Principe

Le cholestérol est dosé par la méthode enzymatique suivante :

Cholestérol oxydase



Catalase



La lutidine est un composé coloré en jaune dont le maximum d'absorption est à 405 nm.

2. Réactifs

Solution lipidique de poisson « S »

Solution « C » de contrôle, à 200 mg cholestérol/L

Réactif 1 : tampon phosphate d'ammonium pH 7 ; à mettre 1 heure à 20-25 °C avant utilisation.

Réactif 2 : suspension de cholestérol oxydase (**attention à la conserver dans la glace et à remettre en suspension avant de prélever**)

3. Préparation de l'échantillon (déjà réalisée)

La solution S a été préparée de la façon suivante : une masse $m = 2,982 \text{ g}$ de poisson cru broyé (prélevée en neuf endroits différents du filet et des viscères) a été mélangée à 1 g de sable et 10 mL de potasse méthanolique à $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Le surnageant est chauffé 2 fois pendant 5 minutes en présence de 6 mL d'isopropanol, puis transféré quantitativement dans une fiole jaugée de 25 mL et complété avec de l'isopropanol.

La solution obtenue à doser est notée « S ».

4. Mode opératoire du dosage

Introduire dans un tube à hémolyse en verre	Témoin	Essai	Contrôle
Réactif 1 (mL)	2,5	2,5	2,5
Solution S (mL)	0,2	0,2	
Solution C (mL)			0,2
Réactif 2 (mL)		0,02	0,02
Bien mélanger. Incuber 60 minutes au bain thermostaté à 37 °C. Laisser refroidir et transvaser dans des cuves. Lire l'absorbance contre l'air à 405 nm.			

5. Résultat

L'équation pour le calcul de la concentration en cholestérol de la solution dosée est la suivante :

$$\rho_{(\text{cholestérol ; sol dosée})} = 0,711 \times \Delta A \text{ (en g de cholestérol}\cdot\text{L}^{-1}\text{)}$$

Données :

$$\varepsilon_{\text{Lutidine à } 405 \text{ nm}} = 7,4 \cdot 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$$

$$\text{Masse molaire cholestérol} = 386,64 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\text{Solution « C » de contrôle : } Y_{\text{ref}} = 200 \text{ mg cholestérol/L}$$

$$S_R = 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$\text{Incertitude type composée pour la teneur en cholestérol : } u_c = 3,0 \text{ mg} / 100 \text{ g}$$

1. Principe

Les Amines Biogènes Volatiles Totales du poisson cru broyé sont d'abord piégées dans une solution d'acide perchlorique. Elles sont ensuite séparées du mélange par distillation. Le distillat est recueilli dans une solution d'acide chlorhydrique en excès.

Afin de déterminer la quantité d'ABVT distillée, l'excès d'acide chlorhydrique sera alors dosé par une solution d'hydroxyde de sodium préalablement étalonnée.

Les résultats sont exprimés en mg d'azote pour 100 g de poisson (mg N /100g).

2. Réactifs

Extrait « E » de poisson en matras : 10 mL

Solution d'acide chlorhydrique HCl à 0,01 mol•L⁻¹

Solution d'hydroxyde de sodium NaOH à environ 20 mmol•L⁻¹

Bleu de bromothymol : indicateur de pH jaune en milieu acide, bleu en milieu basique et vert à l'équivalence (pH 7)

3. Préparation de l'échantillon (déjà réalisée)

L'échantillon a été préparé de la façon suivante : une masse $m = 100$ g de poisson cru prélevée a été soigneusement broyée dans une solution d'acide perchlorique 60 g•L⁻¹. Le mélange a été ensuite filtré. Le filtrat recueilli dans une fiole de 100 mL a ensuite été complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. L'extrait obtenu est noté « E ».

4. Étalonnage d'une solution d'hydroxyde de sodium à environ 20 mmol/L

Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire :

- 10 mL de solution d'acide chlorhydrique,
- environ 40 mL d'eau désionisée,
- quelques gouttes de bleu de bromothymol (BBT).

Verser la solution de NaOH jusqu'au virage de l'indicateur coloré.

5. Dosage de l'ABVT

5.1. Distillation à la vapeur d'eau

Préparer une fiole d'Erlenmeyer de 250 mL contenant 20 mL d'acide chlorhydrique pour recueillir le distillat.

Une prise d'essai de 10 mL de l'extrait obtenu « E » est fournie dans un matras de distillation.

Distiller l'extrait « E » au distillateur semi-automatique selon **la notice d'utilisation de l'appareil** fournie par le centre.

5.2. Réalisation du dosage

Ajouter quelques gouttes de Bleu de Bromothymol (BBT) dans la fiole d'Erlenmeyer.

Doser l'excès d'acide chlorhydrique par la solution l'hydroxyde de sodium préalablement étalonnée jusqu'au virage de l'indicateur.

Données :

Masse molaire atomique de l'azote = 14,01 g•mol⁻¹

L'écart-type de reproductibilité de la méthode est utilisée comme valeur pour l'incertitude-type composée :

$u_c = 0,60$ mg N/100 g.

DOCUMENT A :

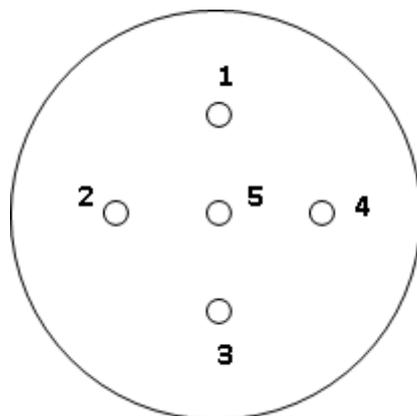
À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

À REMETTRE AU CANDIDAT LE SECOND JOUR

RECHERCHE IMMUNOLOGIQUE DE LA CIGUATOXINE

Numéro de poste :

Plan de dépôt :



1 :

2 :

3 :

4 :

5 :

DOCUMENT B :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

À COMPLÉTER ET À REMETTRE 1 HEURE AVANT LA FIN DE L'ÉPREUVE

IDENTIFICATION DE LA SOUCHE « V »

N° de poste :

Observation(s) microscopique(s) :

Résultats du ou des test(s) enzymatique(s) :

Orientation proposée et justifiée :

Milieux et galerie miniaturisée proposés pour l'identification (à justifier) :

DOCUMENT C :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1. Détermination de la teneur en cholestérol du poisson

	Témoin	Essai	Contrôle
A 405 nm			
ΔA			

2. Étalonnage d'une solution d'hydroxyde de sodium à environ 20 mmol/L

V_1 NaOH(mL)	
----------------	--

3. Dosage de l'ABVT

V_2 NaOH (mL)	
-----------------	--

Deuxième jour : 1 heure 30

1. RECHERCHE IMMUNOLOGIQUE DE LA CIGUATOXINE

- Q1. Réaliser un schéma des résultats obtenus sur le document A du premier jour remis par l'examineur.
- Q2. Sur la copie, analyser les résultats et conclure.

2. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES SUR LE POISSON ET L'EAU DES BASSINS D'ÉLEVAGE

2.1. Contrôle de la qualité microbiologique de l'eau des bassins de pisciculture

2.1.1. Réalisation pratique

Procéder à la lecture des milieux et de la galerie.

2.1.2. Exploitation

- Q3. Interpréter les résultats et identifier la souche.
- Q4. Conclure sur la présence d'une bactérie pathogène dans l'eau des bassins de pisciculture.

2.2. Dénombrement de la flore aérobie mésophile de poisson avant congélation

Rappel : On cherche à évaluer la qualité hygiénique du poisson avant congélation. Une suspension mère « SP » a été préparée avec 10 g de poisson broyés dans 90 mL d'eau peptonée stérile. Le dénombrement a été effectué sur des dilutions de cette suspension.

- Q5. Présenter les résultats du dénombrement dans un tableau.
- Q6. À l'aide de l'**annexe dénombrements page 5**, déterminer le nombre d'UFC par mL de suspension mère.
- Q7. Déterminer le nombre d'UFC par gramme de poisson puis conclure.

Donnée : critère microbiologique d'hygiène : 10^6 UFC de bactéries mésophiles aérobies par gramme de poisson.

DOSSIER TECHNIQUE

DOCUMENTS

Document A (du jour 1) : Recherche immunologique de la ciguatoxine

DOCUMENT FOURNI PAR LE CENTRE

Fiche technique de la microgalerie

Durée : 4 heures Coefficient : 4

Calculatrice interdite

FABRICATION DE « SURIMI-BASE » ET DE KAMABOKO

Les poissons sont des produits fragiles, rapidement périssables. Pour garder la possibilité de les consommer longtemps après les avoir pêchés, il est nécessaire de les conserver. Le « surimi » parfois appelé « kamaboko » est un procédé japonais de conservation du poisson.

L'entreprise « Les Mareyeurs » fabrique du kamaboko selon un processus de fabrication comprenant deux étapes présentées dans les annexes 1 et 2.

Au cours de la première étape, qui a lieu sur ses bateaux-usines, l'entreprise « Les Mareyeurs » transforme du poisson frais en « surimi-base » congelé, ingrédient alimentaire intermédiaire.

Lors de la seconde étape, dans l'usine à terre, le « surimi-base » congelé est décongelé pour être transformé en kamaboko.

L'entreprise « Les Mareyeurs » s'est inspirée du « Code d'usages pour les poissons et les produits de la pêche » (Édition 2012), établi par la commission du *Codex Alimentarius*, et destiné à tous les professionnels impliqués dans la manipulation, la production, l'entreposage, la distribution, l'exportation, l'importation et la vente de poissons et de produits de la pêche. Elle a produit un document adapté à son activité, dont les éléments essentiels sont rassemblés dans l'annexe 3.

1. QUALITÉ DE LA MATIÈRE PREMIÈRE (20 points)

1.1. Contrôle des poissons fraîchement pêchés

Dans le cadre d'une démarche ayant pour but de vérifier la qualité des matières premières et d'assurer la traçabilité, le responsable qualité du bateau-usine doit rédiger une fiche de contrôle à réception du poisson frais dans l'atelier du bateau.

Une fiche de contrôle à réception est un document qualité.

1.1.1. Schématiser l'organisation des documents qualité d'une entreprise. Positionner la fiche de contrôle à réception du poisson frais dans cette organisation. Préciser le rôle de ce type de documents qualité.

1.1.2. Rédiger la fiche de contrôle à réception du poisson frais à l'aide des annexes 1 à 3.

1.1.3. Identifier les éléments de cette fiche qui assurent la traçabilité d'un lot. Préciser s'il s'agit de traçabilité interne ou externe. Argumenter la réponse.

1.1.4. En cas de rejet d'un lot de poissons, indiquer les deux documents associés à ce rejet.

1.2. Contrôles sur les lots de poissons acceptés

Lorsqu'un lot de poissons est accepté, des échantillons sont prélevés afin d'effectuer, avant transformation, des contrôles microbiologiques et biochimiques. Deux tests sont effectués : la numération de la flore totale et la recherche d'histamine.

A l'aide des données de l'annexe 3, justifier l'importance de ces deux analyses.

2. ÉTUDE HACCP DU PROCÉDÉ DE FABRICATION DU KAMABOKO (17 points)

2.1. Étude préliminaire

L'étude HACCP du procédé de fabrication du kamaboko a mis en évidence plusieurs CCP et PRPo. L'arbre de décision figurant dans l'annexe 4 a été utilisé.

2.1.1. Donner la signification des sigles HACCP, CCP et PRPo. Traduire en français l'expression HACCP. Définir chacun des trois termes HACCP, CCP et PRPo.

2.1.2. Expliquer ce qui différencie un CCP d'un PRPo.

2.2. Étude du risque métal

Les étapes de cutterage-mélange et de raffinage (fabrication du « surimi-base ») ainsi que celles de broyage, de mélange, d'étalement de la pâte et de mise en forme de la pâte cuite (fabrication du kamaboko) sont des opérations mécaniques qui présentent un risque physique de présence de fragments de métal dans le kamaboko. Le responsable qualité a décidé d'installer un premier détecteur de métal sur la chaîne de fabrication du « surimi-base » dans le bateau, et un second sur celle du kamaboko dans l'usine à terre.

Préciser à quels stades du processus de fabrication décrit dans l'annexe 2 il est préférable de les placer. Argumenter la réponse.

2.3. Autres risques

Parmi les étapes demandant également une attention particulière on distingue :

- l'éviscération du poisson, étape (5) de la fabrication du « surimi-base »,
- la pasteurisation, étape (22) de la fabrication du kamaboko.

2.3.1. Reproduire sur la copie et compléter le tableau suivant :

Étapes	Danger	Risque	Mesures préventives	Limites critiques ou option de maîtrise	Mesures de surveillance
5					
22					

2.3.2. En lien avec le tableau précédent, reproduire sur la copie et compléter le tableau suivant – consigne : répondre par O (oui), N (non) ou X (non pertinent) aux questions Q1 à Q6. Expliquer le raisonnement suivi.

Étapes	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Conclusion
5							
22							

3. QUALITÉ DU « SURIMI-BASE » (29 points)

Le « surimi-base » congelé fabriqué à bord des bateaux est livré à l'usine à terre. Il est alors soumis à différents contrôles : biochimiques, microbiologiques et organoleptiques.

Sur les 3 derniers mois, le responsable qualité constate une augmentation du nombre de lots de « surimi-base » refusés car non-conformes. Les non-conformités relevées sont indiquées dans l'annexe 5.

3.1. Étude des non-conformités

3.1.1. Nommer le diagramme permettant de choisir les non-conformités à traiter en priorité. Expliquer la démarche d'interprétation de ce type de diagramme.

3.1.2. Regrouper logiquement les non-conformités présentées dans l'annexe 5. Tracer le diagramme.

3.1.3. Commenter les résultats obtenus. Argumenter les décisions prises.

3.2. Réalisation d'un audit

Un audit est mené sur les bateaux-usines par le responsable qualité afin de compléter les résultats obtenus précédemment. L'annexe 3 est utilisée comme référentiel.

3.2.1. Préciser la nature de cet audit. Justifier la réponse.

3.2.2. Définir un référentiel.

3.2.3. Citer les principales phases de cet audit.

3.3. Coût de la qualité

La qualité de production du « surimi-base » nécessite un bon tri des poissons à réception et le respect de la chaîne du froid. Or l'audit a mis en avant l'absence de thermomètre enregistreur dans la salle de stockage, un personnel non formé à l'analyse organoleptique des poissons, une mauvaise qualité de la glace produite à bord des bateaux-usines.

Pour corriger cela, l'entreprise décide : d'investir dans l'achat d'un thermomètre enregistreur, d'assurer la formation de son personnel, et de mettre en place des installations appropriées pour l'entreposage et la fabrication de glace.

3.3.1. Citer et définir les quatre composantes du coût de la qualité dans une entreprise.

3.3.2. Indiquer à quelle(s) catégorie(s) de coût appartiennent les mesures prises par l'entreprise.

3.3.3. Expliquer quelle(s) autre(s) catégorie(s) de coût vont être affectées par ces mesures.

3.4. Métrologie

Le thermomètre doit bénéficier d'une traçabilité par un contrôle périodique et la mise en place d'une fiche de vie.

3.4.1. Décrire un procédé de contrôle du thermomètre.

3.4.2. Expliquer ce qu'est la fiche de vie d'un appareil de mesure.

4. CONTRÔLE DU PRODUIT FINI (14 points)

Les bâtonnets de kamaboko sont emballés dans du film alimentaire et emballés sous vide (étape 24 de l'annexe 2) à raison de 30 unités par sachet de 450 g.

L'entreprise « Les Mareyeurs » a mis en place une carte de contrôle à la moyenne (carte \bar{x}) pour suivre l'évolution de la masse (m) des sachets. Les contrôles sont réalisés selon un plan d'échantillonnage simple.

4.1. Schématiser un plan d'échantillonnage simple.

4.2. Représenter une carte de contrôle à la moyenne en précisant ses points remarquables.

Afin de valider les choix d'échantillonnage, l'entreprise « Les Mareyeurs » utilise les courbes d'efficacité figurant dans l'annexe 6. Ces courbes expriment la probabilité (p) d'accepter la fabrication en fonction du déplacement (δ) de la moyenne par rapport à la valeur cible, exprimé en nombre d'écart-type (σ).

4.3. Déterminer la probabilité (p) pour un dérèglement de $1,25\sigma$ lorsque l'effectif des échantillons est $n = 8$. Commenter le résultat.

4.4. Indiquer quel effectif (n) minimum l'entreprise doit prélever pour que p soit inférieur ou égal à 10 % pour $\delta = 1,25\sigma$. Expliquer quelles seront les conséquences de ce changement sur le coût de la qualité.

4.5. Expliquer pourquoi l'augmentation de la taille de l'échantillon fait baisser la probabilité d'acceptation (p).

ANNEXE 1 :

LA FABRICATION DU « SURIMI-BASE » ET DU KAMABOKO

Première étape :

Sitôt pêchés, les poissons sont contrôlés. Les lots retenus sont entreposés dans le bateau à moins de 4 °C. Ils sont ensuite rapidement lavés, écaillés, étêtés et vidés (éviscérés) ; peau, nageoires et arêtes sont retirées ; seule la partie noble du poisson, sa chair, est conservée (filetage) pour être ensuite lavée plusieurs fois à l'eau douce. La chair est alors mixée (cutterage) et malaxée. Puis la pulpe obtenue est lavée, essorée et pressée (essorage et raffinage). On élimine ainsi les protéines solubles (enzymes), le sang, le gras, les tissus conjonctifs. La pulpe raffinée obtenue se présente sous forme d'une pâte blanche sans goût, riche en protéines et pauvre en lipides. On ajoute alors des cryoprotecteurs (polyphosphates, sucre ou sorbitol) pour améliorer la résistance des protéines au froid.

Le « **surimi-base** » ainsi obtenu va ensuite être congelé en plaques à -30 °C, emballé, étiqueté et stocké à une température inférieure à -20 °C.

Deuxième étape :

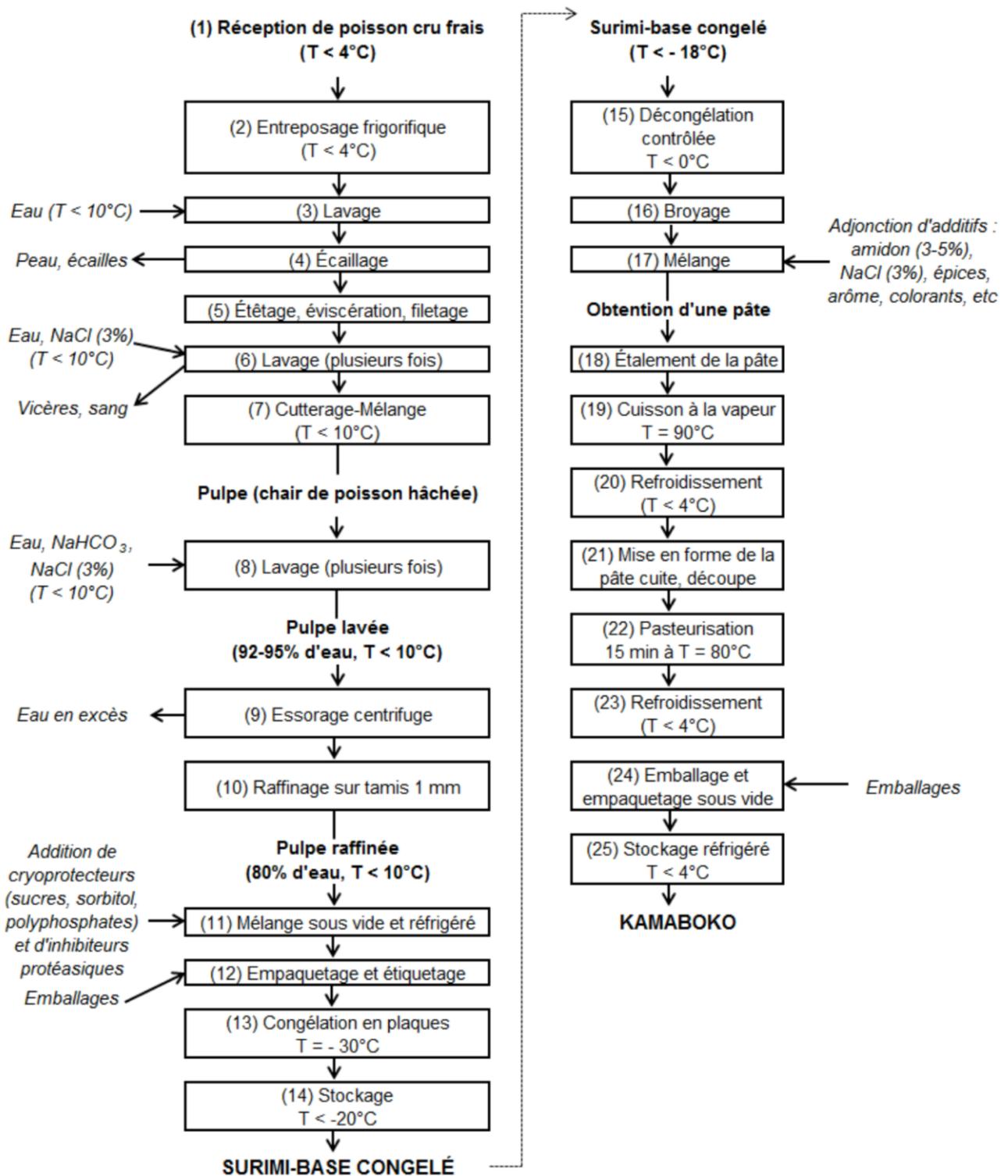
Le « **surimi-base** » congelé est décongelé pour être transformé en **kamaboko**. Il est ensuite broyé et plusieurs ingrédients vont lui être ajoutés pour obtenir une pâte onctueuse : féculé (de pomme de terre ou de blé), blanc d'œuf, huile végétale, eau, sel, sorbitol, arômes (naturels ou artificiels de crabe, crevette, langouste, etc.), colorant (le paprika désépicié est utilisé pour colorer la surface du surimi en orange), etc. La pâte est alors travaillée et étalée en fine couche pour être cuite. Les produits traditionnels à base de surimi sont nombreux et se différencient surtout par leur mode de cuisson : ils sont cuits à la vapeur pour le **kamaboko**.

Après refroidissement, la pâte cuite est mise en forme et découpée (généralement enroulée et scarifiée pour obtenir les bâtonnets), pasteurisée, refroidie et conditionnée sous vide.

Le **kamaboko** obtenu est stocké à moins de 4 °C.

ANNEXE 2 :

DIAGRAMME DE FABRICATION DU « SURIMI-BASE » ET DU KAMABOKO



ANNEXE 3 :

DOCUMENT UTILISÉ PAR L'ENTREPRISE « LES MAREYEURS », ADAPTÉ DU « CODE D'USAGES POUR LES POISSONS ET LES PRODUITS DE LA PÊCHE » ÉTABLI PAR LE CODEX ALIMENTARIUS

SECTION 8 – TRANSFORMATION DU POISSON FRAIS, CONGELÉ OU HACHÉ

En général, la transformation du poisson, frais, congelé ou haché est plus ou moins sophistiquée. Dans sa forme la plus simple, le poisson frais ou congelé transformé peut se présenter à l'état cru, comme paré, filets ou haché pour être distribué sur les marchés et établissements commerciaux ou utilisés dans les usines de transformation. Pour ces dernières, la transformation du poisson frais, congelé ou haché est souvent une étape intermédiaire dans la production de produits à valeur ajoutée. La section « préparation du poisson » sert de base à toutes les autres opérations de transformation du poisson.

8.1 Préparation du poisson

Les conditions d'hygiène et les techniques de préparation du poisson sont semblables et peu influencées par l'utilisation prévue (distribution directe ou transformation ultérieure). Cependant, la chair de poisson frais sera utilisée sous des formes différentes, qui pourront être notamment, mais pas uniquement, parée, filet ou tranche.

8.1.1 Réception du poisson cru, frais ou congelé (étape 1)

Dangers potentiels : agents pathogènes microbiologiques, parasites viables, produits chimiques (y compris résidus de médicaments vétérinaires) et contamination physique.

Défauts potentiels : décomposition, parasites, contamination physique.

Conseils techniques :

* Pour le poisson cru, les spécifications pourraient comprendre les caractéristiques suivantes :

- caractéristiques organoleptiques de la fraîcheur /des altérations comme l'aspect (écailles, peau, œil, opercules, branchies, abdomen, anus), l'odeur, la texture, l'aspect général, la rigidité du corps, les sécrétions, etc ;
- indicateurs chimiques de décomposition et/ou de contamination, par exemple, TVBN (Total Volatil Basic Nitrogen ou ABVT, Azote Basique Volatil Total ; critère qui permet d'évaluer l'altération des produits de la mer résultant majoritairement de la dégradation des protéines sous l'action de bactéries ou d'enzymes présentes dans le poisson), histamine (amine biogène formée à partir d'histidine par certaines bactéries d'altération, à l'origine de toxi-infections alimentaires), métaux lourds, résidus de pesticides, nitrates, etc ;
- critères microbiologiques, en particulier pour des matières premières intermédiaires, afin d'empêcher le traitement de matières premières contenant des toxines microbiennes ;
- matières étrangères ;
- caractéristiques physiques comme la taille du poisson ;
- homogénéité de l'espèce ;

* Il faudrait dispenser une formation sur l'identification d'espèces et communiquer les spécifications de produit à ceux qui manipulent le poisson et au personnel approprié afin que le poisson à la réception soit sans danger lorsqu'il existe des protocoles écrits, notamment, la réception et le tri des espèces halieutiques qui présentent un risque de biotoxines.

* Ceux qui manipulent le poisson et le personnel concerné devraient acquérir les techniques d'évaluation sensorielle nécessaires afin de garantir que le poisson cru soit conforme aux dispositions de qualité essentielle de la norme Codex pertinente.

* Le poisson à éviscérer à son arrivée dans l'usine de transformation devrait être éviscéré correctement, sans délai et avec soin pour éviter la contamination (voir section 8.1.5).

* Il faudrait rejeter le poisson contenant des substances dangereuses, décomposées ou étrangères, qui ne pourront être éliminées ou réduites à un niveau acceptable par les procédures normales de tri ou de préparation.

* Information sur la zone de récolte.

* Évaluation sensorielle du poisson.

Les techniques d'évaluation sensorielle constituent le meilleur moyen d'évaluer la fraîcheur ou la détérioration du poisson. Il est recommandé d'utiliser des critères appropriés d'évaluation sensorielle pour vérifier l'acceptabilité du poisson frais et éliminer le poisson ne correspondant plus aux dispositions de qualité essentielle des normes Codex pertinentes. Par exemple, les espèces de poisson blanc frais sont jugées inacceptables lorsqu'elles présentent les caractéristiques suivantes :

Peau/mucus : peau rugueuse et terne, mucus taché de jaune foncé.

Yeux : concaves, opaques, enfoncés, décolorés.

Branchies : gris brun ou en voie de décoloration, mucus opaque, jaune, épais ou grumeleux.

Odeur : odeur de la chair : d'amines, d'ammoniac, de lait acide, de sulfure, de fèces, de décomposition, de rance.

8.1.2 Entreposage frigorifique (étape 2)

Dangers potentiels : agents pathogènes microbiologiques et biotoxines.

Défauts potentiels : décomposition, dommages physiques.

Conseils techniques :

- * Le poisson devrait être transporté dans l'installation frigorifique sans retard.
- * L'installation devrait pouvoir maintenir la température du poisson entre 0 °C et + 4 °C.
- * La pièce de réfrigération devrait être équipée d'un thermomètre indicateur étalonné. L'installation de thermomètres enregistreurs est vivement recommandée.
- * Les plans de rotation des stocks devraient assurer l'utilisation correcte du poisson.
- * Le poisson devrait être conservé en couches peu épaisses et entouré de quantités suffisantes de glace finement pilée ou dans un mélange de glace et d'eau avant la transformation.
- * Le poisson devrait être conservé de manière à éviter qu'il soit endommagé par un empilage ou un remplissage excessif des caisses.
- * Le cas échéant, remettre de la glace sur le poisson ou modifier la température de la pièce.

8.1.3 Entreposage frigorifique (froid négatif)

Dangers potentiels : agents pathogènes microbiologiques, toxines, parasites viables.

Défauts potentiels : déshydratation, rancissement, perte de qualité nutritionnelle.

Conseils techniques :

- * L'installation devrait pouvoir maintenir la température du poisson à -18 °C ou moins, et avec le moins possible de fluctuations de température.
- * L'entrepôt devrait être équipé avec un thermomètre indicateur étalonné. L'installation d'un thermomètre enregistreur est vivement recommandée.
- * Un plan de rotation systématique des stocks devrait être mis au point et maintenu.
- * Le produit devrait être givré et/ou emballé pour éviter qu'il ne se déshydrate.
- * Le poisson devrait être rejeté s'il contient des défauts qui ne pourront être éliminés ou réduits à un niveau acceptable en le retraitant.
- * Pour tuer les parasites dangereux pour la santé humaine, la température de congélation et la surveillance de la durée de congélation devraient être combinées avec un contrôle efficace du processus pour assurer un traitement par le froid suffisant.

8.1.4 Décongélation contrôlée

Dangers potentiels : agents pathogènes microbiologiques, biotoxines et scombrotamines.

Défauts potentiels : décomposition.

Conseils techniques :

- * La méthode de décongélation devrait être clairement définie et indiquer la durée et la température de décongélation, l'instrument utilisé pour mesurer la température et l'emplacement des dispositifs de mesure. Le programme de décongélation (paramètres de durée et de température) devrait être soigneusement vérifié. Le choix de la méthode de décongélation devrait prendre en compte en particulier l'épaisseur des produits à décongeler et l'uniformité des produits à décongeler.

* La durée et la température de décongélation et les seuils critiques de température du poisson devraient être choisis de manière à maîtriser l'apparition de micro-organismes, d'histamine, lorsqu'il s'agit d'espèces à haut risque, ou d'odeurs et de saveurs indésirables persistantes et nettes, signes de décomposition ou de rancissement.

* Lorsqu'on utilise l'eau pour la décongélation, elle doit être de qualité potable.

* Lorsqu'il s'agit d'eau recyclée, il faut prendre soin d'éviter l'accumulation de micro-organismes.

* En cas d'utilisation d'eau, on veillera à ce que la circulation soit suffisante pour que la décongélation soit régulière.

* Durant la décongélation, selon la méthode utilisée, les produits ne devraient pas être exposés à des températures excessivement élevées.

* On veillera en particulier à contrôler la condensation et l'égouttage du poisson. Un bon écoulement des eaux devrait être assuré.

* Après la décongélation, les poissons devraient être immédiatement traités ou réfrigérés et conservés à la température voulue (température de la glace qui fond).

* Le programme de décongélation devrait être examiné comme il convient et modifié si nécessaire.

8.1.5 Lavage et éviscération (étapes 5 et 6)

Dangers potentiels : agents pathogènes microbiologiques et biotoxines et scombrottoxines.

Défauts potentiels : présence de viscères, meurtrissures, odeurs, erreurs de tranchage.

Conseils techniques :

* L'éviscération est complète lorsque le tractus intestinal et les organes internes ont été enlevés.

* Il faudrait assurer un approvisionnement en eau de mer propre ou en eau potable suffisant pour laver :

– le poisson entier pour éliminer les débris étrangers et réduire la charge bactérienne avant l'éviscération ;

– le poisson éviscéré pour éliminer le sang et les viscères se trouvant dans la cavité abdominale ;

– la surface du poisson pour enlever les écailles restantes ;

– le matériel et les outils d'éviscération pour réduire au minimum l'accumulation de mucus, sang et déchets.

* En fonction du déroulement des opérations sur le bateau ou dans l'usine de transformation et lorsqu'un seuil critique pour la durée et la température de l'opération a été établi pour la maîtrise de l'histamine ou d'un défaut, le poisson éviscéré devrait être égoutté et mis sous glace ou réfrigéré convenablement dans des récipients propres et conservé dans des zones conçues à cet effet à l'intérieur de l'usine de transformation.

* Des installations d'entreposage séparées et adéquates devraient être fournies pour les œufs, la laitance et le foie si ceux-ci doivent être utilisés par la suite.

8.1.6 Filetage, épiautage, parage et mirage (étape 5)

Définitions :

Filetage : prélever une tranche de poisson sur la carcasse par des coupes pratiquées parallèlement à l'arête dorsale.

Épiautage : enlever la peau. Parage : opération qui consiste à retirer tous les signes de sang, de membrane ou de restes d'intestin pouvant être attachés à la chair après l'étêtage et l'éviscération. Mirage : opération consistant à faire passer les filets de poisson au-dessus d'une table en verre dépoli éclairée par dessous pour déceler les parasites et les autres défauts.

Dangers potentiels : parasites viables, agents pathogènes microbiologiques, biotoxines et scombrottoxines, présence d'arêtes.

Défauts potentiels : parasites, présence d'arêtes, matières indésirables (par exemple, peau, écailles, etc.), décomposition.

Conseils techniques :

* Afin de réduire au minimum les délais, les chaînes de filetage et de mirage, le cas échéant, devraient être conçues pour une transformation continue et dans l'ordre pour permettre la circulation régulière du poisson sans arrêts ou ralentissements et l'élimination des déchets.

* Il faudrait assurer un approvisionnement suffisant en eau propre ou en eau potable pour laver :

– le poisson avant le filetage ou le tranchage notamment s'il s'agit de poisson écaillé ;

– les filets après filetage, épiautage ou parage afin d'éliminer toute trace de sang, d'écailles ou de viscères ;

– le matériel et les outils de filetage pour réduire l'accumulation de mucus, sang et déchets.

* Le mirage des filets sans peau par un personnel compétent, dans un emplacement approprié qui optimise les effets d'éclairage, est une technique efficace de contrôle des parasites (dans le poisson frais) et devrait être utilisée pour les espèces concernées.

* La table de mirage devrait être nettoyée fréquemment pendant l'opération afin de minimiser l'activité microbienne des surfaces de contact et le dessèchement des résidus de poisson dû à la chaleur dégagée par la lampe.

* Lorsqu'un seuil critique pour la durée et la température de l'opération a été établi pour la maîtrise de l'histamine ou d'un défaut, les filets de poisson devraient être mis sous glace ou réfrigérés convenablement dans des récipients propres, protégés de la déshydratation et entreposés dans des zones appropriées à l'intérieur de l'usine de transformation.

SECTION 9 – TRANSFORMATION DU SURIMI CONGELÉ

Le surimi congelé est un ingrédient alimentaire intermédiaire composé de protéines myofibrillaires isolées de la chair de poisson après plusieurs lavages et essorage. On y ajoute des cryoprotecteurs afin que la chair puisse être congelée et conserve sa capacité gélifiante lorsqu'elle est transformée après décongélation. Le surimi congelé est habituellement mélangé à d'autres ingrédients et ultérieurement transformé en produits à base de surimi tels que le kamaboko ou les imitations de crabe qui tirent parti de sa capacité gélifiante.

La présente section du Code vise principalement à aider les fabricants de surimi congelé à partir de poissons de fond tels que le lieu de l'Alaska et le merlan du Pacifique par des opérations mécaniques qui sont communes au Japon, aux États-Unis d'Amérique et dans quelques autres pays dans lesquels les industriels s'appuient sur des opérations mécaniques.

9.1 Généralités sur les dangers et les défauts pour la production de surimi congelé

9.1.1 Dangers

Le surimi congelé est un ingrédient intermédiaire utilisé après plusieurs transformations pour la fabrication de produits à base de surimi tels que le kamaboko et les imitations de crabe. Bon nombre des dangers potentiels concernant la salubrité des aliments seront contrôlés durant les étapes de transformation ultérieure. Par exemple, des bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes* et des producteurs de toxines tels que *C. botulinum* (qui devient un danger en raison de l'emballage sous atmosphère modifiée du produit fini) devraient être contrôlées durant les stades de cuisson et de pasteurisation du traitement final. La contamination éventuelle par *Staphylococcus aureus* qui produit des entérotoxines thermostables devrait être correctement contrôlée par le programme de conditions préalables. Les parasites ne seront pas un danger étant donné que le produit final sera cuit ou pasteurisé.

De la même manière, les opérations de transformation du surimi étant très mécanisées, des mesures de contrôle appropriées devraient être mises en place pour faire en sorte que les fragments métalliques (par exemple roulements, boulons, rondelles, écrous) soient exclus ou éliminés du produit fini.

9.1.2 Défauts

Certains attributs de qualité du surimi congelé sont importants pour la fabrication réussie de produits à base de surimi tels que le kamaboko et des imitations du crabe qui répondent aux exigences des consommateurs en matière de qualité. Certains de ces facteurs importants sont la couleur, la teneur en eau, le pH et la capacité gélifiante.

Le poisson décomposé ne devrait pas être utilisé comme matière première pour la production de surimi congelé. Les qualités organoleptiques ne seront pas suffisantes pour obtenir des produits finis acceptables à base de kamaboko ou des imitations du crabe. Il y a lieu de noter également que le poisson décomposé ne devrait pas être utilisé comme matière première pour la production de surimi congelé, car la prolifération microbienne qui provoque la décomposition du produit fini aura des effets négatifs sur la capacité gélifiante du surimi congelé en dénaturant les protéines salinosolubles.

Le cycle de lavage et d'essorage devrait suffire à terminer la séparation des protéines hydrosolubles des protéines myofibrillaires. Si les protéines hydrosolubles restent dans le produit, cela aura des effets négatifs sur la capacité gélifiante et la durée de conservation à long terme du produit congelé.

Les matières indésirables telles que les petites arêtes, les écailles et la membrane noire devraient être réduites car elles empêchent d'utiliser le surimi congelé pour la fabrication de produits finis.

Le surimi cru se présentant sous forme de chair hachée, il pourrait être nécessaire d'employer des additifs alimentaires. On introduira des additifs dans le surimi selon les règlements en vigueur et la recommandation du fabricant afin d'éviter des problèmes de qualité et des mesures de réglementation.

Il faudra tenir compte de la thermostabilité des protéines du poisson. À des températures ambiantes normales, la plupart des protéines du poisson subiront une dénaturation qui inhibera la capacité gélifiante du produit. Le merlan de l'Alaska et d'autres poissons marins d'eaux froides ne devraient pas être soumis à des températures supérieures à 10 °C durant la transformation. Les poissons d'eaux chaudes peuvent se dénaturer à un rythme plus lent et ne pas être aussi sensibles à la température.

Étant donné que la prolifération bactérienne responsable de la décomposition et de la dénaturation des protéines augmente avec la température, il faudra suivre attentivement les conditions auxquelles le produit cru et transformé est soumis.

9.2 Préparation du poisson Voir la section 8.1 pour des informations concernant la préparation du poisson destiné à être transformé.

Pour la transformation du surimi congelé, il faudrait prendre en compte les procédés suivants pour chaque étape.

9.2.1 Réception du poisson cru frais ou congelé (étape 1)

Dangers potentiels : peu probables lorsqu'on utilise des poissons de fond comme matière première.

Défauts potentiels : décomposition, dénaturation des protéines.

Conseils techniques :

* Le poisson récolté destiné à la production de surimi doit être conservé de préférence à une température ne dépassant pas 4 °C.

* On prendra en considération l'âge et l'état du poisson utilisé pour la production de surimi étant donné que ces facteurs affecteront la capacité gélifiante finale.

On sera particulièrement prudent avec le poisson cru reçu plusieurs heures après la récolte. Par exemple, une période acceptable après la récolte devrait être comme suit, mais la transformation aussi rapide que possible après la récolte permettra de mieux conserver la qualité appropriée du surimi congelé :

- entier, dans les 14 jours à compter de la capture, dans le cas d'entreposage à 4 °C ou moins ;
- paré ; dans les 24 heures après le parage lorsqu'il est entreposé à 4 °C ou moins.

* La date, le moment de la récolte, l'origine, l'exploitant pêcheur ou le vendeur des produits reçus devraient être soigneusement consignés et identifiés.

* La présence de décomposition dans le produit cru ne devrait pas être autorisée, car cela nuira à la capacité gélifiante du produit fini. Le poisson récolté en mauvais état pourrait ne pas avoir les caractéristiques spécifiées concernant la couleur.

* le poisson utilisé pour la fabrication de surimi congelé devrait avoir une chair d'une capacité gélifiante adéquate. Par exemple l'ensemble de la chair pour le merlan de l'Alaska (*Theragra chalcogramma*) devrait avoir un pH de la chair de $7,0 \pm 0,5$.

* Le poisson qui a été écrasé et asphyxié durant la récolte à cause de la dimension trop grande du trait de chalut devrait être éliminé de la chaîne afin d'éviter un effet négatif sur la capacité gélifiante.

9.2.2 Entreposage frigorifique (étape 2)

Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : dénaturation des protéines.

Conseils techniques :

* L'entreposage frigorifique dans l'usine de transformation devrait être réduit au minimum par une transformation rapide pour minimiser la dénaturation des protéines et la perte de capacité gélifiante.

* Dans le cas d'entreposage du poisson cru, le poisson devrait être entreposé à 4 °C ou moins et la date de la capture ou la durée de la conservation devrait identifier le lot.

9.2.3 Lavage et écaillage (étapes 3 et 4)

Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : impuretés, matières étrangères.

Conseils techniques :

* Le mucus, les écailles et le pigment détaché devraient être enlevés avant l'étêtage et l'éviscération. Cela réduira la quantité d'impuretés et de matières étrangères susceptibles de réduire la capacité gélifiante et de compromettre la couleur du produit fini.

9.2.4 Lavage (étape 6)

Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : impuretés, matières étrangères.

Conseils techniques :

* Il faut laver plusieurs fois le poisson étêté et éviscéré. Cela réduira la quantité d'impuretés et les matières étrangères qui peuvent influencer négativement sur la capacité gélifiante et la couleur du produit fini.

9.3 Séparation de la chair (étape 7)

Dangers potentiels : fragments métalliques.

Défauts potentiels : impuretés.

Conseils techniques :

* La chair de poisson est hachée à l'aide d'un procédé de séparation mécanique ; il faudrait donc, pour éliminer le danger, installer à l'endroit le plus approprié de la chaîne un appareil de détection des métaux capable de repérer le produit qui a été contaminé par des fragments métalliques d'une dimension pouvant blesser le consommateur.

* Des procédures devraient être établies pour faire en sorte que la contamination chimique du produit ne risque pas d'avoir lieu.

* La chair hachée séparée devrait être immédiatement étalée dans l'eau et transférée pour le lavage et l'essorage afin d'empêcher le sang de congeler et de causer une diminution de la capacité gélifiante.

9.4 Lavage et essorage (étapes 8 et 9)

Dangers potentiels : développement de microbes pathogènes.

Défauts potentiels : décomposition, dénaturation des protéines, protéines résiduelles hydrosolubles.

Conseils techniques :

* La température de l'eau et de la chair de poisson hachée mise dans le tamis rotatif ou l'eau de lavage devrait être adéquatement contrôlée afin d'empêcher le développement de microbes pathogènes.

* Pour obtenir du surimi congelé de bonne qualité, la température de l'eau de lavage ne devrait pas dépasser 10 °C pour une séparation correcte des protéines hydrosolubles. Pour le merlan du Pacifique, la température de l'eau de lavage ne devrait pas dépasser 5 °C, étant donné que cette espèce a généralement une activité protéasique importante. Certaines espèces d'eaux chaudes pourraient être traitées à des températures allant jusqu'à 15 °C.

* Il faudrait traiter rapidement le produit afin de réduire au minimum le développement éventuel de microbes pathogènes.

* Le poisson haché devrait être étalé uniformément dans l'eau afin qu'il libère ses composantes hydrosolubles et qu'il y ait une séparation correcte des protéines myofibrillaires.

* On prendra soin de la conception spécifique de l'étape de lavage et d'essorage en ce qui concerne le rendement voulu, la qualité et l'espèce de poisson.

* Une quantité suffisante d'eau potable devrait être disponible pour le lavage.

* Le pH de l'eau de lavage devrait être proche de 7,0 ; l'eau de lavage devrait de préférence avoir une dureté totale de 100 mg/kg ou moins en termes de CaCO₃ converti.

* On pourra ajouter du sel ou d'autres produits pour faciliter l'essorage (moins de 0,3 % de sel) au dernier stade du lavage pour faciliter la déshydratation.

* Des additifs alimentaires devraient être ajoutés conformément aux règlements nationaux et aux instructions du fabricant, au cas où on en utiliserait pour le procédé.

* L'eau usée doit être jetée d'une manière appropriée.

* L'eau ayant servi pour le lavage ne doit pas être recyclée à moins que des mesures de contrôle appropriées de sa qualité microbienne ne soient appliquées.

9.5 Raffinage (étape 10)

Dangers potentiels : développement de microbes pathogènes, fragments métalliques

Défauts potentiels : matières indésirables, dénaturation des protéines

Conseils techniques :

* La température de la chair de poisson hachée durant l'opération de raffinage devrait être adéquatement contrôlée afin d'empêcher le développement de microbes pathogènes.

* Pour empêcher la dénaturation des protéines, la température de la chair de poisson hachée ne devrait pas dépasser 10°C durant le raffinage.

* Il faudrait traiter rapidement le produit afin de réduire au minimum le développement éventuel de bactéries pathogènes.

* Il faudrait, pour éliminer le danger, installer à l'endroit le plus approprié de la chaîne un appareil de détection des métaux capable de repérer le produit qui a été contaminé par des fragments métalliques d'une dimension pouvant blesser le consommateur.

* Il faudrait éliminer de la chair lavée les matières indésirables comme les petites arêtes, les membranes noires, les écailles, les lambeaux de peau et le tissu conjonctif à l'aide d'un raffineur approprié avant le dernier essorage.

* Il faudrait ajuster le matériel de manière appropriée pour une production adéquate.

* On ne laissera pas le produit raffiné s'accumuler sur les tamis pendant de longues périodes.

9.6 Essorage final

Dangers potentiels : développement de microbes pathogènes.

Défauts potentiels : décomposition, dénaturation des protéines.

Conseils techniques :

* La température de la chair de poisson raffinée durant l'essorage final devrait être adéquatement contrôlée afin d'éviter le développement de bactéries pathogènes.

* Pour obtenir du surimi congelé de bonne qualité, la température de la chair de poisson raffinée ne devrait pas dépasser 10 °C pour les espèces d'eaux froides comme le lieu de l'Alaska. Pour le merlan du Pacifique, la température ne devrait pas dépasser 5 °C, étant donné que cette espèce a généralement une activité protéasique importante. Certaines espèces d'eaux chaudes pourraient être traitées à des températures allant jusqu'à 15 °C.

* Il faudrait traiter rapidement le produit afin de réduire au minimum le développement éventuel de microbes pathogènes.

* La teneur en eau du produit raffiné devrait être maintenue à des niveaux spécifiés avec un équipement d'essorage approprié (par exemple, centrifugeuses, presse hydraulique, presse à vis).

* On prêtera attention aux variations des teneurs en eau dues à l'âge, à l'état ou au mode de capture du poisson cru. Dans certains cas, il faudrait procéder à la déshydratation avant le raffinage.

9.7 Mélange et addition d'ingrédients adjuvants (étape 11)

Dangers potentiels : développement de microbes pathogènes, fragments métalliques.

Défauts potentiels : utilisation incorrecte des additifs alimentaires, dénaturation des protéines.

Conseils techniques :

* On contrôlera soigneusement la température du produit durant le mélange afin d'éviter le développement de bactéries pathogènes.

* Pour obtenir un produit de bonne qualité, la température de la chair de poisson déshydratée durant le mélange ne devrait pas dépasser 10 °C pour les espèces d'eaux froides comme le lieu de l'Alaska. Pour le merlan du Pacifique, la température ne devrait pas dépasser 5°C étant donné que cette espèce a généralement une activité protéasique importante. Certaines espèces d'eaux chaudes pourraient être traitées à des températures allant jusqu'à 15 °C.

* Il faudrait traiter rapidement le produit afin de réduire au minimum le développement éventuel de microbes pathogènes.

* Il faudrait, pour éliminer le danger, installer à l'endroit le plus approprié de la chaîne un appareil de détection des métaux capable de repérer le produit qui a été contaminé par des fragments métalliques d'une dimension pouvant blesser le consommateur.

* Des additifs alimentaires devraient être les mêmes et se conformer à ceux de la *Norme générale sur les additifs alimentaires* (CODEX STAN 192-1995).

- * Les additifs alimentaires devraient être mélangés de manière homogène.
- * Il faudrait utiliser des cryoprotecteurs dans le surimi congelé. Il s'agit en général de sucres et/ou d'alcool polyhydrique qui servent à empêcher la dénaturation des protéines à l'état congelé.
- * On utilisera des inhibiteurs enzymatiques (par exemple blanc d'œuf, plasma bovin) pour les espèces qui ont une forte activité des enzymes protéolytiques telles que le merlan du Pacifique qui réduit la capacité gélifiante du surimi durant la transformation du kamaboko ou des imitations de crabe. L'utilisation de plasma de protéine devrait être étiquetée de manière appropriée.

9.8 Emballage et pesage (étape 12)

Dangers potentiels : développement de microbes pathogènes, contamination croisée.

Défauts potentiels : matières étrangères (emballage), poids net incorrect, emballage incomplet, dénaturation des protéines.

Conseils techniques :

- * On contrôlera soigneusement la température du produit durant l'emballage afin d'éviter le développement de bactéries pathogènes.
- * Il faudrait emballer rapidement le produit afin de réduire au minimum le développement éventuel de microbes pathogènes.
- * L'opération d'emballage devra suivre des procédures établies rendant peu probable la contamination croisée.
- * Le produit devrait être mis dans des sacs de plastique ou des récipients propres qui ont été entreposés correctement.
- * Le produit devrait avoir une forme appropriée.
- * L'emballage devrait être effectué rapidement de manière à limiter les risques de contamination et de décomposition.
- * Il ne devrait pas y avoir d'espace vide dans les produits emballés.
- * Le produit devrait répondre aux normes appropriées relatives au poids net.

Voir également la section 8.4.4.

8.4.4 Empaquetage et emballage

Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : déshydratation ultérieure, décomposition.

Conseils techniques :

- * Les matériaux d'emballage devraient être propres, solides, durables, adaptés à l'usage prévu et convenant aux aliments.
- * L'opération d'emballage devrait être effectuée de manière à réduire au minimum le risque de contamination et de décomposition.
- * Les produits devraient satisfaire aux normes appropriées concernant l'étiquetage et les poids.

9.9 Opération de congélation (étape 13)

Voir à la section 8.3.1 les généralités sur les poissons et les produits de la pêche congelés.

Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : dénaturation des protéines, décomposition.

Conseils techniques :

- * Après empaquetage et pesage, le produit devrait être congelé aussi rapidement que possible pour en conserver la qualité.
- * Il faudrait établir des procédures qui spécifient le laps de temps maximal devant s'écouler depuis l'empaquetage jusqu'à la congélation.

8.3.1 Congélation

Dangers potentiels : parasites viables.

Défauts potentiels : détérioration de la texture, apparition d'odeurs de rance, brûlures dues à la congélation.

Conseils techniques :

* Les produits halieutiques devraient être congelés aussi rapidement que possible car les retards inutiles avant la congélation provoqueront une hausse de température des produits, et donc une baisse de qualité et une diminution de la durée de conservation en raison de l'action des micro-organismes et des réactions chimiques indésirables.

* Il faudrait fixer un régime de durée et de température de la congélation en fonction du matériel de congélation et de sa capacité ; de la nature du produit, notamment la conductivité thermique, l'épaisseur, la forme et la température, et le volume de la production, afin que la zone des températures de cristallisation maximale soit traversée le plus vite possible.

* L'épaisseur, la forme et la température des produits halieutiques à congeler devraient être aussi uniformes que possible.

* La production de l'usine de transformation devrait être fonction de la capacité des congélateurs.

* Les produits congelés devraient être transférés immédiatement dans l'entrepôt frigorifique.

* La température centrale du poisson congelé devrait être vérifiée régulièrement pour assurer que la congélation soit complète.

* Il faudrait procéder régulièrement à des vérifications afin de garantir que la congélation est effectuée de manière correcte.

* Il faudrait tenir des registres détaillés de toutes les opérations de congélation.

* Pour tuer les parasites dangereux pour la santé humaine, la température de congélation et la surveillance de la durée de congélation devraient être combinées avec un contrôle efficace du processus pour assurer un traitement par le froid suffisant.

9.10 Démontage du bac de congélation

Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : sac de plastique et produit endommagés.

Conseils techniques :

* On veillera à ne pas déchirer les sacs de plastique ni le produit lui-même afin d'empêcher une déshydratation profonde durant l'entreposage frigorifique de longue durée.

9.11 Détection des métaux

Voir la section 8.2.4 pour des informations générales.

Dangers potentiels : fragments métalliques.

Défauts potentiels : peu probables.

Conseils techniques :

* Il faudrait, pour éliminer le danger, installer à l'endroit le plus approprié de la chaîne un appareil de détection des métaux capable de repérer le produit qui a été contaminé par des fragments métalliques d'une dimension pouvant blesser le consommateur.

8.2.4 Détection de métaux

Dangers potentiels : contamination par les métaux.

Défauts potentiels : peu probables.

Conseils techniques :

* Il importe d'ajuster la vitesse de la chaîne afin que le détecteur de métaux puisse fonctionner correctement.

* Il faudrait mettre en place des procédures de routine assurant que la cause du rejet d'un produit par le détecteur sera recherchée.

* En cas d'utilisation de détecteurs de métaux, il faudrait que ceux-ci soient régulièrement étalonnés à l'aide d'une norme reconnue pour en assurer le fonctionnement correct.

9.12 Mise en caisses et étiquetage (étape 13)

Voir la section 8.2.3 et la section 8.4.4.

Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : étiquette incorrecte, paquets endommagés.

Conseils techniques :

- * Les caisses devraient être propres, durables et se prêter à l'emploi voulu ;
- * L'opération de mise en caisses devrait être effectuée de manière à ne pas endommager les matériaux d'emballage.
- * Les produits mis dans des caisses endommagées devraient être placés dans de nouvelles caisses de manière à être adéquatement protégés.

8.2.3 Étiquetage

Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : étiquetage erroné.

Conseils techniques :

- * Avant d'appliquer les étiquettes, il faudrait vérifier que tous les renseignements donnés sont conformes, le cas échéant, à la *Norme générale Codex pour l'étiquetage des denrées alimentaires préemballées* (CODEX STAN 1-1985) aux dispositions d'étiquetage de la norme Codex correspondante et/ou à d'autres dispositions législatives nationales.
- * Très souvent, il sera possible de réétiqueter les produits mal étiquetés. Il faudrait effectuer une évaluation appropriée afin de déterminer la ou les raison(s) de l'étiquetage défectueux.

9.13 Entreposage au congélateur (étape 14)

Voir la section 8.1.3 pour des informations générales concernant les poissons et les produits de la pêche.

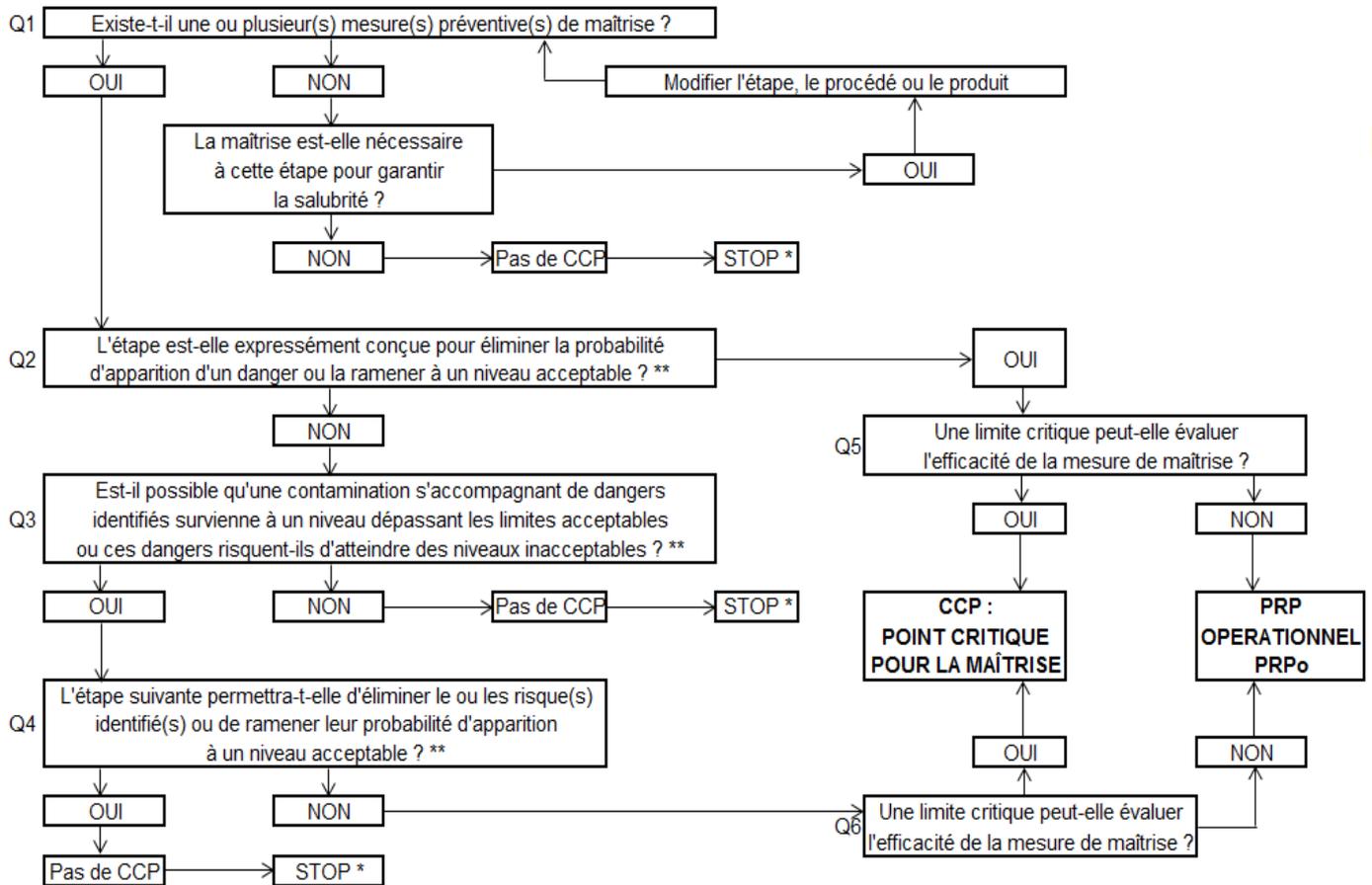
Dangers potentiels : peu probables.

Défauts potentiels : décomposition, dénaturation des protéines.

Conseils techniques :

- * Afin d'empêcher la dénaturation des protéines, le surimi congelé devrait être entreposé à -20 °C ou moins. La qualité et la durée de conservation seront mieux préservées à -25 °C ou moins.
- * Suffisamment d'air devra circuler autour du produit congelé afin de garantir une bonne congélation. Pour ce faire, on veillera notamment à ne pas placer le produit directement sur le fond du congélateur.

ANNEXE 4 : ARBRE DE DÉCISION



* : Passer au prochain danger identifié dans le processus décrit

** : Il est nécessaire de définir les niveaux acceptables et inacceptables en tenant compte des objectifs généraux lors de la détermination des CCP dans le plan HACCP

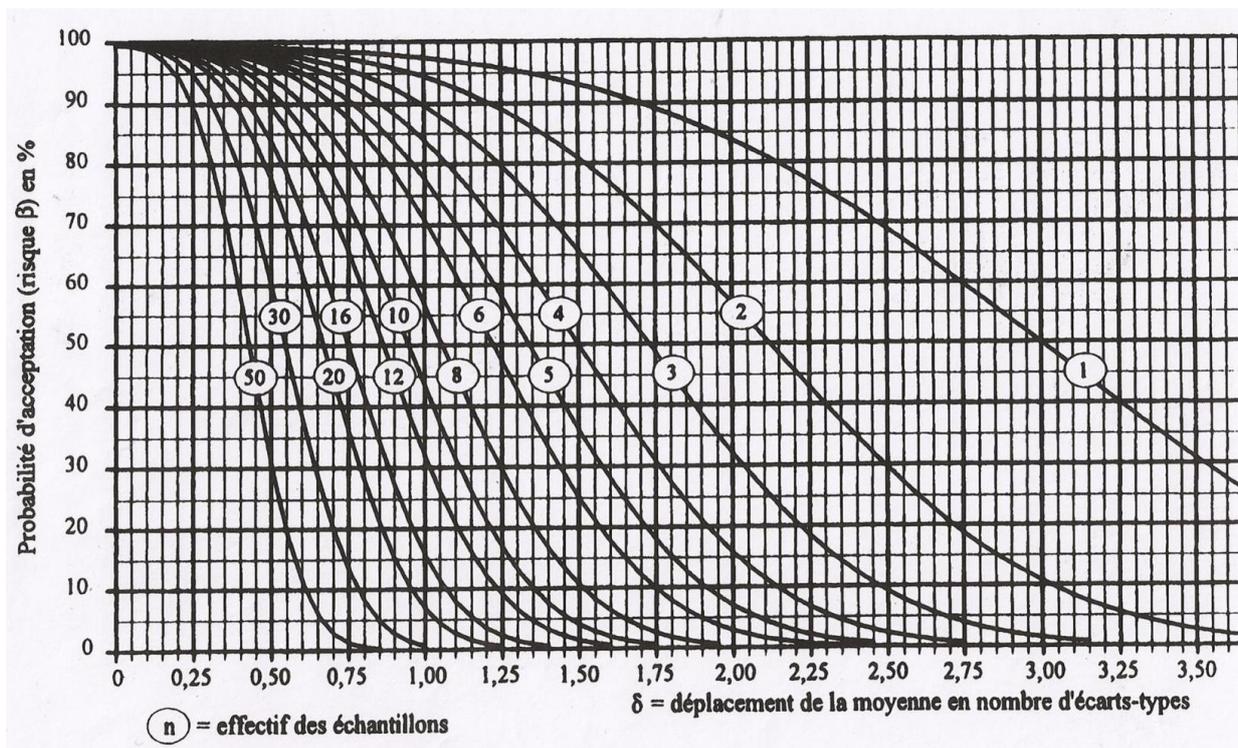
ANNEXE 5 :

NATURE ET FRÉQUENCE DES NON-CONFORMITÉS DU « SURIMI-BASE » SUR LES 3 DERNIERS MOIS

Nature	Fréquence (%)
Mauvais pouvoir gélifiant	14
Présence de petites arêtes	3
Erreur d'étiquetage	4
Poids inférieur à la valeur nominale après décongélation	43
Présence de <i>Listeria monocytogenes</i>	1
Étiquette collée de travers	2
Teneur en eau excessive	24
Couleur non satisfaisante	5
Emballage froissé	3
Mauvaise odeur	1
Total	100

ANNEXE 6 :

COURBES D'EFFICACITÉ DE CARTES A LA MOYENNE



Sujets 2019

E2-U21 Mathématiques

2019

Durée : 2 heures Coefficient : 2

Calculatrice autorisée

Exercice 1 (10 points)

Staphylococcus Aureus (SA), plus communément appelé staphylocoque doré, est une bactérie responsable de nombreuses intoxications alimentaires. Elle est naturellement présente chez l'homme. Déposée sur un aliment et sous certaines conditions (comme notamment la présence suffisante de nutriments), elle se développe très fortement et produit des toxines. Ces toxines, une fois ingérées, sont responsables de troubles alimentaires, qui peuvent aller, dans certains cas extrêmes, jusqu'à la mort de la personne touchée.

PARTIE A : Équation différentielle

- Déterminer les solutions sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$ de l'équation différentielle $20y' - 20,8y = 0$ où y est une fonction de la variable réelle t , définie et dérivable sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$.
- En déduire la fonction f solution de cette équation différentielle qui vérifie $f(0) = 10$.

PARTIE B : Modèle exponentiel

On souhaite étudier la croissance de bactéries SA à température ambiante sur un échantillon de mix (le mix est un mélange contenant en grande partie du lait permettant la fabrication de glaces à l'italienne).

On suppose que 10 bactéries sont déposées en même temps sur 1 g de mix. Voici les relevés du nombre de bactéries SA heure par heure, mesuré à partir du moment où les bactéries sont déposées sur le mix.

Heure (t_i)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de bactéries SA (N_i)	10	27	78	232	650	1800	5100	14100	39000

- On effectue un changement de variable de type logarithmique $Z_i = \ln(N_i)$. Compléter le tableau donné en **annexe à rendre avec la copie**. On arrondira les valeurs au centième.

- À l'aide de la calculatrice, déterminer une équation de la droite d'ajustement Δ du nuage de points (t_i, Z_i) par la méthode des moindres carrés sous la forme $z = at + b$.

On arrondira les valeurs de a et b au millième.

- En utilisant la question précédente, déterminer une expression de la fonction N qui modélise le nombre de bactéries SA à l'instant t exprimé en heures.

Dans la suite, on prendra $N(t) = 10e^{1,04t}$ pour tout réel t de l'intervalle $[0 ; +\infty[$. On admet que la fonction N modélise le nombre de bactéries SA relevées sur le mix en fonction du temps.

- Une population donnée de bactéries voit son effectif doubler au bout d'un temps appelé « temps de génération bactérienne » et noté G . Estimer cette durée G en minutes.

- Calculer la limite de N en $+\infty$.

PARTIE C : Modèle logistique

Dans cette partie, on étudie et on utilise un deuxième modèle, appelé modèle logistique et défini par une fonction M , qui, à tout instant t exprimé en heures, associe le nombre $M(t)$ de bactéries de SA à l'instant t donné par :

$$M(t) = \frac{13500}{1350 \times e^{-1,04t} + 1}$$

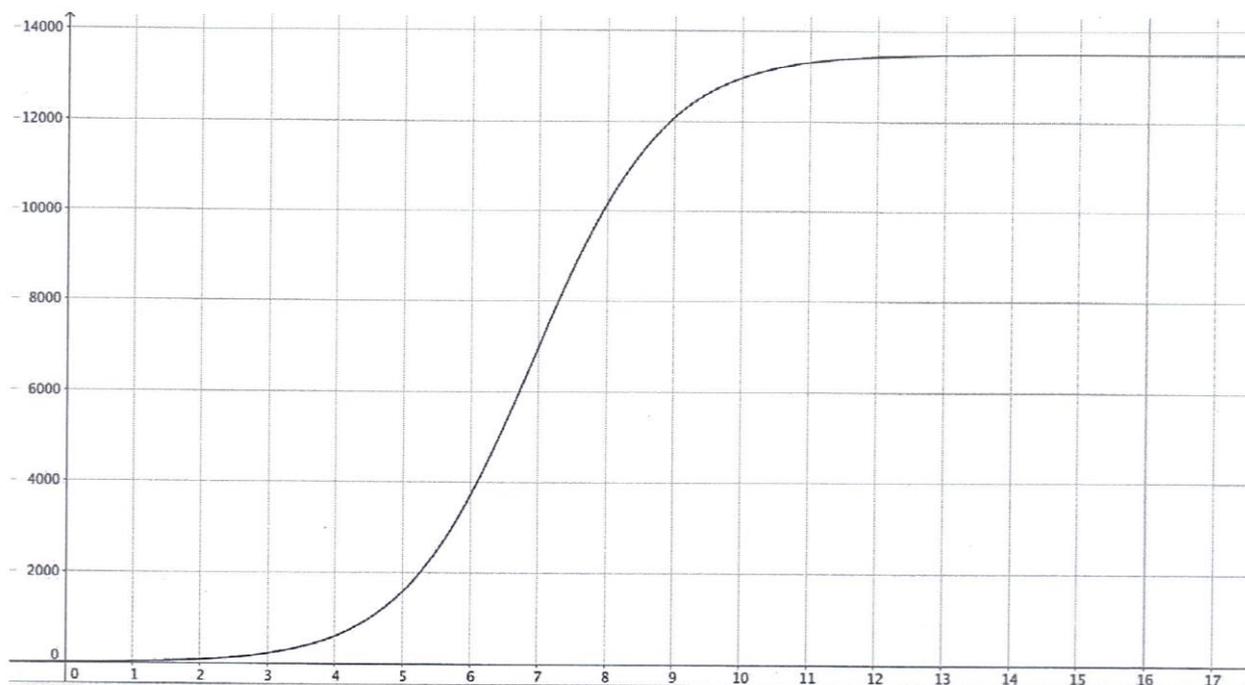
1. La dérivée de M est fournie par un logiciel de calcul formel :

$$M'(t) = \frac{13500 \times 1350 \times 1,04 \times e^{-1,04t}}{(1350 \times e^{-1,04t} + 1)^2}$$

Étudier les variations de la fonction M sur l'intervalle $[0; +\infty[$.

2. a. Déterminer la limite de M en $+\infty$.
 b. L'un des modèles de croissance de bactéries SA (exponentiel ou logistique) est plus vraisemblable. Lequel ?

La courbe représentative de la fonction M est présentée ci-dessous.



3. Déterminer le temps nécessaire pour que le nombre de bactéries SA dépasse 10 000. Arrondir à l'heure.

Pour tout instant t exprimé en heures, le réel $M'(t)$ est appelé vitesse de prolifération bactérienne.

4. Dans cette question, on s'intéresse à l'instant où la vitesse de prolifération bactérienne est maximale. Parmi les quatre propositions suivantes, une seule d'entre elles correspond à une valeur approchée de cet instant. Laquelle ? Pourquoi ?

- a. $t = 4$ h b. $t = 7$ h c. $t = 9$ h d. $t = 16$ h

Exercice 2 (10 points)

Dans cet exercice, les probabilités seront données en valeurs décimales à 10^{-4} près.

Les parties A, B et C peuvent se traiter de façon indépendante.

On s'intéresse à la production industrielle de bouteilles d'eau minérale naturelle ou d'eau de source. On s'intéresse à la qualité de l'eau contenue dans les bouteilles produites : plusieurs paramètres sont pris en compte, notamment microbiologiques (présence de bactéries, de coliformes, de germes...) et physico-chimiques (présence d'arsenic, de nickel...).

PARTIE A : Eau de source et eau minérale naturelle

En 2017, des analyses identiques ont été menées sur la qualité de l'eau de 126 000 bouteilles produites. Ainsi 37 000 bouteilles d'eau minérale naturelle et 89 000 bouteilles d'eau de source ont été analysées.

Parmi les analyses portant sur les bouteilles d'eau minérale naturelle, on constate que 0,12 % des analyses révèlent une eau non conforme. Parmi celles portant sur les bouteilles d'eau de source, on constate que 0,08 % des analyses révèlent une eau non conforme.

On choisit le résultat d'une analyse d'une bouteille d'eau au hasard parmi toutes celles qui ont été réalisées.

Dans la suite, on notera les événements suivants :

- M : « L'analyse porte sur une bouteille d'eau minérale naturelle » ;
 S : « L'analyse porte sur une bouteille d'eau de source » ;
 N : « L'analyse révèle une eau non conforme ».

1. Calculer les probabilités $P(M)$ et $P(S)$.

Pour les deux questions suivantes, on pourra s'aider d'un arbre pondéré.

2. Calculer la probabilité de choisir une analyse qui révèle une eau non conforme.

3. Calculer la probabilité qu'une analyse porte sur une bouteille d'eau minérale naturelle, sachant qu'elle révèle une eau non conforme.

PARTIE B : Étude du nitrate présent dans l'eau

Une entreprise produisant des bouteilles d'eau minérale naturelle affirme que la moyenne du taux de nitrate de sa production est égale à 4,5 mg/L. L'objectif de cette partie est de juger de la véracité de cette affirmation.

On note μ la moyenne, mesurée en mg/L, du taux de nitrate de la production, et σ son écart type.

On réalise 600 prélèvements dans la production. Les résultats sont les suivants :

Taux de nitrate (en mg/L)	[4,2 ; 4,3[[4,3 ; 4,4[[4,4 ; 4,5[[4,5 ; 4,6[[4,6 ; 4,7[[4,7 ; 4,8[
Nombre de prélèvements	5	57	181	233	110	14

1. En faisant l'hypothèse que les valeurs observées sont respectivement celles du centre de chaque classe, déterminer, à l'aide de la calculatrice, la moyenne \bar{x} et l'écart type s de cet échantillon. On donnera les résultats à 10^{-4} près.

2. Vérifier que $s = 0,0976$ est un estimateur de l'écart type σ .

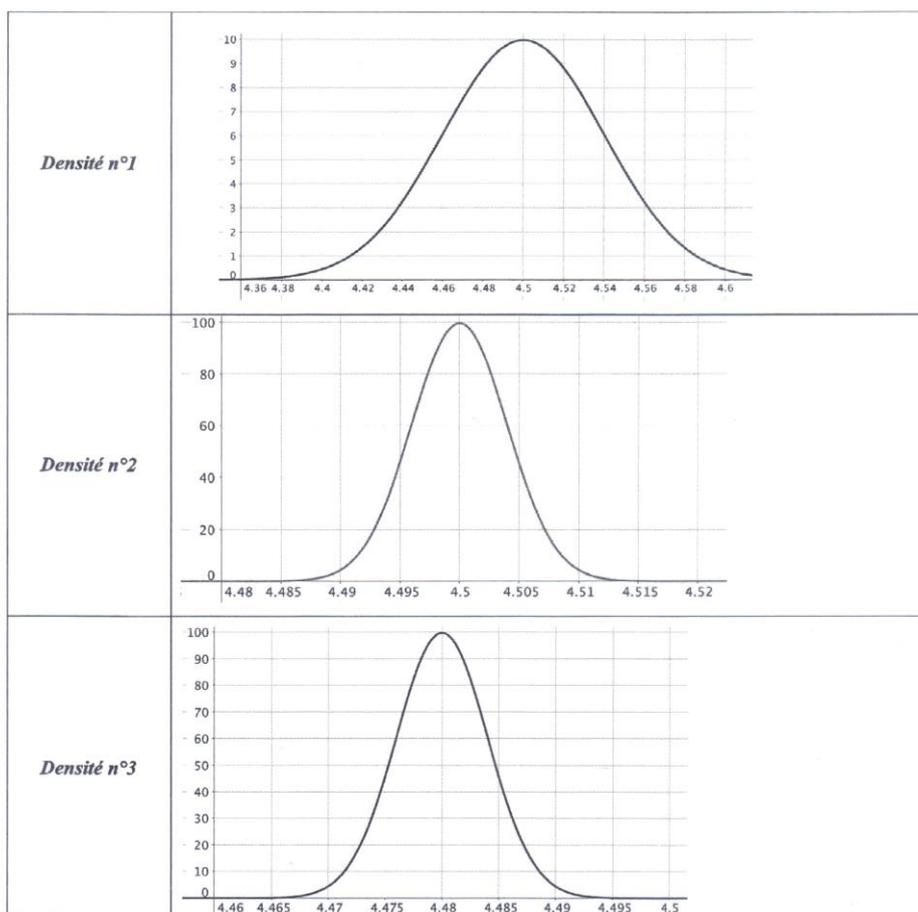
3. On souhaite réaliser le test bilatéral suivant, au seuil de 5% :

$$H_0 : \mu = 4,5 \text{ contre } H_1 : \mu \neq 4,5.$$

Soit \bar{X} la variable aléatoire qui à tout échantillon de 600 prélèvements associe la moyenne du taux de nitrate de ces prélèvements. On considère que \bar{X} suit la loi normale d'espérance μ et d'écart type $\frac{\sigma}{\sqrt{600}}$

Dans la suite, on remplace σ par son estimateur $s = 0,0976$. Sous l'hypothèse H_0 , \bar{X} suit donc approximativement la loi normale d'espérance 4,5 et d'écart type 0,004.

On a présenté les représentations de trois densités de probabilité :



- a) Laquelle de ces trois représentations est associée à la variable aléatoire \bar{X} ? Justifier la réponse.
- b) Donner un nombre réel a à 10^{-3} près vérifiant : $P(4,5 - a \leq X \leq 4,5 + a) \approx 0,95$.
- c) Énoncer la règle de décision de ce test.
- d) D'après les résultats obtenus dans l'échantillon donné, peut-on accepter l'hypothèse $\mu = 4,5$?

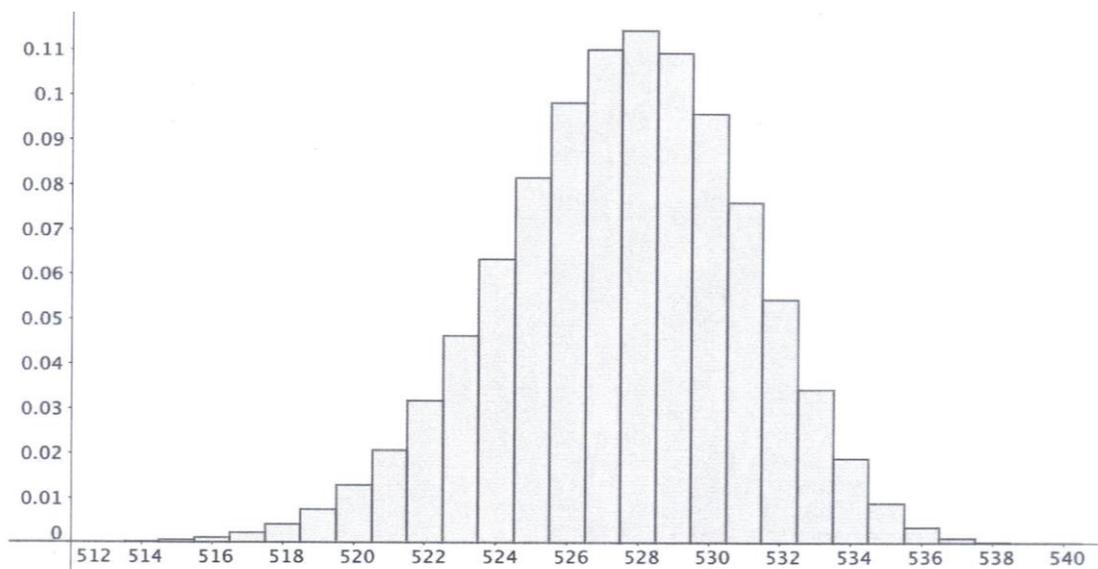
PARTIE C : Distribution

L'entreprise précédente fournit une grande surface en eau minérale. Chaque semaine, 540 bouteilles contenant un litre d'eau minérale sont réceptionnées par la grande surface.

Une bouteille d'eau minérale d'un litre est de très bonne qualité si elle contient moins de 4,7 mg de nitrate.

On prélève au hasard un lot de 540 bouteilles dans la production, jugée suffisamment importante pour assimiler ce choix à un tirage avec remise. On note alors Y la variable aléatoire qui, à chaque lot de 540 bouteilles, associe le nombre de bouteilles de très bonne qualité du lot.

On admet que Y suit une loi binomiale dont une représentation graphique est fournie ci-dessous :



1. Au vu de ce graphique, un biologiste estime que la probabilité qu'un lot de 540 bouteilles prélevé au hasard dans la production contienne moins de 520 bouteilles de très bonne qualité est environ égale à 0,005. A-t-il raison ? Justifier la réponse.
2. On admet que le nombre moyen de bouteilles de très bonne qualité sur l'ensemble des échantillons de 540 bouteilles est égal à 528. Donner alors les paramètres n et p de la loi binomiale suivie par la variable aléatoire Y . On arrondira p à 10^{-3} .

ANNEXE :

EXERCICE 1- QUESTION B.1- À RENDRE AVEC LA COPIE

Heure (t_i)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de bactéries SA (N_i)	10	27	78	232	650	1800	5100	14100	39000
$Z_i = \ln(N_i)$									

Durée : 2 heures Coefficient : 3

Calculatrice autorisée

Autour du champagne

La France est réputée dans le monde entier pour la qualité de ses vins. Le champagne est l'un des plus festifs et son travail s'apparente à un véritable art.

Les vendanges constituent un élément crucial de la réussite d'un grand cru. Leur date doit être celle d'une maturation optimale du raisin. Pour la définir, les viticulteurs doivent connaître la quantité de sucre présente dans les grains de raisins afin que la fermentation alcoolique permette aux vins d'acquérir le pourcentage d'alcool désiré.

La qualité du vin est également mise en avant par sa beauté. Ainsi sa couleur est scrutée afin qu'elle ne s'altère pas avec le temps, ou en fonction de la composition chimique du vin.

Le sujet comporte trois parties indépendantes

PARTIE A – LA MATURITÉ DU RAISIN (5 POINTS)

Afin de déterminer si le raisin est à maturité et si les vendanges peuvent avoir lieu, les viticulteurs scrutent souvent le ciel. En fait, ils regardent au travers d'un appareil qui peut sembler étrange, un réfractomètre (document A1). La mesure de la quantité de sucre donne une première indication qui devra être complétée par l'analyse au laboratoire.

1. Première analyse : le réfractomètre

A.1. Indiquer la nature des ondes mises en jeu dans le réfractomètre utilisé par les viticulteurs.

A.2. Expliquer le phénomène de réfraction décrit dans le **document A1**. L'explication s'appuiera obligatoirement sur un schéma montrant les trois rayons (incident, réfléchi et réfracté).

A.3. Les vendanges ne peuvent commencer que si la teneur moyenne en sucre du jus de raisin est supérieure à 21°B (degré Brix).

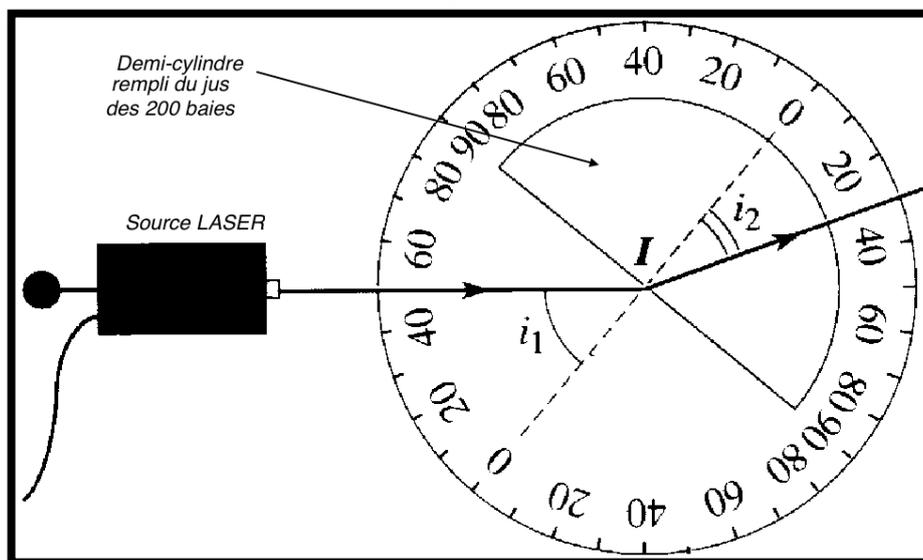
En utilisant la définition du degré Brix indiquée dans le **document A1**, déterminer à partir de quelle concentration massique les vendanges pourront commencer.

2. Deuxième analyse : mesure de l'indice de réfraction au laboratoire

L'analyse du jus de raisin issu de 200 baies permet une mesure plus précise de l'indice de réfraction et ainsi un calcul plus juste de la concentration en sucre.

Pour ce faire, au laboratoire, on met en œuvre le protocole décrit ci-dessous en utilisant le dispositif présenté à la **figure 1**.

Figure 1



Les angles sont mesurés par rapport à la normale à la surface de séparation (droite perpendiculaire à la surface de séparation, en pointillés sur la **figure 1**). La surface de séparation air/jus est la section plane du demi-cylindre.

Protocole pour la mesure de l'indice de réfraction :

- On remplit un demi-cylindre avec le jus des 200 baies de raisin et on le place sur un cercle gradué précisément en degrés ;
- À l'aide d'une source LASER, on envoie un faisceau lumineux qui arrive sur la surface droite du demi-cylindre avec l'angle i_1 désiré ;
- On note l'angle i_2 du faisceau lumineux après avoir traversé le demi-cylindre rempli de jus.

A.4. Lorsque l'angle i_1 était fixé à 30° , on a mesuré un angle $i_2 = 22^\circ$.

À partir de ce résultat et de la loi de Snell-Descartes présentée dans le **document A2**, déterminer l'indice de réfraction du jus de raisin issu des 200 baies.

A.5. On se réfère au tableau de correspondance du **document A3**. L'expérience précédente permet-elle de déterminer avec une précision suffisante le taux de sucre dans le jus de raisin ?

3. Vérification de la teneur en sucre : la densité.

Afin de réaliser une seconde analyse de la teneur en sucre, le laboratoire d'analyse prélève précisément un volume $V = 50,00$ mL d'un échantillon de jus de raisin et le pèse.

La balance indique alors $m = 54,42$ g

A.6. Calculer la masse volumique puis la densité de l'échantillon.

Données. : **masse volumique de l'eau : $1000 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$**

A.7. En utilisant le tableau de correspondance du **document A3**, justifier que les vendanges peuvent être programmées.

Documents de la partie A :

Document A1 : utilisation du réfractomètre dans la vigne

À quoi sert un réfractomètre ?

D'après <https://www.tompress.com>

Le réfractomètre s'utilise chaque fois que l'on souhaite connaître la quantité de sucre dans une solution. L'eau "réfracte" les rayons lumineux en les déviant. Plus on ajoute de sucre dans l'eau, plus les rayons sont déviés. C'est cette déviation des rayons qui permet la mesure au réfractomètre.

Déposez une goutte de produit sucré sur l'appareil et visez. Vous verrez apparaître dans l'ocilleton le taux de sucre de votre produit.



Le degré Brix ($^\circ\text{B}$)

La lecture sur le réfractomètre se fait en degré Brix, noté $^\circ\text{B}$. Le degré Brix est la masse de sucre (en gramme) contenue dans 100 g de liquide.

Document A2 : loi de Snell-Descartes

Loi de Snell-Descartes :

Pour le passage d'un rayon lumineux au travers de la séparation de deux milieux d'indice de réfraction différents, le sinus de l'angle de déviation i_2 dépend des indices de réfractations des deux milieux traversés et du sinus de l'angle i_1 choisi.

Les angles sont mesurés par rapport à la normale à la surface de séparation.

Dans le cas de l'expérience, le faisceau lumineux traverse d'abord l'air (indice de réfraction de l'air : $n_{\text{air}} = 1$) puis le jus de raisin contenu dans le demi-cylindre (l'indice de réfraction du jus est noté n_{jus}).

La loi de Snell-Descartes s'écrit alors : **$n_{\text{air}} \times \sin i_1 = n_{\text{jus}} \times \sin i_2$**

Document A3 : table de correspondance Degré Brix - densité - indice de réfraction

Degré Brix (°B)	Densité	Indice de réfraction	Degré Brix (°B)	Densité	Indice de réfraction
17,5	1,070	1,3595	20,7	1,084	1,3647
18,0	1,072	1,3602	21,1	1,086	1,3655
18,4	1,074	1,3610	21,6	1,088	1,3662
18,9	1,076	1,3617	22,0	1,090	1,3670
19,3	1,078	1,3625	22,5	1,092	1,3677
19,8	1,080	1,3632	22,9	1,094	1,3684
20,2	1,082	1,3640	23,3	1,096	1,3692

PARTIE B – LA FERMENTATION (8 POINTS)

1. Observation microscopique de la peau du raisin

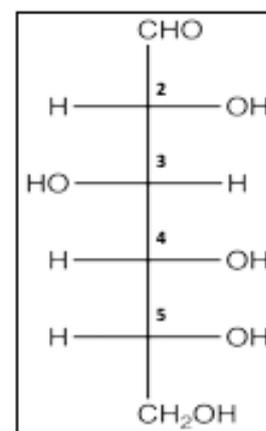
La fermentation alcoolique présentée dans le **document B1** nécessite des levures. Grâce à une analyse microscopique des peaux de raisin, on peut visualiser les levures présentes sur la surface et ainsi évaluer la quantité de ferment nécessaire à l'élaboration du champagne. Pour ce faire, on utilise un microscope qui comporte un oculaire portant l'indication x10 et un objectif comportant l'indication x40.

- B.1.** Donner la signification des indications portées par l'objectif et l'oculaire.
- B.2.** Calculer le grossissement commercial, noté Gc, du microscope.
- B.3.** Une cellule de levure fait au maximum 10 micromètres de long.
 - B.3.a.** Calculer le diamètre apparent θ (en radian) d'une cellule de levure observée à l'œil nu si on la place à une distance de 25 cm.
 - B.3.b.** Sachant que l'œil humain ne peut pas observer des détails de diamètre apparent inférieur à $3,0 \cdot 10^{-4}$ rad, justifier l'intérêt d'utiliser un microscope pour observer une cellule de levure.

2. La fermentation alcoolique à partir du glucose

Un des sucres subissant la fermentation alcoolique est le glucose.

- B.4.** Recopier la représentation de Fischer du glucose (ci-contre) et entourer puis nommer les fonctions présentes.
- B.5.** Indiquer le numéro du (ou des) carbone(s) asymétrique(s) présent(s) dans la molécule.
- B.6.** En utilisant les règles CIP, déterminer la configuration absolue du carbone n°2 du glucose.



Données : numéros atomiques : $Z(\text{H}) = 1$; $Z(\text{C}) = 6$; $Z(\text{O}) = 8$

3. La fermentation alcoolique : le résultat

La fermentation alcoolique produit un alcool.

À l'issue de la fermentation alcoolique, le taux d'alcool ne doit pas dépasser 11 % du volume.

- B.7.** D'après l'équation fournie dans le **document B2**, donner le nom de la molécule d'alcool produite lors de la fermentation alcoolique.
- B.8.** À l'aide du **document B3**, indiquer le spectre infrarouge du **document B4** qui correspond à la structure de la molécule d'alcool formé lors de la fermentation alcoolique. Justifier.
- B.9.** La réalisation d'un spectre RMN est également envisageable pour identifier l'alcool. Donner le nombre de signaux visibles sur le spectre RMN de la molécule d'alcool formé et préciser la multiplicité (ou nombre de pics) du signal relatif au groupement $-\text{CH}_3$. Justifier.

Documents de la partie B :

Document B1 : la fermentation alcoolique : principe

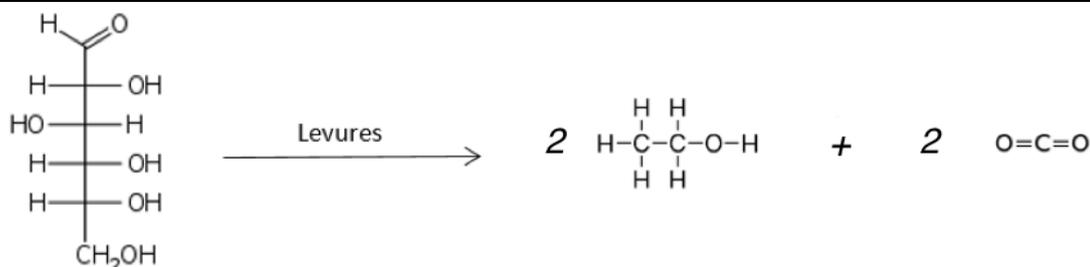
D'après : <http://www.champagne.fr>

La première fermentation des vins de Champagne est la fermentation alcoolique qui transforme le moût en vin. Les levures "mangent" le sucre et produisent ainsi de l'alcool et du gaz carbonique, ainsi que d'autres composants qui construisent les caractéristiques sensorielles du vin.

La fermentation alcoolique peut s'effectuer sous-bois (fûts, foudres...), mais la très grande majorité des élaborateurs privilégie l'utilisation de cuves en acier inoxydable thermo-régulées.

Le « levurage » avec des levures sélectionnées (*Saccharomyces cerevisiae*) sous forme de levain liquide ou de levures sèches actives permet une plus grande maîtrise du processus fermentaire. Sous l'action des levures, les sucres du jus sont transformés principalement en alcool et gaz carbonique, mais les levures produisent également, au cours de la fermentation, un grand nombre de molécules (alcools supérieurs, esters) qui vont contribuer aux arômes et à la saveur du vin. Cette transformation dure une quinzaine de jours environ et génère une forte élévation de la température qu'il est indispensable de réguler, autour de 18-20 °C, afin de limiter les pertes d'arômes et les risques d'arrêt de fermentation.

Document B2 : la fermentation alcoolique : transformation chimique

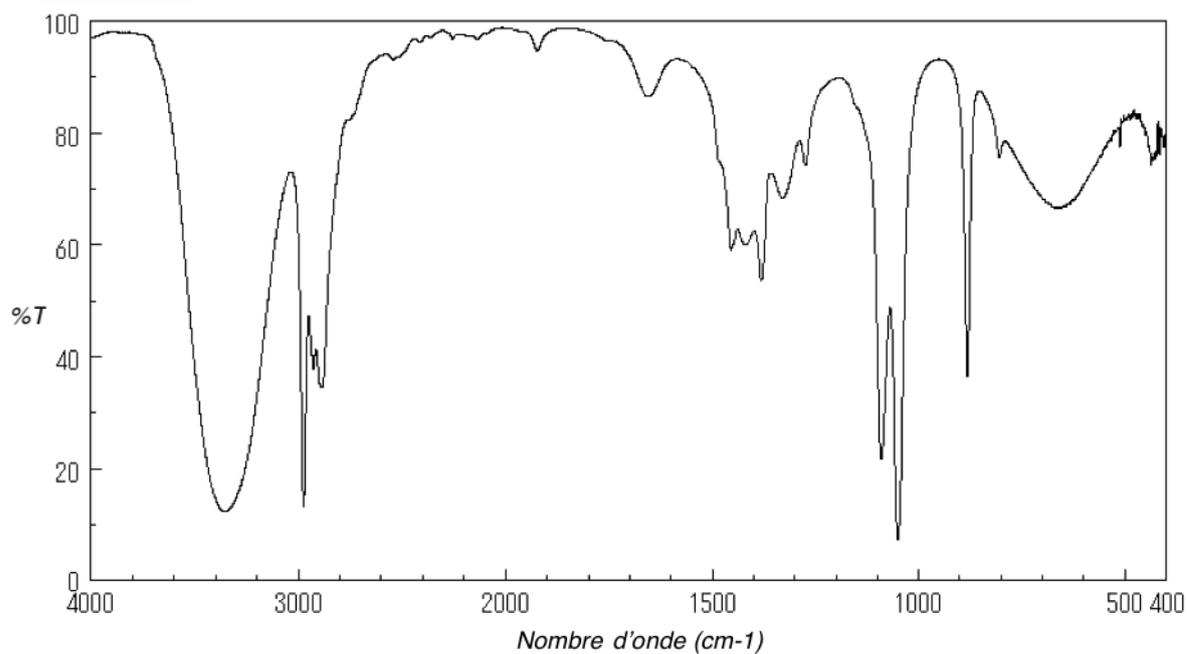


Document B3 : table de données InfraRouge (IR)

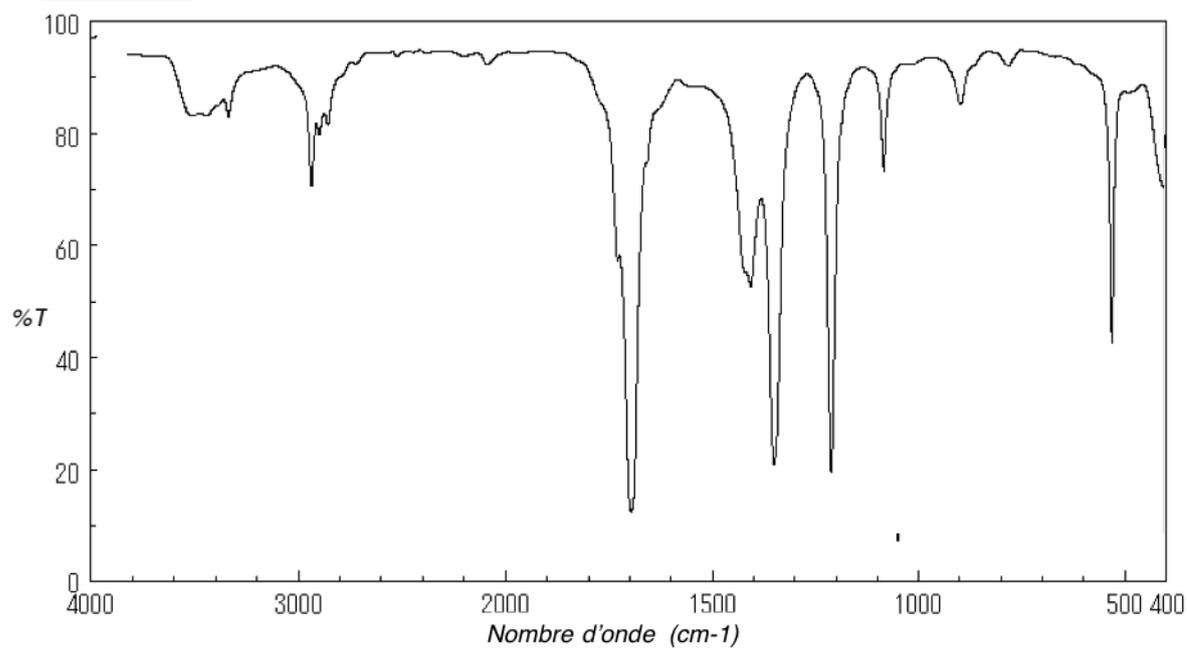
Liaison	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Intensité
O-H alcool	3200 - 3400	Forte, large
O-H acide carboxylique	2500 - 3300	Forte, très large
C=O anhydride	1700 - 1840	Forte, 2 bandes
C=O ester	1700 - 1740	Forte
C=O acide carboxylique	1680 - 1710	Forte
C _{tét} -H	1415 - 1470 2800 - 3000	Faible à forte, 3 à 4 bandes Forte, fine
C _{tét} -O	1000 - 1250	Forte, fine

C_{tét} indique un carbone tétraédrique (donc avec 4 substituants)

Spectre A



Spectre B



PARTIE C – LE FER DANS LE CHAMPAGNE (7 POINTS)

La couleur du champagne est un atout primordial pour la vente ; une altération serait une catastrophe pour un viticulteur. L'une des causes possibles, la teneur en fer. La « casse ferrique » est le nom que l'on donne à cette altération des couleurs. (**Document C1**)

Le viticulteur fait réaliser en laboratoire des analyses pour connaître la teneur en fer de son vin. Le principe de l'analyse est expliqué dans les **documents C2** et **C3**.

1. Oxydation des ions fer II en ions fer III et complexation

C.1. Écrire la demi-équation électronique d'oxydation des ions fer II en fer III en utilisant le couple indiqué dans le **document C2**.

C.2. Écrire l'équation modélisant la formation du complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$.

C.3. Montrer que les ions SCN^- sont introduit en large excès lors de la formation du complexe coloré, sachant que l'on a mis dans le 1^{er} tube à essais :

- 1,0 mL de thiocyanate de potassium (K^+ ; SCN^-) à $1,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
- 10,0 mL de solution d'ion Fe^{3+} à $2,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Donnée : masse molaire du fer, $M_{\text{Fe}} = 55,8 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

C.4. Sachant que la constante de dissociation du complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ est $K_D = 10^{-2,1}$, déterminer la constante de formation, K_F du complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$.

Que peut-on conclure sur la réaction ?

En déduire l'intérêt de mettre les ions SCN^- en excès.

2. Dosage spectrophotométrique

Afin de procéder au dosage spectrophotométrique, on réalise une série de solutions étalons puis on forme le complexe coloré avec chaque solution et enfin, on mesure leur absorbance à 460 nm ainsi que celle du champagne (voir **document C3**).

C.5. Indiquer le protocole permettant de réaliser 50,0 mL de la solution étalon n°4. (Le volume de solution mère à prélever devra être justifié par un calcul).

C.6. Le « blanc » du spectrophotomètre est réalisé avec une solution du champagne préalablement dégazé. Préciser l'intérêt de « faire le blanc ».

C.7. À partir du tableau des résultats présenté dans le **document C3**, réaliser la courbe sur la feuille de papier millimétré fournie (à rendre avec la copie) représentant l'absorbance A en fonction de la concentration massique en ions fer III.

C.8. Citer la loi mise en évidence et préciser les unités des grandeurs qui interviennent.

C.9. Déterminer la concentration massique en fer dans le champagne testé.

C.10. Indiquer si le viticulteur doit s'inquiéter d'une éventuelle casse ferrique de son champagne.

C.11. Inventorier les différentes sources d'erreurs possibles lors de cette analyse.

Documents de la partie C :

Document C1 : la casse ferrique

D'après : www.dico-du-vin.com

La casse est un accident ou une maladie du vin qui conduit à une altération des couleurs et à une perte de limpidité. Elle peut être provoquée par l'air, la lumière, les microbes, la chaleur,...

Il existe plusieurs types de casse dont la **casse ferrique** ou casse bleue (vins rouges) ou casse blanche (vins blancs) ; c'est une casse de vins oxydés (présence de dioxygène obligatoire). Elle est due à l'insolubilité du fer à l'état ferrique. Cette maladie est provoquée par un excès de fer (plus de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) dans le vin. C'est pourquoi le matériel de vendange et de cuve est pour la plupart en acier inoxydable. Cette casse est issue d'une action chimique (oxydation enzymatique ou modification de sels métalliques) et elle provoque un trouble et un changement de couleur.

Document C2 : principe du dosage des ions fer dans un vin

Lors de ce dosage, on dose l'ensemble des ions fer présents dans le vin, à savoir les ions Fe^{2+} et Fe^{3+} .

Pour ce faire, on oxyde entièrement les ions Fe^{2+} en présence d'eau oxygénée H_2O_2 , en milieu acidifié par de l'acide chlorhydrique.

Les couples oxydant-réducteur mis en jeu sont : ($\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$) et ($\text{H}_2\text{O}_2 / \text{H}_2\text{O}$)

Les ions Fe^{3+} formés sont ensuite mis en évidence par l'ajout d'une solution de thiocyanate de potassium (K^+ ; SCN^-) qui permet la formation du complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ de couleur rouge.

Le complexe ainsi formé est donc coloré, ce qui permet la réalisation d'un dosage spectrophotométrique.

Document C3 : réalisation du dosage

1-Préparation des solutions étalons

À partir d'une solution mère de concentration massique en ion fer III de $C_0 = 25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, on prépare 50 mL de chacune des solutions étalons selon le tableau suivant :

N° de la solution étalon	1	2	3	4
Concentration massique en ions fer III (en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	2	4	6	10
Volume de S_0 à prélever (en mL)	4	8	12	---

2-Formation du complexe coloré

- Verser dans des tubes à essais :
 - 10,0 mL de solution étalon ;
 - 5 gouttes de solution d'eau oxygénée à 20 volumes ;
 - 1,0 mL d'acide chlorhydrique à $6,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
 - 1,0 mL de solution de thiocyanate de potassium à $1,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
- Faire de même avec 10 mL de champagne dégazé.

3-Mesure des absorbances

Choisir la longueur d'onde de travail et mesurer l'absorbance de chaque solution.

Les résultats des mesures d'absorbance pour les 4 solutions et pour le champagne dégazé sont notés dans le tableau ci-dessous :

N° de la solution étalon	1	2	3	4	Champagne
Absorbance (notée A)	0,12	0,32	0,43	0,69	0,15

Durée : 4 heures Coefficient : 5

Calculatrice autorisée

LE CACAO

La fève de cacao est la matière première de toute la filière du chocolat. Le procédé de fabrication est présenté en **annexe 1**.

Des études biochimiques, microbiologiques et toxicologiques sont réalisées à différentes étapes du processus de fabrication dans le but d'une amélioration continue des produits issus de la filière du cacao.

PARTIE 1 :

ÉTUDE DE LA FERMENTATION DES GRAINES (41 POINTS)

L'écabossage est réalisé rapidement après la récolte afin de récupérer les graines. Entre la récolte et l'exportation, les graines extraites des fruits du cacaoyer subissent plusieurs transformations dont la fermentation.

La fermentation du cacao est une opération entièrement naturelle et spontanée. L'action des microorganismes étant aléatoire, une optimisation du procédé de transformation des graines de cacao est réalisée.

1. FERMENTATION DE LA PULPE

La pulpe contient principalement :

- Eau (80 %),
- Glucides (17 %) dont amidon et pectines,
- Acide citrique (proportion non précisée) induisant un pH de 3.

1.1. Fermentation par les levures

Des souches de levure dont *Saccharomyces chevalieri* ont été isolées du cacao en fermentation.

Des essais de culture de cette souche ont été mis en œuvre en fermenteur pilote.

1.1.1. Une image de microscopie électronique de levure est proposée en **annexe A**. Annoter le document et le remettre avec la copie.

En vous aidant de l'**annexe A**, préciser et justifier le type cellulaire (au moins deux critères sont attendus).

1.1.2. Préciser une condition physico-chimique qui favorise la fermentation de la pulpe par les levures. Indiquer le substrat indispensable.

1.1.3. Les produits de réaction obtenus lors de cette fermentation sont l'éthanol et le dioxyde de carbone. Cette fermentation dure 24 heures. Donner le nom de cette fermentation.

1.1.4. La fermentation alcoolique et la respiration sont deux processus métaboliques. Comparer ces deux processus en complétant le tableau fourni en **annexe B**.

1.1.5. L'**annexe 2** présente l'évolution du pH de la pulpe au cours de la fermentation du cacao. Analyser la courbe. A l'aide de la composition de la pulpe, proposer une hypothèse pouvant rendre compte de la variation de pH.

1.2. Transformations par les bactéries

Des enzymes pectinolytiques provoquent l'écoulement de la pulpe favorisant la pénétration de l'air. Les conditions deviennent alors favorables au développement des bactéries. Des brassages manuels sont effectués à 24, 48 et 96 heures pour entretenir la pénétration de l'air. Les microorganismes présents sont majoritairement des bactéries acétiques.

1.2.1. L'évolution de la température lors de la transformation de la pulpe est donnée en **annexe C**. L'éthanol est oxydé en acide acétique lors d'une réaction exothermique.

Nommer une bactérie capable de réaliser cette oxydation.

Délimiter sur l'**annexe C** la zone anaérobie correspondant à la fermentation alcoolique par les levures, et la zone aérobie correspondant à l'oxydation de l'éthanol par les bactéries acétiques.

1.2.2. Placer sur la représentation graphique les brassages manuels réalisés et expliquer les conséquences sur l'évolution de la température.

1.2.3. Durant la phase exponentielle, le suivi de croissance est réalisé par des dénombrements bactériens en parallèle des mesures de température. Un dénombrement est réalisé à 24 heures puis à 36 heures de fermentation. Le mode opératoire est exposé dans l'**annexe 3**.

Donner le principe du dénombrement des bactéries par culture en surface.

Déterminer la concentration en nombre d'unités formant colonie (UFC) de bactéries acétiques par gramme de fèves de cacao à 24 heures de fermentation. Écrire l'équation aux grandeurs et l'équation aux valeurs numériques.

Donnée : sur la boîte correspondant à la dilution décimale 10^{-2} , 60 colonies sont dénombrées.

1.2.4. À 36 heures de fermentation, les bactéries acétiques se trouvent en fin de phase exponentielle. La concentration bactérienne est alors de $2,3 \cdot 10^7$ bactéries par gramme.

Déterminer la vitesse spécifique de croissance. En déduire le temps de génération.

1.2.5. Une mauvaise maîtrise de la fermentation peut conduire à une production d'acide lactique. Celui-ci s'accumule à l'intérieur des cotylédons générant des cacaos acides dont la valeur marchande est très dépréciée.

Donner deux genres de bactéries capables de produire de l'acide lactique.

Nommer et caractériser les deux types de fermentation lactique.

2. CONTAMINATIONS DANS LES COTYLÉDONS

Pendant le déroulement des différentes phases microbiennes dans la pulpe, des réactions enzymatiques et biochimiques ont lieu au sein du cotylédon.

2.1. Contamination d'origine bactérienne

Lors de fermentations trop longues ou d'aération excessive, des bactéries aérobies strictes produisent des amines biogènes qui indiquent un début de putréfaction.

2.1.1. Citer le processus biochimique qui permet d'obtenir des amines biogènes.

2.1.2. Nommer une amine biogène.

2.2. Contamination d'origine fongique

L'élévation de la température due à l'action des bactéries acétiques participe à la perte du pouvoir germinatif des graines. La germination des graines favorise la pénétration des moisissures.

2.2.1. Caractériser les moisissures en précisant leur place dans la classification biologique, leur type cellulaire, leur morphologie, leurs types trophiques et leurs modes de reproduction.

2.2.2. Préciser l'origine de la contamination par les moisissures.

2.2.3. Indiquer les conséquences de la présence de moisissures dans les fèves de cacao.

PARTIE 2 :

RISQUES TOXICOLOGIQUES DU CACAO (16 POINTS)

1. L'OCHRATOXINE

Le cacao est susceptible de contenir l'ochratoxine A (ou OTA) qui est une molécule dangereuse et peut, à ce titre, présenter un risque toxicologique potentiel.

L'ochratoxine A est produite par certaines espèces d'*Aspergillus* comme *A.carbonarius*, *A.niger*, *A.ochraceus*. Ce métabolite fongique est classé comme cancérigène, néphrotoxique, tératogène et mutagène.

1.1. Donner la définition de tératogène et de mutagène.

1.2. Au cours de la phase d'exposition et dans le cas du cacao, indiquer la voie de pénétration de l'OTA.

2. ÉTUDE DE LA TOXICITÉ DE L'OCHRATOXINE

Afin d'étudier la cytotoxicité de l'ochratoxine A, les effets de l'exposition à de faibles concentrations de la toxine sur la prolifération en culture *in vitro* d'une lignée cellulaire sont mesurés.

L'évaluation de la prolifération cellulaire par le test au Méthyl Thiazol Tétrazolium (test MTT) est présentée dans l'**annexe 4**.

2.1. Schématiser les principales étapes du test MTT.

2.2. Interpréter les résultats fournis dans l'**annexe 4**.

2.3. Déterminer la concentration en OTA pour laquelle 50 % de l'effet cytotoxique (IC50) est observé.

Expliquer la démarche de détermination.

2.4. Il est nécessaire d'encadrer ce risque toxicologique vis-à-vis de l'ochratoxine A en établissant des limites comme la Dose Journalière Tolérable (DJT).

Définir la DJT.

Expliquer la méthode de calcul pour déterminer la DJT.

3. DOSAGE DE L'OCHRATOXINE

Une contamination à l'OTA d'un lot de chocolat de marque distributeur est suspectée. Un contrôle qualité est effectué sur un échantillon d'une masse de 10,0 g. L'ochratoxine A est purifiée par une méthode d'immuno-affinité, puis dosée par chromatographie en phase liquide haute performance. La limite de conformité est de 1,5 µg d'OTA/kg de chocolat.

3.1. Présenter le principe de la méthode de purification utilisée.

3.2. conclure sur la conformité de l'échantillon de chocolat analysé.

Donnée : résultat du dosage : $m_{\text{OTA, échantillon chocolat}} = (8 \pm 0,5) \text{ ng}$

PARTIE 3 :

ÉTUDE DES CONSTITUANTS DU CHOCOLAT (43 POINTS)

Le chocolat est constitué du mélange, dans des proportions variables, de pâte de cacao, de beurre de cacao et de saccharose. L'ajout éventuel d'épices, comme la vanille, ou de matière grasse végétale autre que le beurre de cacao, est autorisé et réglementé.

1. LA SAVEUR SUCRÉE DU CHOCOLAT

La fève de cacao est naturellement peu sucrée et amère.

Le saccharose est ajouté pour donner au chocolat une saveur sucrée très appréciée du consommateur.

1.1. Le saccharose

Décrire la molécule de saccharose (α -D glucopyranosyl - (1-2) β -D fructofuranoside) : place dans la classification, formule chimique en représentation cyclique de Haworth.

1.2. Le sucre inverti

Les industriels utilisent souvent le sucre inverti à la place du saccharose.

1.2.1. Après avoir défini le sucre inverti, justifier le qualificatif « inverti ».

Écrire la réaction d'obtention du sucre inverti. La formule chimique en représentation cyclique de Haworth et la nomenclature officielle des produits sont attendues, ainsi que le nom de l'enzyme catalysant cette réaction.

1.2.2. Analyser chaque document de l'**annexe 5**.

Formuler deux hypothèses qui justifient l'utilisation par les industriels du sucre inverti à la place du saccharose, au cours de la fabrication du chocolat.

2. LE CHOCOLAT ALLÉGÉ EN SACCHAROSE

Certaines enseignes de l'industrie alimentaire commercialisent un chocolat allégé en saccharose qui présente un intérêt pour le régime alimentaire de certains malades.

Dans ce type de produit, le saccharose est remplacé par un édulcorant artificiel. L'édulcorant utilisé par l'entreprise est l'aspartame.

Un contrôle qualité est réalisé sur une gamme de tablettes de chocolat allégé.

Des informations sur la molécule d'aspartame sont fournies en **annexe 6** et un extrait de la notice du coffret de dosage de l'aspartame est donné en **annexe 7**.

2.1. Édulcorant : l'aspartame

L'Aspartame est un dipeptide composé dans l'ordre de l'acide aminé L-aspartique et de l'acide aminé L-phénylalanine méthylé sur son extrémité carboxylique.

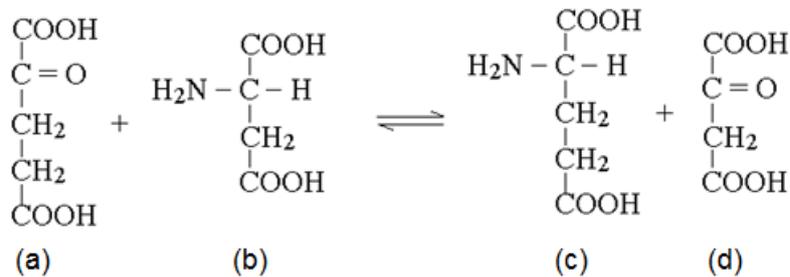
2.1.1. Écrire l'acide L-aspartique en représentation linéaire de Fisher.

2.1.2. Écrire la formule chimique semi-développée de l'aspartame. Nommer la liaison qui unit les deux acides aminés et l'indiquer sur la formule.

2.2. Dosage de l'aspartame

La fiche technique du dosage enzymatique de l'aspartame est donnée dans l'**annexe 7**.

2.2.1. Lors du dosage, la réaction 3 est catalysée par une transaminase (GOT : glutamate-oxaloacétate transaminase ou ASAT : aspartate-amino transférase). Elle est détaillée ci-dessous :



Identifier, en le justifiant, le(s) α -cétoacide(s) et le(s) acide(s) aminé(s). Nommer le composé (d).

Écrire l'équation générale d'une réaction de transamination.

En déduire la classe enzymatique des transaminases.

2.2.2. Justifier le choix de la longueur d'onde et l'évolution de l'absorbance observée pour l'essai.

2.2.3. L'annexe 7 précise la limite de détection et la zone de linéarité du coffret de dosage de l'aspartame.

Expliquer ces termes.

2.2.4. La relation permettant le calcul de la concentration massique en aspartame de l'échantillon testé en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ est :

$$\rho_{(\text{Aspartame}; \text{échantillon})} = 0,1425 \times \Delta A.$$

Retrouver le facteur 0,1425.

Calculer la concentration massique en aspartame dans l'échantillon.

Donnée : $\Delta A = (A1 \text{ essai} - A2 \text{ essai}) - (A1 \text{ témoin} - A2 \text{ témoin})$

2.2.5. L'échantillon testé a été préparé par pesée exacte d'une masse $m = 1,00 \text{ g}$ de chocolat, dissoute dans une fiole jaugée de 100 mL et complétée au trait de jauge.

Calculer la teneur en aspartame d'une tablette de chocolat, en g d'aspartame pour 100 g de chocolat.

2.2.6. La dose journalière admissible (DJA) préconisée par l'EFSA (Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire) est de 40 mg d'aspartame par kg de masse corporelle.

Calculer le nombre maximal de tablettes de chocolat pouvant être consommées sans risque par une femme de 55 kg .

3. LES MATIÈRES GRASSES DU CHOCOLAT

Le beurre de cacao est la matière grasse végétale principale entrant dans la composition du chocolat. La composition en acides gras du beurre de cacao est précisée en annexe 8.

3.1. Donner les formules semi-développées de l'acide palmitique et de l'acide oléique.

3.2. Commenter l'évolution de la température de fusion des acides gras en fonction du nombre d'insaturation et justifier la température de fusion du chocolat.

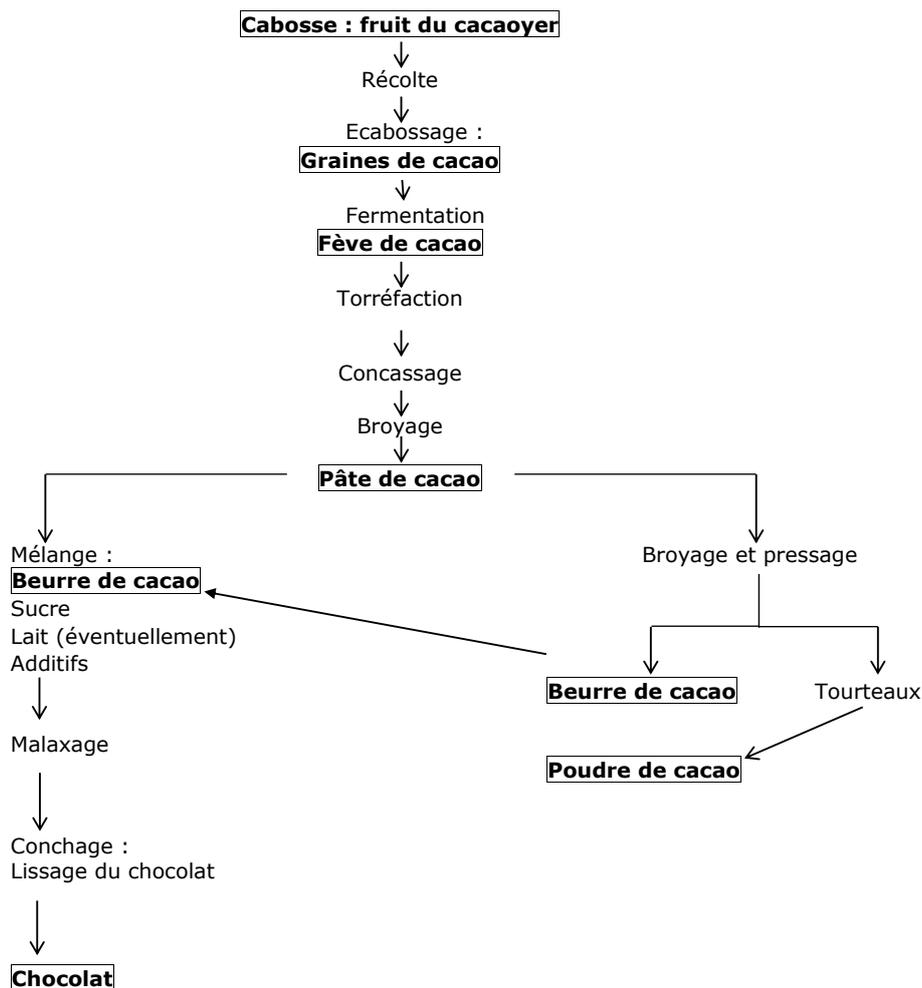
3.3. La législation européenne autorise l'ajout, dans le chocolat, de 5% de matière grasse végétale hydrogénée autre que le beurre de cacao.

Expliquer la modification biochimique de l'hydrogénation des matières grasses végétales.

Citer un avantage lié à l'ajout de matière grasse végétale hydrogénée dans la fabrication du chocolat.

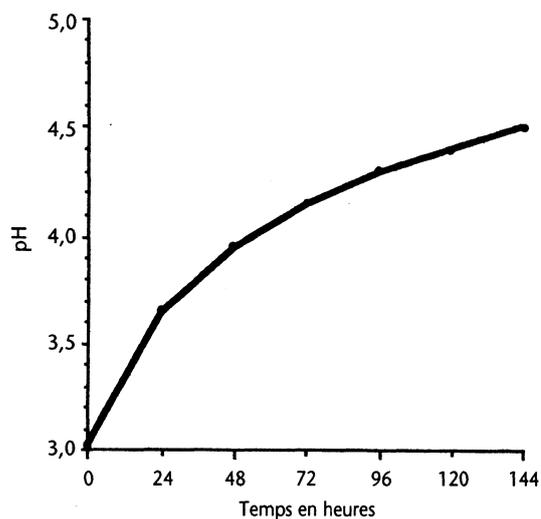
ANNEXE 1 :

DIAGRAMME DE FABRICATION DU CHOCOLAT



ANNEXE 2 :

ÉVOLUTION DU pH DE LA PULPE AU COURS DE LA FERMENTATION DU CACAO



ANNEXE 3 :

MODE OPÉRATOIRE POUR LE DÉNOMBREMENT DES BACTÉRIES PAR CULTURE EN SURFACE

Une suspension mère est préparée par broyage de 25 grammes de fèves de cacao dans 225 mL d'eau peptonnée tamponnée. A partir de cette suspension mère (dilution 10^{-1}), des dilutions décimales sont ensuite effectuées et ensemencées en surface de la gélose de dénombrement, à raison de 0,1 mL.

ANNEXE 4 :

ÉVALUATION DE LA PROLIFÉRATION CELLULAIRE PAR LE TEST AU MTT

Présentation :

Méthode : colorimétrie en microplaques

Utilisation : Évaluation de la viabilité cellulaire, de la prolifération, de la cytotoxicité

Échantillons : cellules en cultures adhérentes ou en suspension

Principe : incubation des cellules avec du MTT (bromure de (3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-diphényltétrazolium) suivie d'une solubilisation de produit coloré et de sa mesure spectrophotométrique

Durée : 5 à 28 heures

Contenu du coffret de dosage : MTT et solution de solubilisation

Principe et technique :

Le coffret permet de mesurer l'activité métabolique des cellules viables. Le test est basé sur l'utilisation de substances non radioactives et peut être réalisé en microplaques.

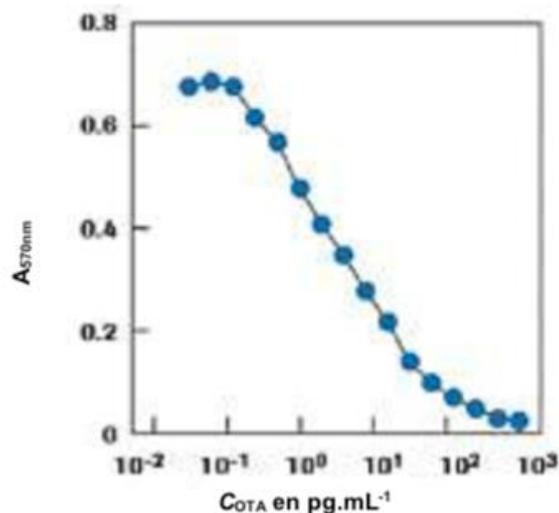
Le principe du test repose sur la réduction du sel de tétrazolium MTT par les cellules viables. La réaction produit un sel de formazan bleu insoluble dans l'eau qui doit être solubilisé avant mesure.

La technique nécessite de cultiver les cellules en microplaques puis de les incuber en présence d'une solution de MTT pendant environ 4 heures.

Pendant la période d'incubation, les cellules viables transforment le MTT en un colorant insoluble le formazan. Celui-ci doit être solubilisé dans la microplaque avant d'être mesuré à l'aide d'un lecteur de microplaque.

L'absorbance à 570 nm mesurée est directement proportionnelle au nombre de cellules viables.

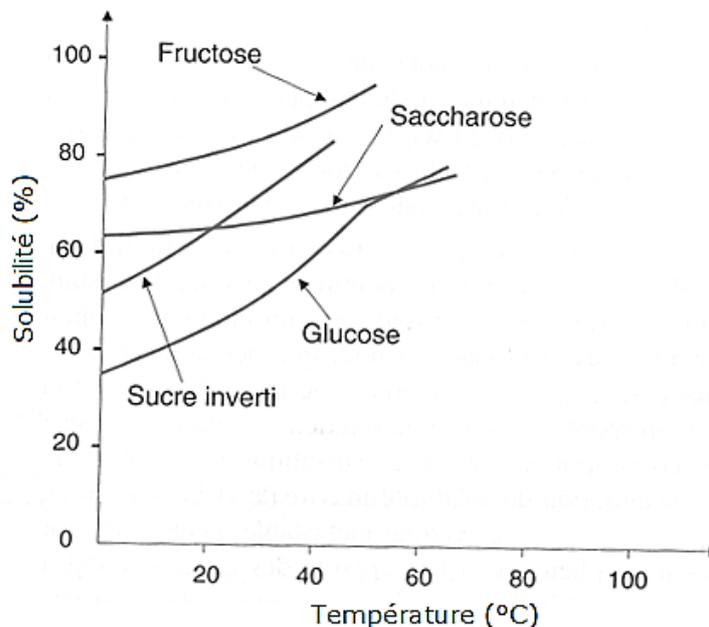
Détermination de l'activité cytotoxique de l'OTA sur les cellules CHO-K1, résultats :



ANNEXE 5 :

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE QUELQUES GLUCIDES

Document 1 : Solubilité de glucides en fonction de la température



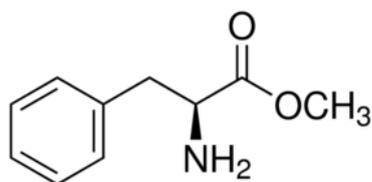
Document 2 : Pouvoir sucrant de glucides

	Pouvoir sucrant relatif
Saccharose	1,0 (référence)
Fructose	1,3
Glucose	0,7
Maltose	0,5
Lactose	0,3

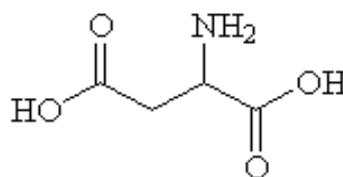
ANNEXE 6 :

L'ASPARTAME

Formules chimiques développées des constituants de l'aspartame



L-Phénylalanine méthyliée



Acide L-Aspartique

ANNEXE 7 :

DOSAGE ENZYMATIQUE DE L'ASPARTAME

Document extrait de la notice Megazyme

Réactions de dosage de l'aspartame :

La détection de l'aspartame nécessite un **traitement préalable** de l'échantillon à pH basique afin d'hydrolyser la liaison O-méthyle (1) :



Ce traitement entraîne une dilution de l'échantillon au 4/5^{ème}.

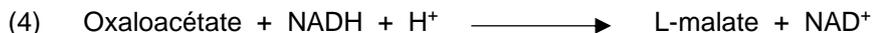
Après hydrolyse du groupement méthyle, l'acide aspartique est hydrolysé par une dipeptidase (Pep M) selon la réaction (2) :



L'acide L-aspartique est transformé en oxaloacétate et L-glutamate en présence de 2-oxoglutarate et de la glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT), réaction (3) :



Enfin, l'oxaloacétate est converti en malate par la malate déshydrogénase (L-MDH), en présence de NADH,H⁺ (4) :



Composition du kit :

- Réactif 1 : Tampon, pH 8,0 ; 2-oxoglutarate
- Réactif 2 : NADH,H⁺
- Réactif 3 : L-MDH, GOT
- Réactif 4 : Pep M

Protocole de dosage :

Réactifs	Témoin	Essai
Eau désionisée (25 °C)	2,00 mL	1,00 mL
Échantillon traitée	-	1,00 mL
Réactif 1	0,20 mL	0,20 mL
Réactif 2	0,20 mL	0,20 mL
Réactif 3	0,02 mL	0,02 mL
Mélanger. Lire l'absorbance (A ₁) à 340 nm au bout de 4 minutes environ. Déclencher la réaction par ajout :		
Réactif 4	0,02 mL	0,02 mL
Mélanger. Lire l'absorbance (A ₂) à 340 nm au bout de 5 minutes environ		

La zone de linéarité est comprise entre 10 et 150 µg d'aspartame par essai.

La limite de détection est de 1,14 µg.

Les résultats des mesures effectuées sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	Témoin	Essai
A1	0,685	0,687
A2	0,683	0,400

Données :

Masse molaire de l'aspartame = 294,31 g•mol⁻¹

Coefficient d'absorbance linéique molaire du NADH à 340 nm = 6300 L•mol⁻¹.cm⁻¹

Largeur de la cuve l = 1 cm

ANNEXE 8 :

LES ACIDES GRAS DU CHOCOLAT

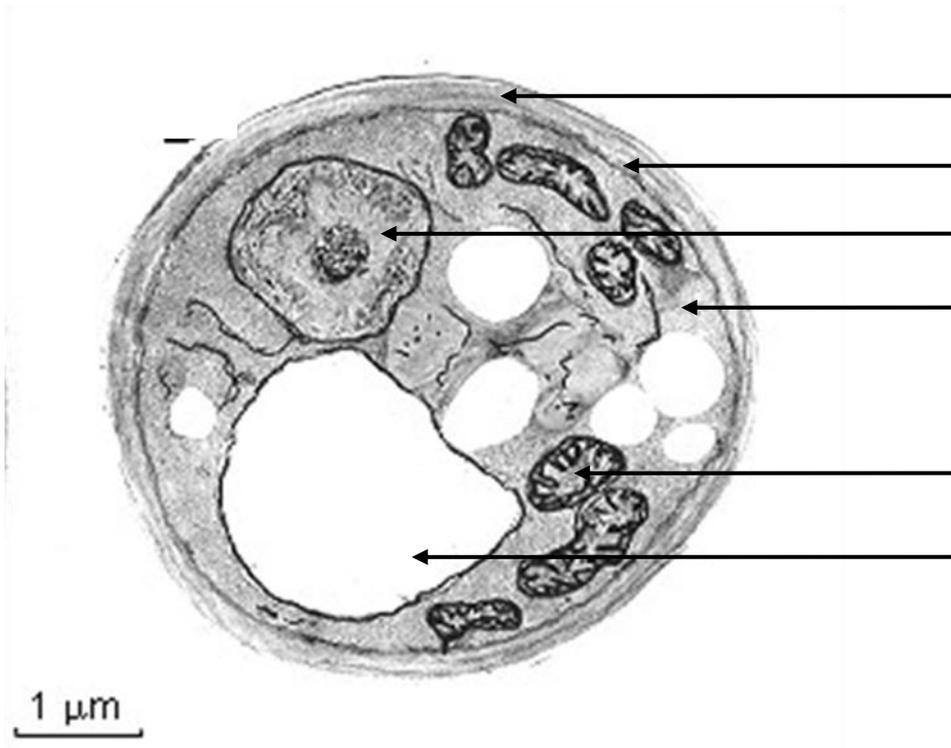
Composition et température de fusion des acides gras des lipides du chocolat

Acides gras	Composition en %	Température de fusion en °C
Acide palmitique C16 : 0	26	63
Acide stéarique C18 : 0	34	70
Acide oléique C18 : 1 (n-9)	34	13
Acide linoléique C18 : 2 (n-6)	6	-12

Donnée : la température de fusion du chocolat est voisine de 34 °C.

ANNEXES À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

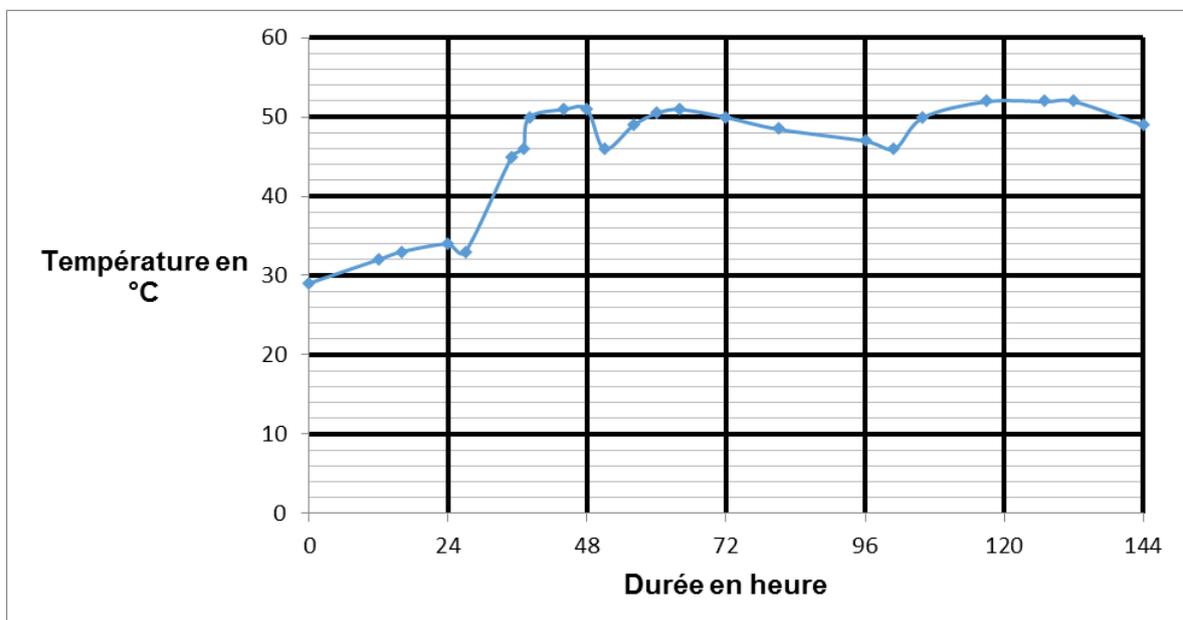
ANNEXE A : MICROGRAPHIE ÉLECTRONIQUE DE LEVURE



ANNEXE B : COMPARAISON RESPIRATION ET FERMENTATION ALCOOLIQUE

	RESPIRATION	FERMENTATION
Devenir du pyruvate		
Atmosphère		
Localisation cellulaire		

**ANNEXE C : ÉTAPES DE LA FERMENTATION LIÉES A L'AÉRATION
ÉVOLUTION DE LA TEMPÉRATURE EN FONCTION DU TEMPS**



FABRICATIONS DE PRODUITS À BASE DE FRUITS

Les entreprises agroalimentaires transforment les produits agricoles pour en augmenter la valeur ajoutée. La transformation des fruits permet de résoudre le problème de leur conservation tout en valorisant leurs qualités organoleptiques. Deux entreprises agroalimentaires, Kerby et Mélifruits, produisent différentes préparations élaborées à base de fruits dont certaines surgelées.

PREMIÈRE PARTIE : SCIENCE DES ALIMENTS (50 POINTS)

Dans une de ses chaînes de fabrication, l'entreprise agroalimentaire Kerby fabrique des mini-cakes à base de génoise fourrée à la confiture de framboises.

1. LA CONFITURE DE FRAMBOISES (22 points)

1.1. Les fruits

Les **annexes 1 et A** présentent la formation d'un fruit de type drupe (fruit charnu à noyau) et l'évolution de la courbe respiratoire d'un fruit climactérique.

1.1.1. Donner la définition d'un fruit au sens botanique du terme.

1.1.2. Expliquer ce qui caractérise un fruit climactérique et tracer sur l'**annexe A** la courbe de production d'éthylène.

1.1.3. Expliquer pourquoi on ne mélange pas dans un entrepôt de stockage longue durée des fruits mûrs et des fruits pas mûrs.

1.1.4. Les framboises sont des fruits non climactériques. Tracer sur l'**annexe A** la courbe respiratoire d'un fruit non climactérique.

1.1.5. Décrire les modifications biochimiques que subissent les fruits en cours de maturation et les modifications organoleptiques qui en résultent (trois éléments de réponses attendus au moins).

1.1.6. La framboise est sensible au brunissement enzymatique. La réaction enzymatique est présentée en **annexe 2**. Présenter trois moyens de lutter contre cette réaction, agissant chacun sur un élément différent de la réaction. Préciser leur mode d'action.

1.2. La confiture de framboises

La confiture de framboises est fabriquée à partir de purée de framboises surgelée à laquelle sont ajoutés 25 % de fruits entiers surgelés. La matière sèche moyenne du mélange est de 13 %. Du sucre est ajouté en proportion égale à celle des fruits (confiture 50/50) ainsi que des pectines en fin de cuisson.

L'**annexe 3** présente la réglementation actuelle relative aux différentes dénominations possibles pour ces produits.

1.2.1. Définir la dénomination exacte correspondante au produit fabriqué en la justifiant.

1.2.2. Calculer la teneur en matière sèche du mélange initial fruits-sucre.

1.2.3. Présenter succinctement l'opération unitaire qui permet d'atteindre une teneur en matière sèche de 70 % correspondant à la valeur généralement recherchée pour assurer la stabilité du produit.

1.2.4. Préciser la principale altération possible d'une confiture et donner deux causes possibles à l'origine de cette altération.

De la pectine est ajoutée à la préparation de la confiture de framboises car ces fruits en contiennent naturellement trop peu. Dans les confitures on utilise des pectines hautement méthylées. La structure générale des pectines est donnée en **annexe 4**. Les caractéristiques physico-chimiques de la pectine utilisée sont données en **annexe 5**.

1.2.5. Indiquer le rôle de la pectine dans le produit fini.

1.2.6. Sachant que les molécules de pectines riches en charges négatives doivent se rapprocher pour pouvoir se lier par les liaisons faibles, expliquer l'importance de la méthylation et de l'abaissement du pH nécessaire.

1.2.7. Le pH de la préparation en fin de cuisson est proche de celui de la purée de framboises (**voir annexe 11**). Il est donc inutile d'ajouter de l'acide citrique. Justifier cette affirmation.

2. LA GÉNOISE (16 points)

La génoise est composée de farine, d'œuf entier liquide, de sucre et de levure chimique.
Le diagramme de fabrication de la génoise est présenté **annexe 6**.

2.1. La farine de froment

La farine de froment utilisée lors de la préparation de la génoise est de type 45. L'entreprise envisage de proposer une génoise à la farine complète type 115.

2.1.1. Expliquer à quel paramètre fait référence le « type » de farine. Expliquer la corrélation entre « le type » et la couleur de la farine.

2.1.2. Justifier l'intérêt d'utiliser une farine complète bio plutôt qu'une farine complète issue de l'agriculture traditionnelle.

2.1.3. Citer les deux espèces de blé utilisées en agroalimentaire en précisant ce qui les différencie sur le plan biochimique et indiquer leurs applications respectives.

2.1.4. Expliquer la notion de force boulangère d'une farine et dire si cette propriété est importante dans la fabrication de la génoise. Justifier la réponse.

2.2. Les œufs et les ovoproduits

Les œufs sont utilisés dans ce produit pour leurs propriétés fonctionnelles, mais également pour leurs apports nutritionnels. La composition détaillée des éléments de l'œuf et des informations nutritionnelles sont donnés en **annexe 7**.

2.2.1. Argumenter la haute valeur biologique de l'œuf en vous appuyant sur la composition du jaune et du blanc.

2.2.2. Donner les propriétés de l'œuf intervenant dans la fabrication de la génoise et les relier aux opérations unitaires du diagramme de fabrication.

2.2.3. Les œufs sont amenés sous forme liquide dans ce produit. Citer au moins trois avantages justifiant l'utilisation de l'œuf entier liquide en remplacement de l'œuf en coquille.

3. LE PRODUIT FINI : LES MINI CAKES FOURRÉS À LA FRAMBOISE (12 points)

La levure chimique est généralement composée de 2 additifs : du carbonate ou bicarbonate de sodium (Na_2CO_3 ; E500) et d'un acide (pyrophosphate de sodium acide, acide tartrique ...).

3.1. Expliquer le mode d'action de la levure chimique et la réaction associée.

3.2. Expliquer la notion de foisonnement.

3.3. Donner et justifier le type de date de péremption qui sera affiché sur l'emballage du produit. Citer au moins trois autres mentions obligatoires d'étiquetage.

3.4. Présenter les règles à respecter pour présenter la liste des ingrédients pour les mini-cakes fourrés.

3.5. Les produits céréaliers de cuisson humide (type génoise) nécessitent un conditionnement particulier. Proposer un conditionnement approprié pour ce produit en justifiant ce choix.

DEUXIÈME PARTIE : GÉNIE INDUSTRIEL (50 POINTS)

L'entreprise Melifruits est spécialisée dans la surgélation des fruits entiers, pulpe de fruits et jus de fruits.

Le procédé de fabrication des framboises entières surgelées (**annexe 8**) et celui de la purée de framboises surgelée (**annexe 11**) sont étudiés.

1. FABRICATION DE FRAMBOISES ENTIÈRES SURGELÉES (25 points)

1.1. Procédés de fabrication des framboises entières surgelées

1.1.1. À partir de l'**annexe 8**, construire le diagramme de fabrication des framboises entières surgelées.

1.1.2. Citer deux objectifs de l'étape de trempage en eau chlorée, des framboises en provenance des champs.

1.2. La surgélation

1.2.1. Melifruits a choisi la surgélation pour conserver les framboises. Expliquer le terme de « surgélation ».

1.2.2. Présenter l'intérêt d'une surgélation par rapport à une congélation.

1.2.3. Les framboises sont surgelées dans un tunnel de surgélation à bande transporteuse. Annoter le schéma de cet appareil fourni en **annexe B**.

1.2.4. Expliquer le fonctionnement d'un tunnel de surgélation à bande transporteuse et à pulvérisation de fluide cryogénique. Préciser les fluides cryogéniques pouvant être utilisés.

Les **annexes 9 et 10** représentent l'évolution de la température à cœur des framboises en fonction respectivement, du temps et de la quantité de chaleur échangée au cours de la surgélation.

Le tunnel surgèle à cœur, en 6 minutes et jusqu'à -37 °C , 25 kg de framboises entrant avec une température de 8 °C .

Données : Température de solidification des framboises : $T_{\text{Framb}} = -2\text{ °C}$

Capacité thermique massique Fruits/Légumes : $C_p = 3750\text{ J/kg/°K}$

Chaleur latente de solidification Fruits/Légumes : $L_v = -313,5\text{ kJ/kg}$

1.2.5. Expliquer pourquoi la cinétique de l'**annexe 9** présente un pseudo-palier de surgélation, c'est à dire un palier de surgélation qui n'est pas horizontal.

1.2.6. L'**annexe 10** présente trois phases (①, ② et ③) dans la surgélation. Relier à ces trois phases les données correspondantes fournies ci-dessus, et indiquer la nature de la chaleur mise en jeu dans chacune d'entre elles.

1.2.7. À l'aide des unités de C_p et de L_v , donner les équations aux grandeurs permettant de calculer la quantité de chaleur absorbée par les framboises pendant les phases ① et ②.

1.2.8. Calculer la quantité de chaleur échangée à chaque étape ①, ② et ③. En déduire la quantité de chaleur globale Q en kJ et en kWh.

1.2.9. Calculer la puissance minimale requise pour le tunnel de surgélation.

Donnée : Puissance = $\frac{Q}{t}$

2. FABRICATION D'UNE PURÉE DE FRAMBOISES SURGELÉE (21 points)

Le procédé de fabrication de la purée de framboises est décrit en **annexe 11**.

2.1. Le pressage

Un presseur de type presse à membrane est utilisé pour le pressage des framboises. Il est présenté en **annexe 12**.

Les données suivantes ont été relevées lors du pressage de 100 kg de framboises entières.

Masse de déchets obtenus (pépins) : 6,5 kg.

Les restes de fruits collés dans l'appareil ont été estimés à 3,5 % du produit initial.

2.1.1. Expliquer le fonctionnement de la presse à membrane utilisée pour broyer les framboises.

2.1.2. Indiquer deux critères de qualité que le fluide utilisé doit respecter. Justifier la réponse.

2.1.3. Expliquer l'objectif de l'étape de rebéchage.

2.1.4. Donner la formule générale de calcul d'un rendement d'extraction.

2.1.5. Calculer la masse de purée de framboises extraite puis le rendement d'extraction.

2.1.6. Proposer une valorisation possible pour les déchets de pressage.

2.2. Traitements de la purée

2.2.1. Donner l'intérêt de l'ajout du jus de citron et formuler une hypothèse quant au rôle du sirop de fructose-glucose ajouté en faible quantité.

2.2.2. Expliquer l'intérêt de l'étape de désaération de la purée de framboises.

2.2.3. Expliquer le principe de la pasteurisation par chauffage ohmique direct.

2.2.4. Expliquer les différences qu'il y a entre une pasteurisation et une stérilisation au niveau du procédé de fabrication et au niveau des objectifs.

2.2.5. Calculer la flore résiduelle de la purée de fruits après l'étape de pasteurisation.

Données :

Charge bactérienne de la purée de framboise avant traitement : $N_0 = 5.10^6\text{ UFC}\cdot\text{L}^{-1}$

Traitement thermique : 2 s / 90 °C

$T_{\text{ref}} = T^* = 70\text{ °C}$

$\Delta t_{\text{ref}} = 1\text{ min}$

$z = 7\text{ °C}$

$D_{70\text{ °C}} = 0,75\text{ min}$

3. CONDITIONNEMENT (4 points)

Le conditionnement des framboises et produits dérivés fait appel à plusieurs emballages :

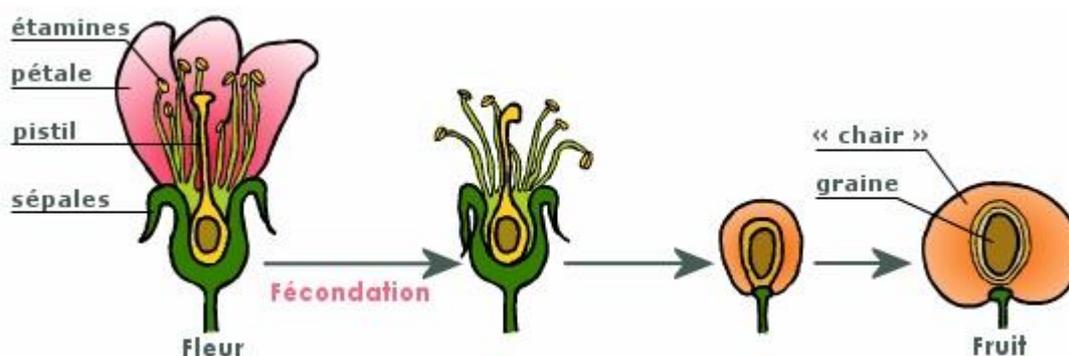
- sachets papier opaques avec une couche intérieure en paraffine pour les framboises surgelées,
- cartons pour le suremballage des sachets de framboises,
- barquettes en plastique thermoformé pour la purée de fruit.

3.1. L'emballage assure plusieurs fonctions. Lister ces différentes fonctions et présenter, sous forme de tableau, les objectifs principaux de chacun de ces emballages.

3.2. Préciser ce que tout emballage primaire doit respecter vis-à-vis du produit qu'il contient ou recouvre.

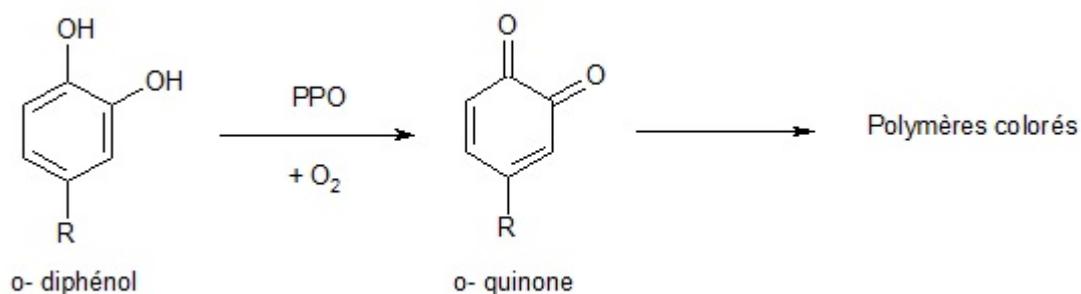
ANNEXE 1 :

DE LA FLEUR AU FRUIT



ANNEXE 2 :

RÉACTION GÉNÉRALE DES POLYPHÉNOL- OXYDASES



ANNEXE 3 :

DÉFINITION LÉGISLATIVE D'UNE CONFITURE

Décret n°85-872 du 14 août 1985 portant application de la loi du 1er août 1905 sur les fraudes et falsifications en matière de produits ou de services en ce qui concerne les confitures, gelées et marmelades de fruits et autres produits similaires

Annexe I : DÉNOMINATIONS, DESCRIPTIONS DES PRODUITS ET DÉFINITIONS
Modifiée par Décret n°2004-314 du 29 mars 2004 art. 8 (JORF 31 mars 2004).

Version consolidée au 16 novembre 2018

I. - Définitions

1. La confiture est le mélange, porté à la consistance gélifiée appropriée de sucres, de pulpe et/ou de purée d'une ou de plusieurs espèces de fruits et d'eau. La confiture d'agrumes peut toutefois être obtenue à partir du fruit entier, coupé en lamelles et/ou en tranches.

La quantité de pulpe et/ou purée utilisée pour la fabrication de 1 000 grammes de produit fini n'est pas inférieure à :

350 grammes en général ;

250 grammes dans le cas des groseilles, sorbes, fruits de l'argousier, cassis, cynorhodons et coings ;

150 grammes dans le cas du gingembre ;

160 grammes dans le cas des anacardes ;

60 grammes dans le cas des fruits de la passion.

2. La confiture extra est le mélange, porté à la consistance gélifiée appropriée, de sucres, de pulpe non concentrée d'une ou de plusieurs espèces de fruits et d'eau. Toutefois, la confiture extra de cynorhodons et la confiture extra sans pépins de framboises, de mûres, de cassis, de myrtilles et de groseilles peuvent être obtenues entièrement ou partiellement à partir de purée non concentrée de ces fruits. La confiture d'agrumes extra peut être obtenue à partir du fruit entier, coupé en lamelles et/ou en tranches.

Les fruits suivants ne peuvent être utilisés en mélange avec d'autres fruits pour la fabrication de confiture extra : pommes, poires, prunes à noyau adhérent, melons, pastèques, raisins, citrouilles, concombres et tomates.

La quantité de pulpe utilisée pour la fabrication de 1 000 grammes de produit fini n'est pas inférieure à :

450 grammes en général ;

350 grammes dans le cas de groseilles, sorbes, fruit de l'argousier, cassis, cynorhodons et coings ;

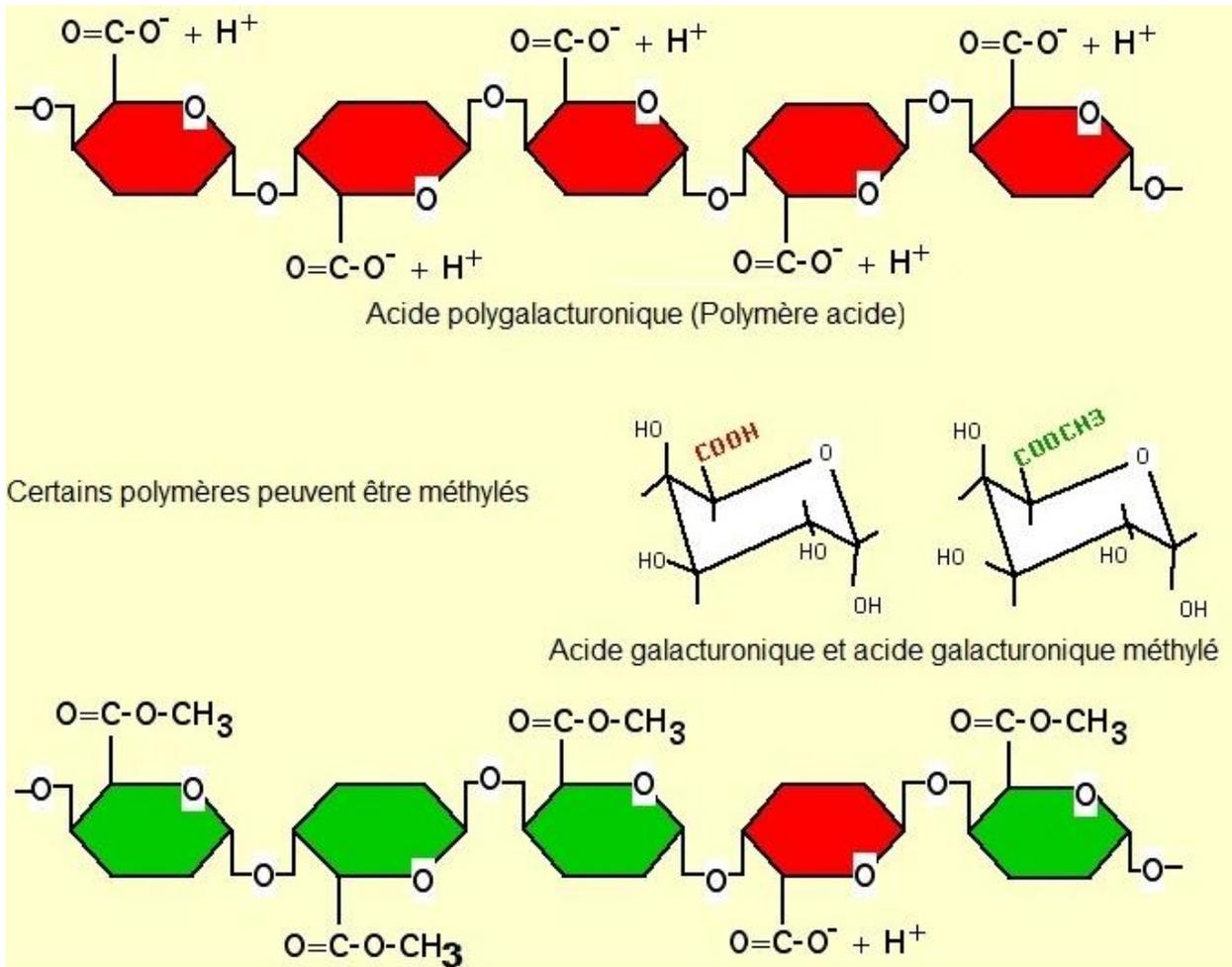
250 grammes dans le cas du gingembre ;

230 grammes dans le cas des anacardes ;

80 grammes dans le cas des fruits de la passion.

ANNEXE 4 :

STRUCTURE GÉNÉRALE DES PECTINES



ANNEXE 5 :

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA PECTINE RAPIDE UTILISÉE

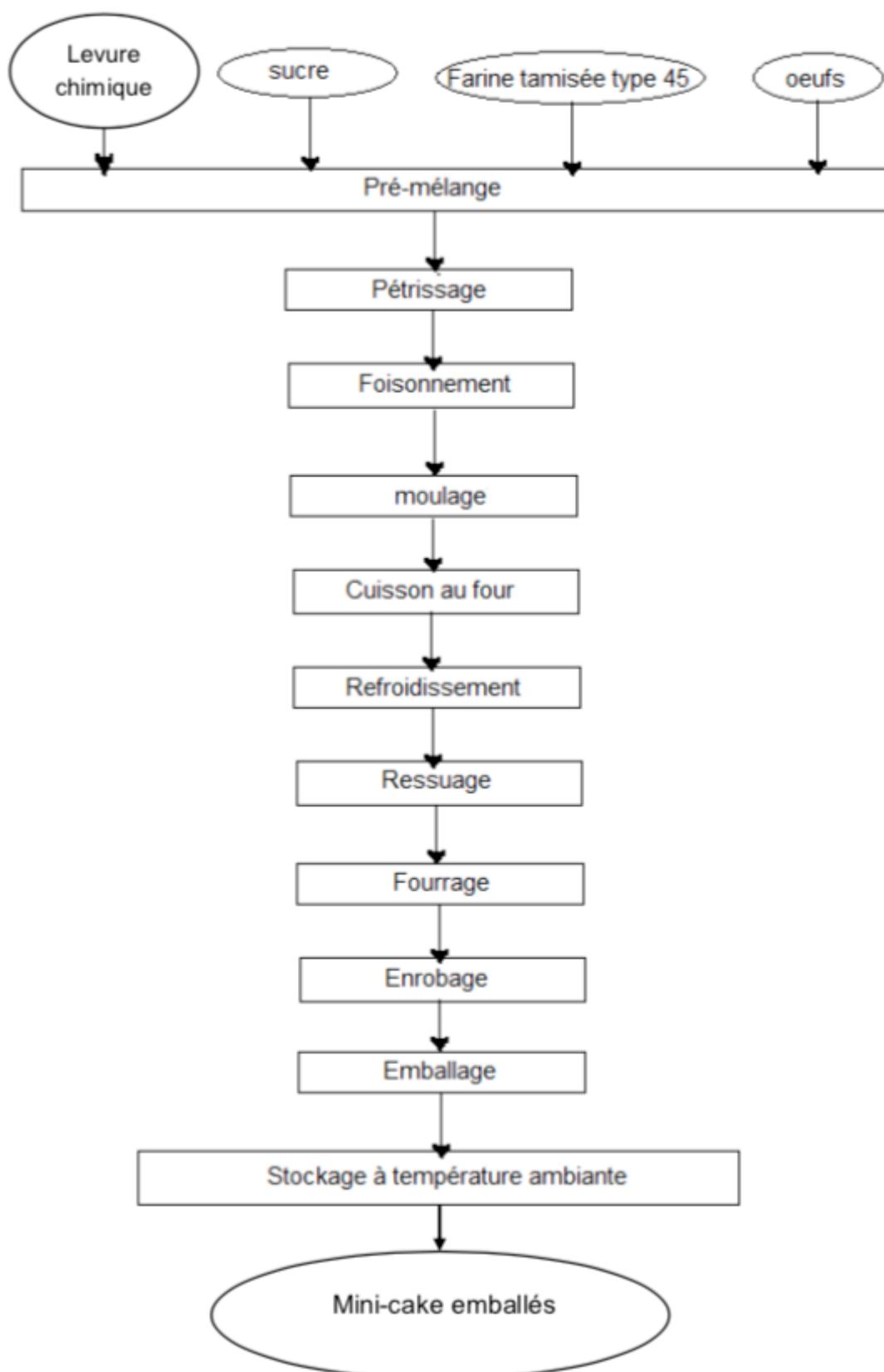
(Extrait de la fiche technique)

Taux d'estérification (méthylation)	Entre 70 et 74 %
Pouvoir gélifiant	150 ° SAG
Humidité	Inférieure à 12 %
pH	2,8 à 3,5
Granulométrie	99 % inférieur à 315 µm
Taux de cendres totales	Inférieur à 5 %

Pour des confitures 50/50 la gélification optimale est obtenue pour un pH compris entre 3 et 3,2.

ANNEXE 6 :

DIAGRAMME DE FABRICATION DE LA GÉNOISE



ANNEXE 7 :

COMPOSITION MOYENNE DE L'ŒUF (PAR 100 g ; ŒUF SANS COQUILLE)

(D'après Sauveur 1988 ; Gittins et Overfield 1991 ; Blum et Sauveur 1996 ; Yamamoto et al 1997).

Nutriments	Blanc	Jaune	Œuf ⁽¹⁾	CV ⁽²⁾ (%)	ANC ⁽³⁾	100 g œuf (% ANC)
Proportion part comestible ⁽⁴⁾ (%)	60	30,7	90,7			
Eau (g)	88,6	49	74,4	1,2		
Calories (kcal)	47	364	154		2700	6
Protéines (g)	10,6	16,1	12,3	4,7	42	29
Glucides (g)	0,8	0,5	0,7			
Cendres (g)	0,5	1,6	0,9	4,6		
Lipides (g)	0,1	34,5	11,9	6,9		
Triglycérides (g)		22,9	7,7			
Phospholipides (g)		10,0	3,4			
Acides gras saturés (g)		13,0	4,4		19,5	22,5
16:0 acide palmitique		7,3	2,5	21,4		
18:0 acide stéarique		2,5	0,86	23		
Acides gras insaturés (g)		20,7	7,0		49,5	14
16:1-acide palmitoléique		1,1	0,4	30,4		
18:1-acide oléique		12	4,1	18		
18:2-acide linoléique (n-6)		3,6	1,25	40	10	12,5
18:3-acide linoléique (n-3)		0,12	0,04		2	2
20:4-acide arachidonique (n-6, AA)		0,6	0,2			
20:5-acide eicosapentaénoïque (n-3)		0	0			
22:6-acide docosahéxaénoïque (n-3)		0,4	0,15		0,12	125
Cholestérol (g)	0	1,2	0,42	9,5		
Lécithine (Phosphatidylcholine) (g)		7,2	2,30			
Céphaline (g) (phosphatidyléthanolamine)		1,4	0,46			
Acides aminés indispensables (mg)					(mg/j)	
Histidine						
Isoleucine	240	410	290		840	34
Leucine	560	870	660		1400	47
Lysine	880	1390	1040		2400	44
Méthionine + cystine	660	1170	820		2450	33
Phénylalanine + tyrosine	670	660	640		1400	45
Thréonine	1020	1420	1150		2240	51
Tryptophane	470	850	590		1120	52
Valine	170	240	190		280	68

(1) Œuf sans coquille

(2) Coefficient de variation

(3) ANC, recommandations journalières pour l'homme adulte, mâle de 70 kg

(4) Par rapport à l'œuf entier (avec coquille)

ANNEXE 8 :

PROCÉDÉ DE FABRICATION DES FRAMBOISES ENTIÈRES SURGELÉES

Les framboises sont ramassées à la main, dans les champs, à maturité. Elles sont ensuite acheminées jusqu'à l'usine de transformation et réceptionnées dans la salle de lavage. Là, elles sont immergées dans un bac de trempage contenant une solution d'eau chlorée, à une concentration de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ durant 30 minutes minimum.

Les framboises sont égouttées puis tombent sur un tapis convoyeur qui les emmène jusqu'au tunnel de surgélation. Avant d'entrer dans le tunnel, alors qu'elles se trouvent encore sur le tapis convoyeur, les framboises sont aspergées d'un mélange d'eau et de chlore à $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Elles pénètrent ensuite dans le tunnel de surgélation où elles sont surgelées à cœur à -37 °C par un fluide cryogénique pulvérisé à leur surface.

Les framboises sont récupérées en sortie de tunnel par un opérateur qui les conditionne temporairement dans des bacs de 20 kg qu'il place ensuite en chambre froide négative.

En période d'activité réduite, les framboises surgelées sont sorties de la chambre froide négative et conditionnées en sachets de 500 g. Les sachets sont ensuite regroupés en cartons de 6 sachets.

Les sachets sont ensuite stockés en chambre froide négative, en attente de livraison chez les clients et notamment dans l'entreprise Kerby.

ANNEXE 11 :

PROCÉDÉ DE FABRICATION DE LA PURÉE DE FRAMBOISES

Après avoir été nettoyées à réception, les framboises sont broyées, dans une presse à membrane, pour former une purée.

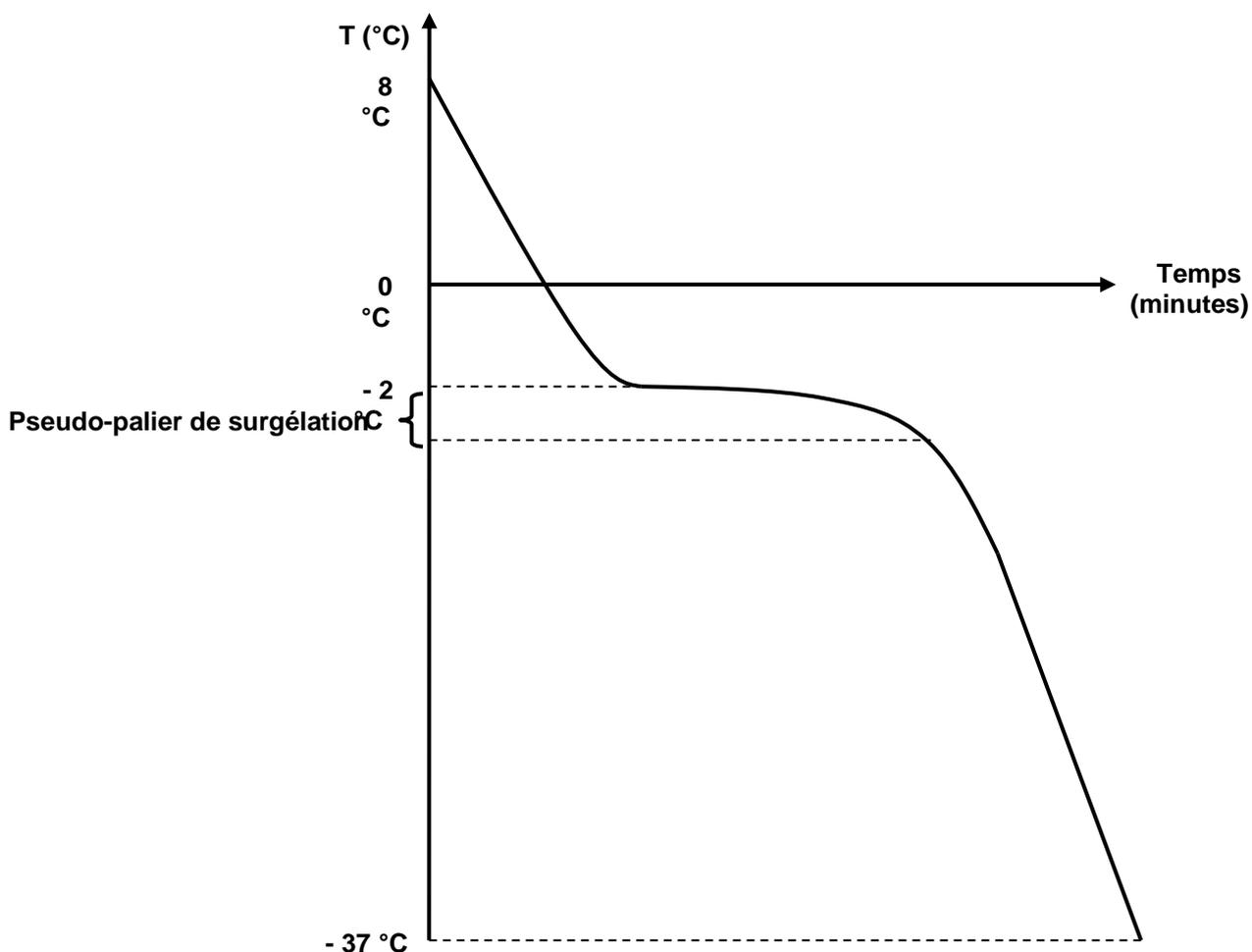
S'ensuivent une étape de mélange (addition de jus de citron et d'une petite quantité de sirop de fructose-glucose de betterave), une étape de désaération puis une pasteurisation en échangeur tubulaire par chauffage ohmique.

La purée de framboises est refroidie très rapidement dans un échangeur tubulaire puis conditionnée, sous atmosphère contrôlée, dans des barquettes plastiques thermoformées de 1 kg et 10 kg ou des seaux de 22 kg.

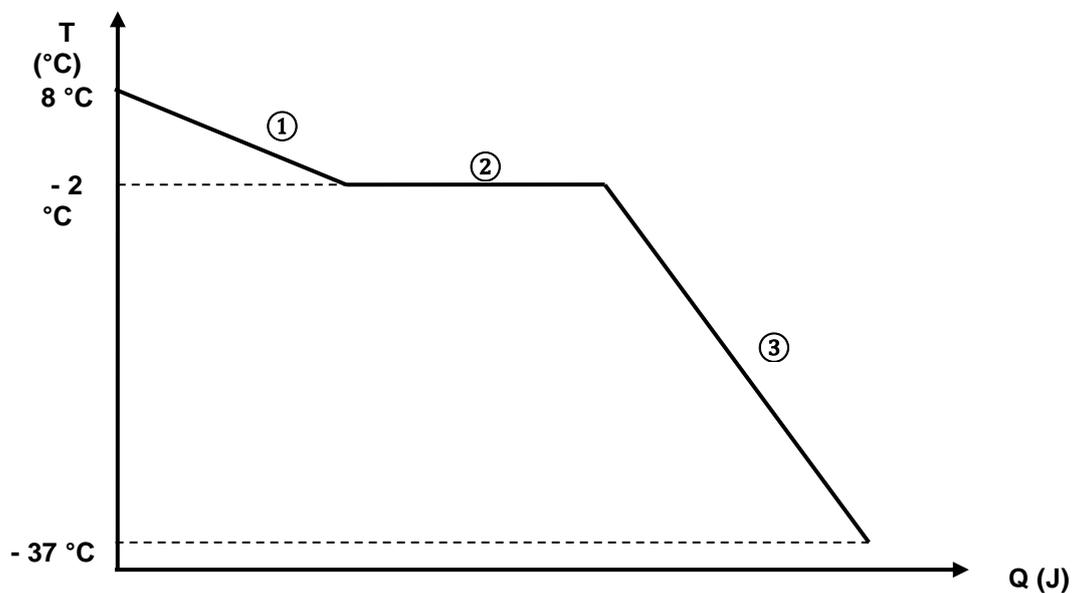
La purée conditionnée est ensuite surgelée dans un tunnel de surgélation en spirale puis les produits finis sont stockés en chambre froide négative jusqu'à leur expédition.

Le produit final a un degré Brix moyen de $20 \pm 2^\circ\text{Brix}$ et un pH moyen de $3,0 \pm 0,2$.

ANNEXE 9 : CINÉTIQUE DE SURGÉLATION DES FRAMBOISES EN FONCTION DU TEMPS



ANNEXE 10 : ÉVOLUTION DE LA TEMPÉRATURE À CŒUR DES FRAMBOISES EN FONCTION DE LA QUANTITÉ DE CHALEUR ÉCHANGÉE

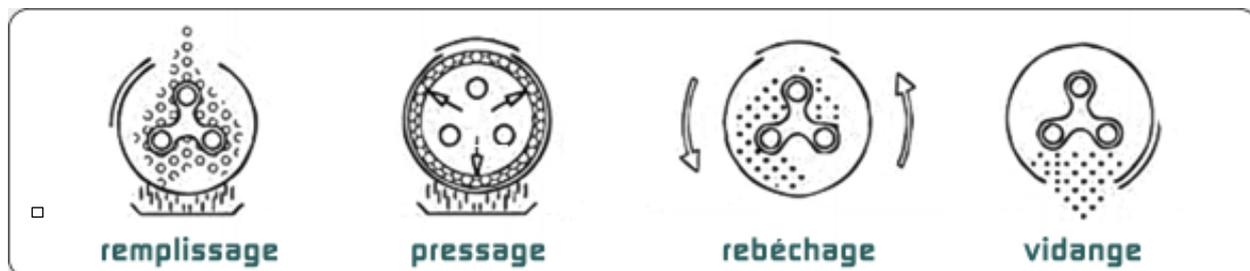


ANNEXE 12 :

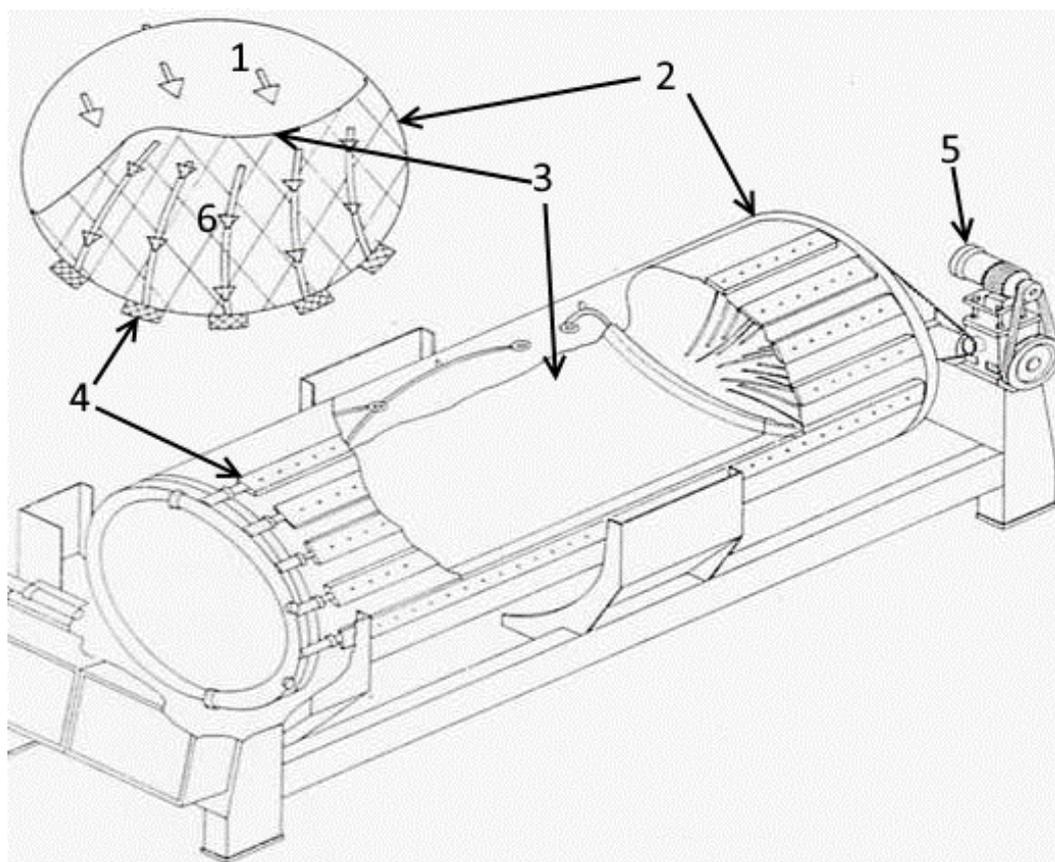
PRESSE À MEMBRANE

La presse à membrane est un pressoir à fonctionnement séquentiel suivant les quatre étapes présentées ci-dessous. Un fluide est utilisé pour assurer le gonflement de la membrane.

Annexe 12.1 : les quatre étapes d'un pressage à l'aide d'une presse à membrane



Annexe 12.2 : Schéma de principe d'une presse à membrane

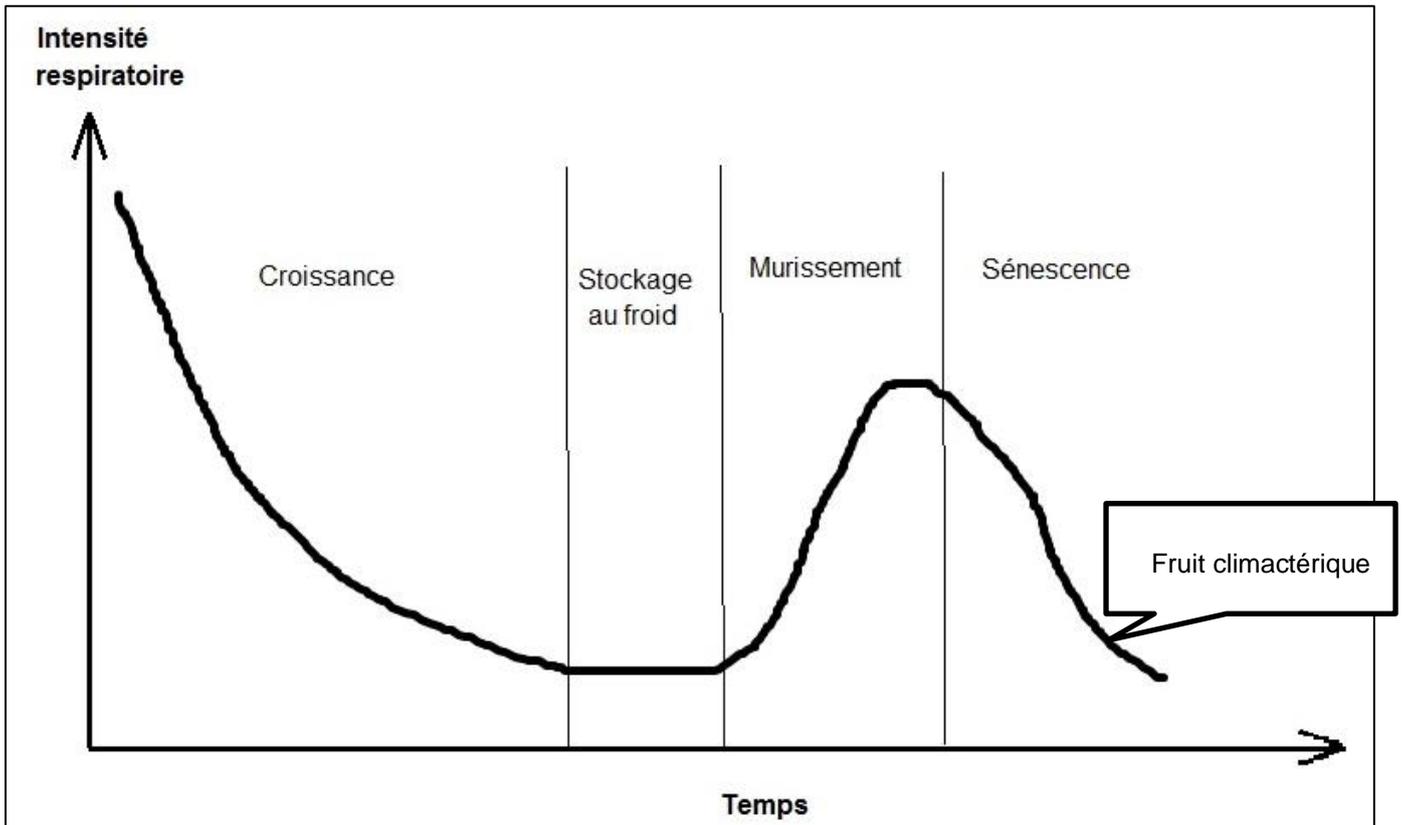


Avec :

1. Air comprimé	4. Perforations et tubes collecteurs
2. Cylindre, enceinte de compression	5. Moteur
3. Membrane gonflable	6. Résidus de produit écrasé

ANNEXE A

ÉVOLUTION DE LA COURBE RESPIRATOIRE DE FRUITS



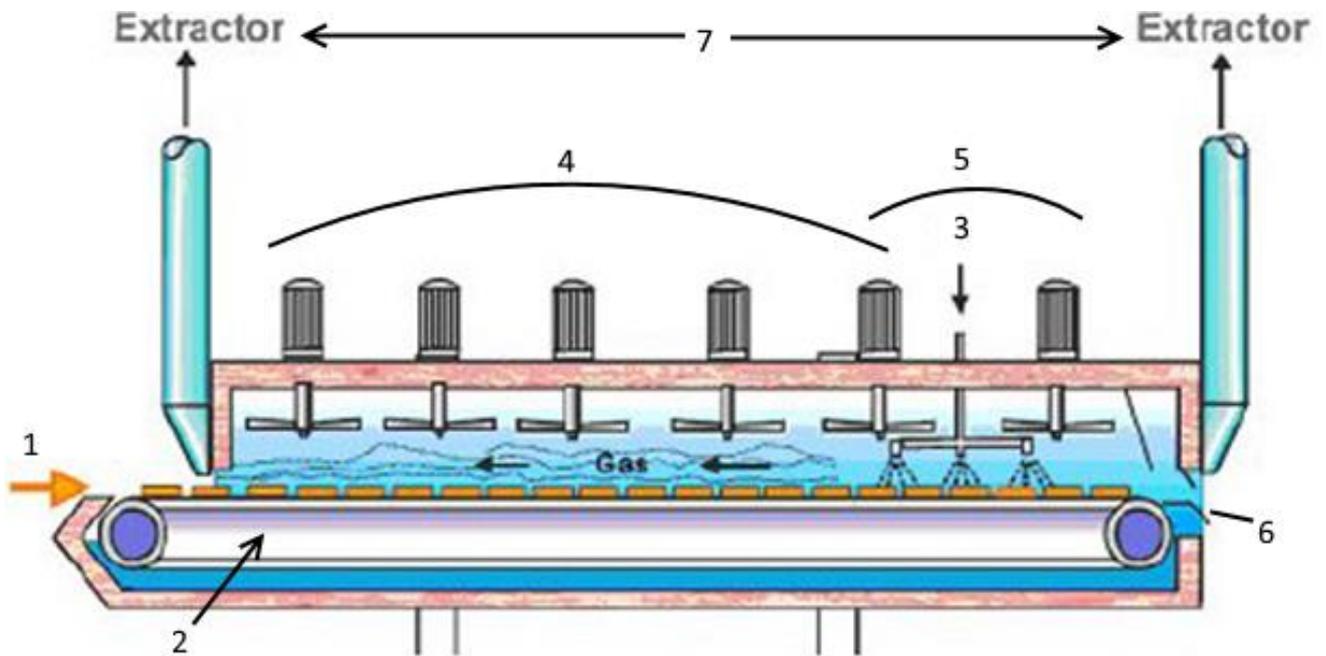
ÉVOLUTION DE LA PRODUCTION D'ÉTHYLÈNE DU FRUIT CLIMACTÉRIQUE



ANNEXES À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

ANNEXE B :

TUNNEL DE SURGÉLATION À BANDE TRANSPORTEUSE



1.	5. Zone indiquée :
2.	6.
3. Entrée du fluide cryogénique par buse d'aspiration	7.
4. Zone indiquée :	

Durée : 6 heures Coefficient : 3

Calculatrice autorisée

CONTRÔLE DE L'ACTIVITÉ DE LA LYSOPAÏNE®**Premier jour : 5 heures**

La lysopaïne® sans sucre se présente sous forme de comprimés à sucer. Elle contient un antiseptique, le cétylpyridinium et une enzyme, le lysozyme.

La composition d'un comprimé est précisée dans le document ci-dessous :

Composition d'un comprimé de Lysopaïne® sans sucre

Cétylpyridinium	1,5 mg
Lysozyme	20 mg
Excipients :	
- Gomme arabique (E414)	
- Magnésium stéarate (E572)	
- Sorbitol : C ₆ H ₁₄ O ₆ (E420)	(1,3 g)
- Saccharine : C ₇ H ₅ NO ₃ S (E954)	60 mg
- Arôme menthe	
- Essence de menthe poivrée	

Masse d'un comprimé : environ 1,5 g.

Ces comprimés soulagent les maux de gorge peu intenses sans fièvre et les affections de la bouche comme les aphtes.

Dans l'industrie pharmaceutique, le contrôle qualité du produit tient une place importante pour pouvoir non seulement garantir l'administration de la bonne dose thérapeutique au patient, mais aussi témoigner du respect des bonnes pratiques de fabrication. Ainsi le dosage des principes actifs et des excipients peut s'avérer nécessaire.

1. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES

Le cétylpyridinium est un antiseptique local, appartenant à la classe des ammoniums quaternaires, retrouvé dans de nombreuses préparations pharmaceutiques destinées :

- au traitement local d'appoint des infections de la cavité buccale et soins post-opératoires en stomatologie ;
- au traitement d'appoint des affections superficielles de l'œil.

Avant toute formulation d'une préparation pharmaceutique, la concentration minimale inhibitrice (CMI) du cétylpyridinium est déterminée. *Staphylococcus aureus* est une des souches tests utilisées.

1.1. Vérification de la pureté de la souche de *Staphylococcus aureus***1.1.1. Réalisation pratique**

Vérifier la pureté de la souche de *Staphylococcus aureus* notée « S » à l'aide de la fiche technique 1.

Montrer à l'examineur le résultat et le compte-rendu de la coloration de Gram.

1.1.2. Exploitation des résultats

Q1. Présenter les résultats obtenus lors de la coloration de Gram.

Q2. Conclure.

1.2. Vérification de la conformité de la suspension test de *Staphylococcus aureus*

La suspension test de *Staphylococcus aureus* utilisée pour la détermination de la CMI doit avoir une densité comprise entre $1,0 \cdot 10^8$ et $2,0 \cdot 10^8$ UFC de bactéries $\cdot \text{mL}^{-1}$. Cette donnée est vérifiée en utilisant la méthode de dénombrement après culture en surface, sur trois dilutions successives judicieusement choisies. Pour être interprétable, le nombre de colonies cultivant sur une boîte doit être inférieur à 300.

1.2.1. Réalisation pratique

Réaliser le dénombrement de la suspension test de *Staphylococcus aureus* à l'aide de la fiche technique 2.

La réalisation d'une dilution sera effectuée devant l'examineur.

1.2.2. Exploitation

Q3. Justifier le choix des dilutions testées pour le dénombrement.

1.3. Détermination de la CMI du cétylpyridinium

1.3.1. Réalisation pratique

À l'aide de la fiche technique 3, réaliser la détermination de la CMI du cétylpyridinium.

1.3.2. Exploitation des résultats

Q4. Préciser le rôle de la cupule n°1.

Q5. Déterminer la concentration en cétylpyridinium dans chaque cupule, en expliquant le calcul pour la cupule n° 3.

2. CONTRÔLES BIOCHIMIQUES

Afin de mieux caractériser le produit fini, l'activité antimicrobienne du lysozyme ainsi que la teneur en sorbitol du comprimé de lysopaïne® sans sucre sont déterminées.

Trois comprimés de lysopaïne® sans sucre ont été dissous dans 20 mL d'eau déminéralisée sous agitation.

Soit « Y » cette solution de volume « V_Y » = 20 mL.

Un comprimé de lysopaïne® sans sucre a été dissout dans 200 mL d'eau déminéralisée sous agitation.

Soit « W » cette solution de volume « V_W » = 200 mL.

2.1. Détermination de l'activité enzymatique du lysozyme dans un comprimé de lysopaïne®

2.1.1. Réalisation pratique

A l'aide de la fiche technique 4, réaliser la détermination de l'activité enzymatique du lysozyme dans la solution « Y ».

La détermination d'activité enzymatique sera réalisée devant l'examineur.

Reporter les valeurs de densité optique (DO) sur le document A.

2.1.2. Exploitation des résultats

L'exactitude de mesure de la procédure expérimentale a déjà été vérifiée à l'aide d'un étalon contrôle.

Q6. Tracer la courbe $DO=f(t)$ et déterminer $\left| \frac{\Delta DO}{\Delta t} \right|$. Cette valeur correspond à la v_i . (rappel : la v_i mesurée est considérée comme étant égale à $v_{i \max}$ dans les conditions de mesure) exprimée en (unités de densité optique $\cdot s^{-1}$) ou ($uDO \cdot s^{-1}$) et notée « $v_{\max} (\text{lys. ; MR})$ ».

Joindre la représentation graphique ainsi que les paramètres de régression (équation et coefficient de corrélation linéaire) à la copie.

Q7. Calculer l'activité enzymatique « z (lysozyme ; comprimé) » du lysozyme dans un comprimé de lysopaïne® en unités d'activité du lysozyme (UL) en utilisant les données fournies dans la fiche technique 4.

Q8. Démontrer l'équation aux grandeurs donnant z (lysozyme ; comprimé).

Q9. À l'aide de l'**annexe métrologie pages 7 et 8**, exprimer le résultat final accompagné de son incertitude élargie.

2.2. Dosage du sorbitol

Le sorbitol est un polyol naturel présent dans de nombreux fruits. Il est couramment utilisé comme édulcorant de charge.

L'entreprise souhaite vérifier que la masse de sorbitol dans un comprimé est bien comprise entre 1,2 et 1,4 g.

L'exactitude de la mesure sera vérifié à l'aide d'une solution contrôle de sorbitol « SEC » de concentration massique : $\rho_{(\text{sorbitol ; SEC})\text{réf}} = (0,100 \pm 0,004) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

2.2.1. Réalisation pratique

A l'aide de la fiche technique 5, réaliser le dosage du sorbitol dans la solution W.

2.2.2. Exploitation

Q10. Compléter les résultats dans le tableau correspondant du document A.

Q11. Démontrer l'équation aux grandeurs de la fiche technique 5.

À l'aide de l'**annexe métrologie pages 7 et 8** :

Q12. Vérifier l'exactitude de mesure grâce à la solution contrôle « SEC ».

Q13. Déterminer la masse de sorbitol dans un comprimé de lysopaïne® sans sucre.

Q14. Exprimer le résultat final accompagné de son incertitude élargie.

Q15. Conclure sur la composition du comprimé de lysopaïne® sans sucre.

3. CONTRÔLES TOXICOLOGIQUES

Le lysozyme est obtenu à partir du blanc d'œuf qui contient de l'ovalbumine, un allergène majeur.

À l'issue des étapes d'extraction et de purification à partir du blanc d'œuf, du lysozyme est retrouvé dans les fractions « F1 » et « F2 » proposées à l'étude. Afin de limiter les risques d'allergie, la présence d'ovalbumine est recherchée par la méthode de double immunodiffusion selon la technique d'Ouchterlony.

3.1. Réalisation pratique

À l'aide de la fiche technique 6, rechercher la présence d'ovalbumine dans les fractions « F1 » et « F2 ».

3.2. Exploitation

Q16. Préciser le contenu des puits sur le document B qui sera distribué en jour 2.

Q17. Indiquer l'intérêt des puits contenant l'ovalbumine et le lysozyme.

BARÈME

Contrôles microbiologiques	23 points
Contrôles biochimiques	20 points
Contrôles toxicologiques	8 points
Compétences transversales	9 points

DOSSIER TECHNIQUE

DOCUMENTS

Fiche technique 1 : Vérification de la pureté d'une souche

Fiche technique 2 : Vérification de la conformité d'une suspension test

Fiche technique 3 : Détermination de la CMI du cétylpyridinium

Fiche technique 4 : Détermination de l'activité enzymatique du lysozyme

Fiche technique 5 : Dosage du sorbitol

Fiche technique 6 : Recherche d'ovalbumine dans les fractions « F1 » et « F2 ».

DOCUMENTS fournis par le centre

Fiche technique : Fiche d'utilisation du spectrophotomètre

Support numérique : Ordinateur avec tableur grapheur

1. Matériel et réactif

Souche notée « S » présentée sur milieu GTS incliné

Kit de coloration de Gram

Lame

Microscope et huile à immersion

Boîte de milieu GTS

2. Mode opératoire

Réaliser un examen microscopique.

Réaliser un isolement sur milieu GTS.

1. Principe

Les microorganismes de l'inoculum sont répartis sur la surface d'un milieu GTS. Chaque microorganisme vivant donnera donc une colonie visible après étuvage. Le nombre total de colonies sera égal au nombre total de microorganismes présents dans l'inoculum.

2. Matériel et réactif

Suspension de *Staphylococcus aureus* à tester notée « suspension test »

6 tubes de 9 mL de diluant stérile notés « diluant stérile »

3 boîtes de Petri de milieu GTS

7 pipettes stériles de 1 mL ou autre dispositif

3. Mode opératoire

Réaliser 6 dilutions décimales en série à partir de l'échantillon à tester.

Utiliser les 3 dernières dilutions (10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6}) pour un ensemencement en surface du milieu GTS, un essai par dilution.

Incuber à 37 °C pendant 24 h.

1. Principe

La détermination de la CMI en milieu liquide consiste à réaliser une gamme de dilutions de la substance dont l'efficacité est recherchée et à ensemencer chaque dilution avec la même quantité de souche bactérienne sensible. La lecture de l'opacité ou la présence d'un dépôt permettra de déterminer la CMI de la substance vis-à-vis de la souche microbienne choisie.

2. Matériel et réactif

Microplaque stérile à 96 puits

Suspension de *Staphylococcus aureus* présentée en bouillon Mueller-Hinton notée « suspension test »

Diluant : 1 mL

Matériel courant de microbiologie

Pipette automatique de 100 μL

Solution de cétylpyridinium à 100 mg/L

3. Mode opératoire

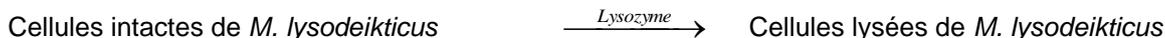
Les dilutions successives du cétylpyridinium sont des dilutions au $\frac{1}{2}$ effectuées en cascade à partir de la cupule 3 selon le mode opératoire indiqué dans le tableau ci-dessous :

Cupules n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Diluant (μL)	50	0	50	50	50	50	50	50	50
Solution de cétylpyridinium à 100 mg·mL ⁻¹ (μL)	0	50	50						
Volume à redistribuer (μL)	/	/	/	50	50	50	50	50	50
Suspension test (μL)	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Incuber 18 heures à 37 °C									

50 μL
à jeter

1. Principe

Ce dosage est basé sur la lyse d'une souche bactérienne à Gram (+) de *Micrococcus lysodeikticus* provoquée par la dégradation du peptidoglycane de cette dernière par le lysozyme. La mesure de la densité optique (DO) à 450 nm permet de suivre l'évolution de la réaction catalysée suivante :



Le cétalpyridinium du comprimé n'a ici pas d'action lytique sur les cellules de *M. lysodeikticus*.

La concentration en *M. lysodeikticus* est saturante, le pH et la température fixés, les autres paramètres standardisés. La v_i mesurée est considérée comme égale à v_{\max} .

2. Matériel et réactif

Suspension de *M. lysodeikticus* en tampon phosphate pH 6,2 à 66 mmol/L

Solution « Y » contenant le lysozyme

Spectrophotomètre et bain thermostaté ou étuve à 30 °C

Macro cuves

Pipette graduée de 5 mL ou P5000

Pipette automatique 100 ou 200 μL + cônes adaptés

Chronomètre

3. Mode opératoire

Introduire dans une macro cuve 2,50 mL de suspension *M. lysodeikticus*.

Placer la macro cuve au moins 5 minutes au bain thermostaté à 30 °C.

Au spectrophotomètre, ajouter 200 μL de solution « Y » contenant le lysozyme et noté $V_{(Y \text{ prélevé})}$. Déclencher le chronomètre immédiatement après l'introduction de l'enzyme.

Homogénéiser sans attendre et mesurer la DO à 450 nm toutes les 10 secondes pendant 3 minutes (le $t = 0$ s correspond à l'ajout de l'enzyme).

Mesure de l'activité d'un témoin

La manipulation a déjà été réalisée et il apparaît qu'il n'y a pas de variation de DO.

4. Exploitation des résultats

$$Z(\text{lysozyme ; comprimé}) = v_{\max(\text{lys.;MR})} \times \frac{V_Y}{V_{Y \text{ prélevé}}} \times 60 \times \frac{1}{0,001} \times \frac{1}{\text{nb comprimés dans } Y}$$

(UL) = (uDO \cdot s $^{-1}$) x (mL / mL) x (s \cdot min $^{-1}$) x UL/(uDO \cdot min $^{-1}$) x (/) avec UL = unités de lysozyme

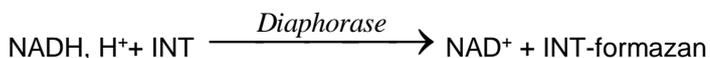
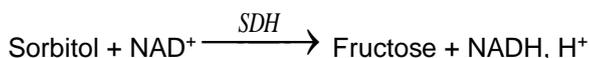
5. Données

L'unité d'activité enzymatique du lysozyme est la quantité d'enzyme active produisant une variation de DO à 450 nm de 0,001 unités par minute à pH 6,2 et à 30 °C sur une suspension de *Micrococcus lysodeikticus* utilisée comme substrat.

L'incertitude type composée u_c est égale à $8 \cdot 10^2$ unités d'activité du lysozyme.

1. Principe

Le sorbitol de l'échantillon est transformé en fructose en présence de la sorbitol-déshydrogénase (SDH) et de NAD⁺. Le NADH, H⁺ formé est réoxydé par la diaphorase, permettant la formation d'un composé coloré et stable, le chlorure d'iodonitrotétrazolium-formazan (INT-formazan) dont on mesure l'absorbance à 492 nm.



2. Matériel et réactif

Solution contrôle de sorbitol « SEC » de concentration : $\rho_{(\text{sorbitol}; \text{SEC})\text{réf}} = (0,100 \pm 0,004) \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

Solution « W »

Spectrophotomètre

Macro cuves

Pipettes automatiques + cônes adaptés

Fiole jaugée de 50 mL

Pipette jaugée de 1 mL

P5000 + cônes

Kit de dosage du sorbitol composé de :

Réactif	Composition	Danger/Précaution
Solution 1	Tampon pH 8,6	
Solution 2	NAD ⁺ et INT	Sensible à la lumière
Suspension 3	Diaphorase	
Solution 4	Sorbitol déshydrogénase	
Solution 5	Solution contrôle « SEC » de sorbitol à 0,100 g·L ⁻¹	

(Suite page suivante)

3. Mode opératoire

Diluer la solution « W » au 1/50 dans l'eau désionisée.

Procéder directement en macro cuves en réalisant un seul essai sur la solution contrôle « SEC » et un seul essai sur l'échantillon à doser selon le tableau ci-dessous :

Réactifs et solutions	Témoin	SEC	Essai
Eau désionisée	2,10 mL	2,00 mL	2,00 mL
Solution contrôle « SEC »	-	0,10 mL	-
Solution « W » diluée au 1/50	-	-	0,10 mL
Solution 1 (tampon)	0,50 mL	0,50 mL	0,50 mL
Solution 2 (NAD ⁺ ; INT)	0,20 mL	0,20 mL	0,20 mL
Suspension 3 (Diaphorase)	0,02 mL	0,02 mL	0,02 mL
Homogénéiser par retournement. Attendre environ 2 minutes à l'abri de la lumière. Mesurer l'absorbance « A ₁ » contre l'air (sans cuve). Ajouter sans attendre :			
Solution 4 (SDH)	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL
Homogénéiser par retournement. Attendre environ 15 minutes à l'abri de la lumière. Mesurer l'absorbance « A ₂ » contre l'air (sans cuve).			

4. Exploitation des résultats

$$\rho_{(\text{sorbitol ; échantillon})} = 0,2628 \times \Delta A \quad (\text{g/L})$$

5. Données

Coefficient d'absorbance linéique molaire de l'INT-formazan : $\varepsilon = 19\,900 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ou $1990 \text{ m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$

$$s_R = 0,004 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$u_c = 0,05 \text{ g}$$

$$M_{\text{sorbitol}} = 182,20 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

1. Principe

La technique d'Ouchterlony met en œuvre une réaction d'immunoprécipitation par double diffusion d'anticorps et d'antigènes en milieu gélifié. La recherche d'arcs de précipitation permet de conclure sur la présence ou l'absence des antigènes recherchés.

2. Matériel et réactif

- 1 gélose d'agarose en petite boîte
- 1 tube Eppendorf contenant une solution d'ovalbumine noté « Ova »
- 1 tube Eppendorf contenant une solution de lysozyme noté « Lys »
- 1 tube de solution d'anticorps anti-ovalbumine noté « Ac »
- 2 tubes de fractions à tester notés « F1 » et « F2 »
- 1 pipette automatique P50 + cônes jaunes
- 1 emporte pièce

3. Mode opératoire

- Réaliser 5 puits dans la gélose selon le gabarit fourni.
- Déposer 10 µL de chaque échantillon et de solution d'anticorps.
- Incuber la gélose en atmosphère humide à 30 °C pendant 24 heures.

4. Données

Gabarit fourni sur le document B

DOCUMENT A :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

CONTRÔLES BIOCHIMIQUES

N° de poste :

DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DU LYSOZYME DANS UN COMPRIME DE LYSOPAÏNE®

Temps (s)	10	20	30	40	50	60	70	80	90
DO à 450 nm									
Temps (s)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
DO à 450 nm									

DOSAGE DU SORBITOL

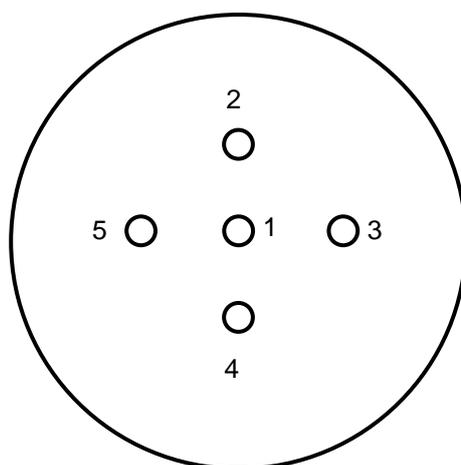
	Témoin	SEC	Essai
$A_{1(450\text{ nm})}$			
$A_{2(450\text{ nm})}$			
$\Delta A_{(450\text{ nm})} = A_2 - A_1$			
$\Delta A_{\text{Test}(450\text{ nm})} = \Delta A_{\text{Test}} - \Delta A_{\text{témoin}}$			

DOCUMENT B :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

CONTRÔLES TOXICOLOGIQUES

N° poste :



Organisation des dépôts :

- puits 1 :

- puits 2 :

- puits 3 :

- puits 4 :

- puits 5 :

Deuxième jour : 1 heure

La lysopaïne® sans sucre se présente sous forme de comprimés à sucer. Elle contient un antiseptique, le cétylpyridinium et une enzyme, le lysozyme.

La composition d'un comprimé est précisée dans le document ci-dessous :

Composition d'un comprimé de Lysopaïne® sans sucre

Cétylpyridinium	1,5 mg
Lysozyme	20 mg
Excipients :	
- Gomme arabique (E414)	
- Magnésium stéarate (E572)	
- Sorbitol : C ₆ H ₁₄ O ₆ (E420)	(1,3 g)
- Saccharine : C ₇ H ₅ NO ₃ S (E954)	60 mg
- Arôme menthe	
- Essence de menthe poivrée	

Masse d'un comprimé : environ 1,5 g.

1. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES

1.1. Vérification de la pureté de la souche de *Staphylococcus aureus*

1.1.1. Réalisation pratique

Réaliser l'observation macroscopique de la GTS.

1.1.2. Exploitation des résultats

Q1. Décrire l'aspect macroscopique des colonies et conclure sur la pureté de la souche.

1.2. Vérification de la conformité de la suspension test de *Staphylococcus aureus*

La suspension test de *Staphylococcus aureus* utilisée pour la détermination de la CMI doit avoir une densité comprise entre $1,0 \cdot 10^8$ et $2,0 \cdot 10^8$ UFC•mL⁻¹.

Q2. Réaliser la lecture des boîtes de dénombrement.

Q3. À l'aide de l'annexe dénombrements page 5, calculer le nombre d'UFC•mL⁻¹ de suspension test.

Q4. Conclure sur la conformité de la suspension test pour la détermination de la CMI.

1.3. Détermination de la CMI du cétylpyridinium

Cupules n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Concentration en cétylpyridinium (mg•mL ⁻¹)	0,0	50	25	12,5	6,25	3,12	1,55	0,8	0,4

Q5. Présenter les résultats obtenus.

Q6. Déterminer la CMI du cétylpyridinium vis-à-vis de la souche de *Staphylococcus aureus*.

Q7. Conclure sur la cohérence entre la CMI déterminée et la teneur en cétylpyridinium d'un comprimé de lysopaïne® sachant que le volume de salive nécessaire pour dissoudre un comprimé est supérieur à 1 mL.

2. CONTRÔLES TOXICOLOGIQUES

À l'issue des étapes d'extraction et de purification à partir du blanc d'œuf, du lysozyme est retrouvé dans les fractions « F1 » et « F2 ». Afin de limiter les risques d'allergie, la présence d'ovalbumine est recherchée par la méthode de double immunodiffusion selon la technique d'Ouchterlony.

Q8. Schématiser les résultats obtenus sur le document B fourni en J1.

Q9. Effectuer la lecture du test réalisé et conclure sur la présence ou l'absence d'ovalbumine dans les fractions « F1 » et « F2 » testées.

Q10. Conclure sur la fraction à utiliser lors de la fabrication des comprimés de lysopaïne® pour limiter les risques d'allergie.

Rappel des échantillons fournis le premier jour

- Solution d'ovalbumine notée « Ova »
- Solution de lysozyme notée « Lys »
- Solution d'anticorps anti-ovalbumine « Ac »
- Deux fractions à tester « F1 » et « F2 »

DOSSIER TECHNIQUE

DOCUMENT FOURNI PAR LE CENTRE

Document B : Contrôles toxicologiques (rempli par le candidat en jour 1)

E5-U52 Techniques d'analyses et de contrôles (B) 2019

Durée : 6 heures Coefficient : 3

Calculatrice autorisée

ÉTUDE D'UN JUS DE CASSIS « BIO »

Premier jour : 5 heures

Le cassis, pauvre en saccharose, riche en fibres et en vitamine C, possède de nombreuses propriétés anti-inflammatoires, anti-oxydantes, antihistaminiques, antalgiques et diurétiques.

C'est donc un aliment porteur pour les distributeurs de produits de « bien-être ».

Un producteur de jus de cassis « bio » non pasteurisé contacte un réseau de magasins de produits issus de l'agriculture biologique pour devenir l'un de ses fournisseurs.

Le responsable QSE (Qualité Sécurité Environnement) du distributeur est intéressé. Il demande à son laboratoire de procéder à certains contrôles biochimiques, microbiologiques et toxicologiques.

1. CONTRÔLES BIOCHIMIQUES

La valeur de la concentration massique en glucides réducteurs (GR) du jus de cassis est donnée par le centre.

La concentration de la solution contrôle en glucides réducteurs servant à la vérification de l'exactitude de la mesure est : $C_{(GR ; \text{réf})} = (5,00 \pm 0,30) \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

1.1. Dosage des glucides réducteurs par la méthode au 3,5-DNS

1.1.1 Réalisation pratique

A l'aide de la fiche technique 1, réaliser le dosage des glucides réducteurs d'une solution de contrôle et d'une dilution d'un jus de cassis (noté « J1 », dilution précisée par le centre).

Montrer à l'examineur la lecture des résultats d'absorbance à 540 nm

1.1.2 Exploitation des résultats

Q1. À l'aide de la fiche technique 1, compléter le tableau du document A et effectuer le dosage des glucides réducteurs.

Q2. À l'aide de l'outil informatique, tracer la courbe d'étalonnage : $A = f(n(\text{Glc} ; \text{tube}))$.

Déterminer l'équation de cette courbe, donner les paramètres de la régression linéaire.

Q3. Exprimer la concentration molaire en glucides réducteurs (GR) de la solution contrôle de glucose notée « C (GR ; C) ». Présenter l'équation aux grandeurs, l'équation aux unités et l'équation aux valeurs numériques. Effectuer le calcul et vérifier l'exactitude de la mesure.

Q4. Exprimer la concentration molaire en glucides réducteurs du jus de cassis notée « C (GR ; J) ».

Q5. Exprimer la concentration massique en glucides réducteurs du jus de cassis, notée « ρ (GR ; J) ». Présenter l'équation aux grandeurs, l'équation aux unités et l'équation aux valeurs numériques. Effectuer le calcul. Présenter le résultat conformément aux exigences métrologiques.

Q6. Comparer la valeur obtenue avec celle annoncée. Conclure.

1.2 Dosage de la vitamine C

La teneur en vitamine C habituelle d'un jus de cassis est comprise entre 136 et 186 mg / 100 g de jus.

La vérification de l'exactitude de la mesure a été réalisé préalablement et validée.

1.2.1. Réalisation pratique

Réaliser à l'aide de la fiche technique 2 le dosage de la vitamine C d'une dilution d'un jus de cassis (noté « J2 », dilution précisée par le centre).

Appeler un examinateur au moment de manipuler.

1.2.2. Exploitation des résultats

Q7. Préciser l'intérêt d'utiliser l'ascorbate oxydase dans cette méthode.

Q8. Déterminer la différence d'absorbance ($A_2 - A_1$) pour les deux essais « échantillon » et « blanc-réactif ».
Soustraire la différence d'absorbance du blanc-réactif à celle de l'échantillon :

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{échantillon}} - (A_2 - A_1)_{\text{blanc-réactif}}$$

La mesure de cette différence d'absorbances doit être supérieure à 0,100 unité d'absorbance pour que les résultats soient suffisamment précis.

Q9. Calculer ρ (vitamine C ; jus de cassis).

Q10. Calculer la teneur en vitamine C du jus de cassis en mg / 100 g. Présenter le résultat conformément aux exigences métrologiques.

Q11. Comparer avec les valeurs annoncées et conclure.

2. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES

Lors de contrôles microbiologiques, une contamination a été décelée dans un lot de jus de cassis. Le responsable QSE demande au laboratoire de trouver l'origine de cette contamination et de mettre en œuvre des actions correctives.

Dans cet objectif, les contrôles suivants sont réalisés :

- le contrôle de l'efficacité du désinfectant utilisé pour les surfaces, cuves et outils ;
- le contrôle de surface au niveau du tapis roulant conduisant les fruits à la presse, dans le cadre de la validation du plan de nettoyage-désinfection ;
- le contrôle d'hygiène des mains du personnel.

2.1. Contrôle de l'efficacité du désinfectant

2.1.1. Réalisation pratique

Tester le désinfectant par la méthode de dilution-neutralisation, selon la norme NF EN 1276, à l'aide de la fiche technique 3.

Appeler un examinateur pour présenter la réalisation de deux dilutions successives.

2.1.2. Exploitation des résultats

Q12. Justifier le choix des dilutions ensemencées pour le dénombrement de la suspension S, à l'aide de l'**annexe dénombrements page 5**.

Q13. Justifier la concentration du désinfectant à 1,25 fois la concentration d'utilisation.

Q14. Expliquer le rôle de la substance interférente utilisée dans le test.

2.2. Contrôle de surface

Des prélèvements sur le tapis roulant conduisant les fruits à la presse ont été réalisés en utilisant des tests Petrifilm™ permettant la recherche et le dénombrement de coliformes.

Le résultat de ce contrôle de surface est considéré comme satisfaisant s'il est inférieur à 1 UFC / cm².

2.2.1 Réalisation pratique

A l'aide de la fiche technique 4, réaliser la lecture du test Petrifilm™ ensemencé permettant la recherche et le dénombrement de coliformes.

2.2.2. Exploitation des résultats

Q15. Décrire l'aspect des colonies présentes sur le Petrifilm™. En déduire la nature des bactéries présentes sur le milieu.

Q16. Indiquer le résultat du dénombrement et en déduire le nombre d'UFC de coliformes par cm² de surface analysée.

Q17. Conclure par rapport à l'objectif de ce contrôle de surface.

Donnée :

Surface d'un Petrifilm™ = 20 cm²

2.3. Identification d'une souche isolée à partir d'un prélèvement réalisé sur les mains d'un opérateur

La souche à étudier, notée « M », est issue d'un prélèvement réalisé sur les mains d'un opérateur travaillant au triage des fruits sur le tapis roulant les conduisant à la presse.

2.3.1. Réalisation pratique

Procéder à l'identification de la souche selon la fiche technique 5.

Appeler un examinateur pour montrer :

- le résultat de l'observation microscopique,
- la réalisation du (des) test(s) enzymatique(s).

2.3.2. Exploitation des résultats

Le compte-rendu est à rédiger intégralement sur le document B qui est à rendre une heure avant la fin de l'épreuve.

Q18. Compléter le document B.

3. CONTRÔLES TOXICOLOGIQUES

Lors de la visite des champs de cassis, le responsable QSE se renseigne sur les cultures avoisinantes et les éventuels pesticides utilisés. Pour vérifier qu'il n'y a pas eu de contamination de la production de cassis lors des traitements des champs voisins, un dépistage de deux pesticides habituellement utilisés dans la région est demandé. Ce dépistage utilise la méthode d'Ouchterlony.

3.1 Réalisation pratique

Effectuer le contrôle de dépistage de pesticides selon la fiche technique 6.

3.2. Exploitation des résultats

Q19. Compléter le plan de dépôt du document C.

BARÈME

Contrôles biochimiques	22 points
Contrôles microbiologiques	22 points
Contrôles toxicologiques	7 points
Compétences transversales	9 points

DOSSIER TECHNIQUE

DOCUMENTS

Fiche technique 1 : Dosage des glucides réducteurs par la méthode au 3,5-DNS

Fiche technique 2 : Dosage de la vitamine C

Fiche technique 3 : Contrôle de l'activité d'un désinfectant

Fiche technique 4 : Contrôle de surface

Fiche technique 5 : Identification d'une souche isolée à partir d'un prélèvement sur des mains

Fiche technique 6 : Dépistage de pesticides

DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE : Fiche technique de la gélose TSA

1. Principe

Les glucides réducteurs sont dosés grâce à leurs propriétés réductrices, en milieu alcalin et à chaud, vis-à-vis de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (3,5-DNS). La réaction est non stœchiométrique et donc dépendante des conditions opératoires. Le 3,5-DNS jaune est réduit en acide 3-amino-5-nitrosalicylique orangé rouge, dosable par colorimétrie à 540 nm.

2. Matériel et réactifs

Solution étalon de glucose à $10,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, notée « E »

Solution étalon contrôle de glucose à $(5,00 \pm 0,30) \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, notée « C »

Dilution de jus de cassis, noté « J1 » (dilution indiquée par le centre)

Réactif au 3,5-DNS (acide 3,5 dinitrosalicylique) en flacon distributeur de 2 mL commun au laboratoire

Eau désionisée en pissette, et en flacon distributeur de 10 mL commun au laboratoire

Tubes à essais supportant une température de $100 \text{ }^\circ\text{C}$

Pipette semi-automatique + cônes (P1000)

Bain thermostaté à $100 \text{ }^\circ\text{C}$ commun au laboratoire

Fiche sécurité des produits : 1 par laboratoire

3. Mode opératoire

3.1. Dosage des glucides

3.1.1. Réalisation de la gamme d'étalonnage

A partir de la solution étalon de glucose, réaliser une gamme d'étalonnage sachant que le volume final avant ajout du réactif au 3,5-DNS est de 1 mL.

Ajouter 2 mL de réactif au 3,5-DNS dans tous les tubes.

Homogénéiser.

3.1.2. Réalisation des essais

Introduire dans différents tubes à essai : 1 mL de solution étalon contrôle de glucose « C » ou 1 mL d'hydrolysate « H ».

Ajouter 2 mL de réactif au 3,5-DNS dans tous les tubes.

Homogénéiser.

Boucher tous les tubes et les porter simultanément 5 minutes exactement à $100 \text{ }^\circ\text{C}$.

Refroidir dans un bain d'eau froide puis ajouter 10,00 mL d'eau désionisée dans chaque tube.

Homogénéiser.

Transférer dans des macrocuvettes pour la lecture.

3.2. Lecture

Réaliser la lecture des absorbances à 540 nm contre le blanc de gamme.

4. Données

$$M_{(\text{Glucose})} = 180 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$M_{(\text{Fructose})} = 180 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Incertitude-type composée relative de la méthode = 2,5 %

1. Principe

La vitamine C est dosée par une méthode enzymatique utilisant un coffret de réactifs.

L'acide ascorbique (ou L-ascorbate) et les autres substances réductrices ($x-H_2$) réduisent les sels de tétrazolium (MTT) en présence d'un transporteur d'électrons, le PMS, en formazan à pH 3,5. Dans l'essai contenant l'échantillon, la somme des absorbances des substances réductrices est mesurée (1).



PMS : transporteur d'électrons (5-méthylphénazinium methosulfate)

Pour la détermination spécifique de l'acide ascorbique, dans l'essai blanc-réactif exclusivement, l'acide ascorbique est éliminé au préalable par l'action de l'ascorbate oxydase (AAO) en présence d'oxygène de l'air (2). Le déhydroascorbate ainsi formé ne réagit pas avec le PMS/MTT.



AAO : ascorbate oxydase

La différence d'absorbance entre l'essai « échantillon » et l'essai « blanc-réactif » dépend de la quantité de L-ascorbate dans l'essai « échantillon ». Le paramètre mesuré est l'absorbance du MTT – formazan à 578 nm.

2. Matériel et réactifs

- Réactif 1 : MTT en tampon sodium, phosphate citrate pH 3,5 ; 1 tube noté R1 + N° de poste contenant 3,5 mL de réactif
- Réactif 2 : ascorbate oxydase fixée sur une spatule, spatule présentée en tube à hémolyse protégé de la lumière, à demander à l'examineur au moment du besoin.
- Réactif 3 : solution de PMS qui permettra la réaction colorée : 1 tube noté R3 + N° de poste contenant 0,35 mL de PMS
- Dilution de jus de cassis, noté « J2 » (dilution indiquée par le centre), en tube numéroté et étanche à l'air et à la lumière
- Pipette graduée de 2 mL
- Pipettes semi-automatiques + cônes (P1000, P100 ou 200)
- Porte cuves + cuves « visible » + petit matériel habituel
- Bain thermostaté réglé à 37 °C pour la première incubation avec portoir flottant pour cuves
- Étuve thermostaté à 37 °C pour la seconde incubation

3. Extrait de la fiche technique du coffret de réactifs

Le dosage s'effectue sur l'échantillon J2 selon le protocole suivant. Il n'est pas utile de décolorer le jus de cassis pour ce dosage.

Mode opératoire :

Longueur d'onde : 578 nm

Longueur du trajet optique : 1 cm

Température : 37 °C

Volume final : 2,700 mL

Lire l'absorbance contre l'air (sans cuve spectrophotométrique sur le trajet du faisceau lumineux).

Un blanc-réactif doit être réalisé pour chaque échantillon.

(Suite page suivante)

Introduire dans les cuves spectrophotométriques :	Blanc-réactif	Échantillon
Solution 1 (préchauffée à 37 °C)	1,000 mL	1,000 mL
Eau désionisée	1,500 mL	1,500 mL
Échantillon	0,100 mL	0,100 mL
Tube 2 (spatule AAO) *	1 spatule	-
Homogénéiser et incubé pendant 6 min à 37 °C en bain thermostaté. Durant l'incubation, homogénéiser le contenu du blanc-réactif toutes les 2 minutes pendant environ 5 s avec la spatule. Après avoir retiré la spatule portant l'ascorbate oxydase *, lire l'absorbance du blanc-réactif et de l'échantillon (A ₁). Démarrer la réaction par l'addition de :		
Solution 3 **	0,100 mL	0,100 mL
Homogénéiser puis laisser reposer les solutions 15 minutes à 37 °C à l'abri de la lumière dans une étuve. Lire l'absorbance de l'échantillon et du blanc-réactif dans la foulée, l'un après l'autre (A ₂).		

* Les spatules AAO sont à usage unique.

** Le système réactionnel est sensible à la lumière après l'addition de la solution 3 (MTT).

Stabilité des réactifs :

La solution 1 est stable si elle est conservée à une température comprise entre 2 et 8 °C et à l'obscurité.

Amener la température de la solution 1 à 37 °C avant utilisation.

Le contenu du tube 2 est stable à 20 - 25 °C.

La solution 3 est stable si elle est conservée à une température comprise entre 2 et 8 °C et à l'obscurité.

Calcul :

$$\rho = \frac{\Delta A \times V \times M}{\varepsilon \times l \times v \times 1000}$$

ρ : concentration en [g/L]

V : volume final en [mL]

v : volume de l'essai en [mL]

M : masse molaire moléculaire de la substance dosée en [g•mol⁻¹]

l : trajet optique en [cm]

ε : coefficient d'absorption molaire du MTT-formazan à 578 nm en [L•mmol⁻¹•cm⁻¹]

Si l'échantillon est dilué lors de sa préparation, le résultat doit être multiplié par le facteur de dilution « F ».

Instructions sur les performances de l'essai :

La quantité d'acide ascorbique dans l'essai doit être comprise entre 0,5 et 20,0 µg. Afin d'obtenir une différence d'absorbances suffisante, l'échantillon est dilué pour atteindre une concentration massique en acide ascorbique comprise entre 0,02 et 0,20 g•L⁻¹.

Table de dilution :

Masse d'acide ascorbique estimée par litre	Dilution en eau désionisée	Facteur de dilution F
< 0,20 g	-	1
0,20 - 2,0 g	1 + 9	10
2,0 - 20 g	1 + 99	100
> 20 g	1 + 999	1000

Si la différence d'absorbances est trop faible (< 0,100), l'échantillon doit être à nouveau préparé ou le volume d'échantillon prélevé augmenté jusqu'à un maximum de 1,600 mL.

Données :

M (vitamine C) = 176,13 g•mol⁻¹

ε (MTT - formazan) = 16,9 L .cm⁻¹•mmol⁻¹

La masse volumique du jus de cassis est considérée comme égale à 1 g•mL⁻¹.

Incertitude-type combinée relative de la méthode = 3 %

1. Principe

Une suspension bactérienne d'essai d'une souche test, ici *E. coli* ATCC 10536, est mise en contact avec le désinfectant à la concentration préconisée par le fabricant, en présence de substance interférente, pendant 5 min +/- 10 sec et à une température de $20\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$. L'action du désinfectant est stoppée à la fin du temps de contact par transfert dans une solution de neutralisant.

La norme NF EN 1276 exige, pour un produit bactéricide, un facteur de réduction de la population bactérienne d'au moins 10^5 .

Les témoins nécessaires à la validation du test ont déjà été réalisés et ont donné les résultats attendus.

2. Matériel et réactifs

- 1 suspension bactérienne d'essai (*E. coli* ATCC 10536) de densité comprise entre $1,5 \cdot 10^8$ et $3 \cdot 10^8$ UFC•mL⁻¹ : notée « S »
- 7 tubes de 9 mL de tryptone-sel (diluant) : notés « TS »
- 1 tube de 10 mL de désinfectant à tester (à une concentration de 1,25 fois la concentration d'utilisation) : noté « D »
- 1 tube de 2 mL de solution de saccharose à 100 g•L⁻¹ (substance interférente) : noté « SI »
- 1 tube de 8 mL de neutralisant : noté « N »
- 1 tube de 2 mL d'eau déminéralisée stérile : noté « eau »
- 1 flacon de 45 mL de gélose TSA en surfusion
- 3 tubes de 5 mL de gélose TSA en surfusion
- 1 tube à essai vide stérile
- 13 pipettes graduées stériles de 1 mL
- 1 pipette graduée stérile de 10 mL
- 3 boîtes de Pétri stériles vides
- 1 chronomètre
- 1 vortex

3. Mode opératoire

3.1. Dénombrement de la suspension d'essai S comprise entre $1,5 \cdot 10^8$ et $3 \cdot 10^8$ UFC•mL⁻¹

Réaliser 7 dilutions décimales en série à partir de la suspension « S ».

Effectuer le dénombrement sur les deux dernières dilutions, dans la masse d'une gélose TSA, en simple essai et en double couche.

Incuber les boîtes pendant 48 h à $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

3.2. Réalisation du test

Introduire dans un tube à essai 1 mL de substance interférente et 1 mL de suspension bactérienne S.

Homogénéiser et laisser en contact 2 min ± 10 sec à température ambiante.

Ajouter 8 mL du désinfectant à tester.

Homogénéiser et laisser en contact 5 min ± 10 sec à température ambiante.

Homogénéiser juste avant la fin du temps de contact et transférer 1 mL du mélange dans un tube contenant 8 mL de neutralisant.

Ajouter 1 mL d'eau déminéralisée. Homogénéiser.

Après 5 minutes de neutralisation à température ambiante, dénombrer en simple essai et en double couche dans la masse d'une gélose TSA.

Incuber la boîte pendant 48 h à $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

1. Principe

Le test 3M™ Petrifilm™ pour la numération des *E. coli* et coliformes dans les industries alimentaires utilise un milieu de culture prêt à l'emploi qui contient des sels biliaires, du cristal violet, du rouge neutre, un agent gélifiant soluble dans l'eau froide, un indicateur d'activité β -glucuronidase (Bromo-4-Chloro-3-indolyl- β -D-Glucuronide = BCIG) et un indicateur au tétrazolium facilitant la lecture.

Sur ce milieu, les colonies de coliformes sont rouges et associées à des bulles de gaz. Les colonies d'*E. coli* apparaissent bleues à rouge-bleues associées à des bulles de gaz.

2. Matériel et réactifs

Petrifilm™ « *E. coli* / coliformes » utilisé pour un des prélèvements de surface, incubé pendant 24 heures à 37 °C et noté « tapis roulant »

3. Lecture

Réaliser l'observation macroscopique et le comptage des colonies de coliformes présentes sur le Petrifilm.

1. Matériel et réactifs

Souche bactérienne isolée sur gélose nutritive, notée « M »

Réactifs et matériel pour observations microscopiques

Réactifs et matériel pour tests enzymatiques

Microgalerie d'identification et milieu(x) complémentaire(s)

Fiche technique de la microgalerie

2. Mode opératoire

Réaliser les examens nécessaires afin d'orienter l'identification de la souche « M ».

En déduire le nom de la microgalerie à ensemercer ainsi que le(s) milieu(x) complémentaire(s) éventuel(s) pour poursuivre l'identification.

Ensemencer la microgalerie et le(s) milieu(x) fourni(s).

Incuber dans les conditions de température et de durée appropriées.

1. Matériel et réactifs

1 tube contenant 4,6 mL de gélose agar maintenue en surfusion

1 petite boîte de Petri glycinée

Témoin pesticide 1 + pesticide 2 en tube Eppendorf étiqueté « P1+P2 + N° de poste »

Témoin pesticide 1 en tube Eppendorf étiqueté « P1 + N° de poste »

Témoin pesticide 2 en tube Eppendorf étiqueté « P2 + N° de poste »

1 tube Eppendorf contenant le jus à analyser étiqueté « jus »

1 tube Eppendorf contenant de l'eau dionisée étiqueté « eau »

Mélange d'Ac anti P1+P2 en tube Eppendorf noté « multi AC + N° de poste »

Système de perforation des puits + pompe à vide (ou équivalent)

Fond noir

P10 ou P 20 + cônes

1 gabarit de dépôt

2. Mode opératoire

Verser la totalité de la gélose dans la boîte de Petri et bien laisser solidifier (possibilité de mettre au réfrigérateur).

Réaliser 6 puits en utilisant le gabarit fourni.

Remplir chaque puits avec 6 μ L de solution adéquate. Prévoir un témoin négatif.

Laisser diffuser les dépôts en plaçant la boîte sur le côté de la paille.

Appeler ensuite l'examineur pour la placer en chambre humide pendant 24 à 48 h.

DOCUMENT A :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

CONTRÔLES BIOCHIMIQUES

N° de poste :

Dosage des glucides réducteurs par la méthode au 3,5-DNS

Tubes	0	1	2	3	4	5	C	H
Réactifs								
Solution étalon de glucose (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0		
Étalon contrôle (mL)							1,0	
Hydrolysats « H » (mL)								1,0
Eau désionisée qsp 1 mL (mL)								
Réactif au DNS (mL)								
$n_{(GR ; tube)}$ (μmol)								
A à 540 nm								

Dosage de la vitamine C

Cuve	Blanc-réactif	Échantillon
Absorbance		
Absorbance A1		
Absorbance A2		
A2 - A1		
$(A2 - A1)_{\text{échantillon}} - (A2 - A1)_{\text{blanc-réactif}}$		

DOCUMENT B :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

UNE HEURE AVANT LA FIN DE L'ÉPREUVE

IDENTIFICATION DE LA SOUCHE « M »

Nom et N° de poste :

Observation microscopique :

Résultat(s) du(des) test(s) enzymatique(s) :

Orientation proposée et justifiée :

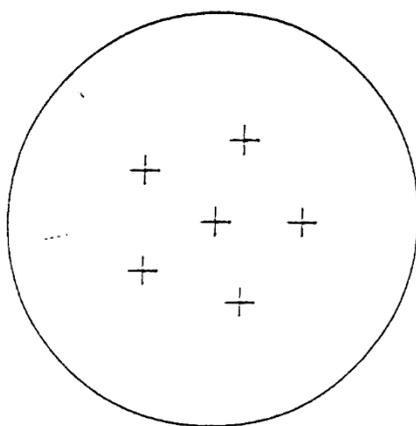
Galerie miniaturisée et milieu(x) complémentaire(s) proposés pour l'identification :

DOCUMENT C :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE

PLAN DE DÉPÔT POUR LE DÉPISTAGE DE PESTICIDES

Nom et N° de poste :



Deuxième jour : 1 heure

1. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES

Lors de contrôles microbiologiques, une contamination a été décelée dans un lot de jus de cassis. Le responsable QSE demande au laboratoire de trouver l'origine de cette contamination et de mettre en œuvre des actions correctives.

1.1. Contrôle de l'efficacité du désinfectant

1.1.1. Dénombrement de la suspension d'essai S comprise entre $1,5 \cdot 10^8$ et $3 \cdot 10^8$ UFC·mL⁻¹

- Q1. Présenter les résultats du dénombrement réalisé.
- Q2. Déterminer N la concentration bactérienne de la suspension d'essai à l'aide de l'**annexe dénombrements page 5**.
- Q3. Vérifier que N est bien conforme à la valeur attendue.

1.1.2. Test de l'activité du désinfectant

Rappel du mode opératoire :

- Introduire dans un tube à essai 1 mL de substance interférente et 1 mL de suspension bactérienne S.
Homogénéiser et laisser en contact 2 min ± 10 sec à température ambiante.
Ajouter 8 mL du désinfectant à tester.
Homogénéiser et laisser en contact 5 min ± 10 sec à température ambiante.
Homogénéiser juste avant la fin du temps de contact et transférer 1 mL du mélange dans un tube contenant 8 mL de neutralisant.
Ajouter 1 mL d'eau déminéralisée. Homogénéiser.
Après 5 minutes de neutralisation à température ambiante, dénombrer en double essai, 1 mL dans la masse d'une gélose TSA.
Incuber les boîtes pendant 48 h à 36 °C ± 1 °C.
- Q4. Déterminer N test le nombre d'UFC/mL de l'essai d'activité du produit désinfectant testé.
 - Q5. En déduire la réduction du nombre de bactéries viables selon la formule suivante :
$$R = (N \times 10^{-2}) / N \text{ test}$$
 - Q6. Justifier le facteur « 10^{-2} » utilisé dans le calcul de R.
 - Q7. Conclure.

Rappel : la norme NF EN 1276 exige, pour un produit bactéricide, un facteur de réduction de la population bactérienne d'au moins 10^5 .

1.2. Identification d'une souche isolée à partir d'un prélèvement réalisé sur les mains d'un opérateur

- Q8. Lire et interpréter la microgalerie et les milieuxensemencés. Noter les résultats sur la fiche API, à joindre à la copie.
- Q9. Identifier la souche M en utilisant les outils mis à disposition.
- Q10. Conclure.

1.3. Conclusion générale

Q11. Conclure sur l'ensemble des contrôles microbiologiques réalisés (Jour 1 et Jour 2). Proposer d'éventuelles actions correctives.

2. CONTRÔLES TOXICOLOGIQUES

Un dépistage de pesticides dans le jus de cassis est réalisé par la méthode d'Ouchterlony.

- Q12. Réaliser un schéma des résultats obtenus sur le document C du premier jour remis par l'examineur.
- Q13. Analyser les résultats et conclure sur la conformité du jus de cassis pour les paramètres testés.

Durée : 4 heures Coefficient : 4

Calculatrice interdite

QUALITÉ EN LABORATOIRE DE BIOLOGIE MÉDICALE (LBM)

Le déploiement de la qualité concerne aujourd'hui la totalité des secteurs de l'économie, et le secteur de la santé ne fait pas exception : industrie et distribution pharmaceutiques, établissements de santé (ES) tels que les hôpitaux, laboratoires de biologie médicale (LBM) sont aujourd'hui tous concernés. Ce sujet s'intéresse au cas d'un LBM au sein d'un établissement de santé.

1. SYSTÈME DE MANAGEMENT DE LA QUALITÉ (42 POINTS)

Les LBM ont été d'abord concernés par la publication du Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (GBEA, **annexe 1**) au cours des années 90. Certains se sont ensuite engagés dans une démarche d'accréditation selon la norme ISO 17025. Puis, suite à la publication d'une réglementation (**annexe 2**), ils se trouvent aujourd'hui tous concernés par la norme internationale NF EN ISO 15189 (**annexe 3**).

1.1 Accréditation des LBM

1.1.1. Pour les trois symboles : NF, EN, ISO, rappeler la signification, la portée de son application et l'organisme éditeur de ces référentiels.

1.1.2. Définir l'accréditation. Indiquer l'organisme en charge de celle-ci en France.

1.1.3. Indiquer si l'accréditation des LBM est obligatoire ou volontaire. Argumenter la réponse.

1.1.4. Indiquer à quelles conditions un laboratoire peut exercer son activité.

1.2. Cartographie des processus

Selon les exigences des normes portant sur l'organisation de systèmes de management de la qualité, le laboratoire a réalisé une cartographie de ses processus.

1.2.1. Définir un processus.

1.2.2. En s'appuyant sur le paragraphe 4.2.1 de l'ISO 15189, indiquer l'intérêt de l'approche processus et/ou de la cartographie des processus.

1.2.3. Compléter le modèle de cartographie des processus proposé en annexe A.

1.2.4. Pour le processus de réalisation, indiquer les éléments d'entrée et de sortie.

Conformément aux exigences du GBEA et de l'ISO 15189, la cartographie prévoit deux validations : une validation analytique (dite aussi validation technique), et une validation biologique.

1.2.5. En s'appuyant sur les annexes 1 et 3, indiquer le rôle de chacune de ces deux validations. Préciser pour chacune le personnel en charge de la validation.

1.3. Documentation

La norme NF EN ISO 15189 : 2012 exige notamment que les procédures analytiques soient documentées.

1.3.1. Proposer un modèle général de l'organisation de la documentation en LBM conforme aux exigences de la norme NF EN ISO 15189 : 2012. Justifier la réponse.

1.3.2. Définir le terme procédure.

Lors des gardes de nuit, le personnel est réduit et le responsable de la validation biologique est absent ; cependant le caractère « urgence vitale » impose souvent au laboratoire de rendre les résultats sans délai au service des urgences.

Dans cette situation, les résultats sont rendus après validation analytique seule, « sous réserve d'une validation biologique ultérieure », et la validation biologique aura lieu après la fin de la garde à la reprise du service normal. Ce fonctionnement est appelé « mode dérogatoire ».

1.3.3. Construire le document de procédure encadrant la validation et le rendu des résultats, en mode normal. L'utilisation d'un logigramme sera privilégiée.

1.3.4. Discuter de la conformité du mode dérogatoire.

2. PRISE EN CHARGE D'UN PROBLÈME DE DÉLAI DE RÉPONSE (25 POINTS)

2.1. Indicateur qualité

La qualité de la prise en charge des patients aux urgences repose sur la rapidité du laboratoire à rendre les résultats d'analyse dans des délais raisonnables. Le temps de rendu des résultats est donc considéré comme un indicateur qualité.

2.1.1. Définir ce qu'est un indicateur qualité.

2.1.2. Donner les caractéristiques du temps de rendu des résultats permettant de le choisir comme indicateur qualité.

La direction de l'hôpital a institué un contrat d'objectifs au laboratoire ; parmi ces objectifs un certain nombre d'examen caractéristiques font l'objet d'un temps de rendu maximum défini dans le contrat (**annexe 4**).

Une recherche des causes est entreprise, pour chacune des analyses posant problème. Pour cela, le temps de traitement moyen global est découpé en différents temps de passage :

- t_1 : temps compris entre la création de la demande par le service des urgences dans le système informatique et le chargement du tube dans la machine d'analyse ; ce temps correspond au transfert du tube dans l'hôpital et à sa prise en charge par le laboratoire incluant la création interne du dossier ;

- t_2 : temps compris entre le chargement du tube dans la machine d'analyse et la validation analytique du résultat par le technicien ;

- t_3 : temps de rendu compris entre la validation analytique et la libération du résultat dans le système informatique, pour son rendu au service des urgences.

Cette analyse est faite pour les différents moments de la journée ; en parallèle, le nombre total d'analyses réalisées dans le laboratoire est également indiqué (**annexe 5**).

2.1.3. Identifier à l'aide de l'**annexe A** les temps t_1 , t_2 , t_3 .

2.1.4. Analyser les **annexes 4** et **5** au regard des objectifs fixés dans le contrat.

2.1.5. Identifier la cible prioritaire des actions à mener.

Le laboratoire effectue une recherche des causes possibles concernant le délai de réponse.

2.1.6. Construire l'outil graphique qui permet de structurer cette recherche des causes de cet effet.

2.2. Choix et gestion d'un appareil d'analyse

L'étude des causes aboutit à la conclusion que l'appareil automate utilisé n'est pas assez performant pour satisfaire les exigences actuelles de rapidité. Comme l'appareil arrive en fin de vie, le laboratoire décide de procéder à son remplacement. Un cahier des charges des caractéristiques métrologiques et techniques attendues est constitué.

2.2.1. Définir l'expression « cahier des charges ».

La mise en place d'un appareil dans une entreprise nécessite sa qualification. Cette démarche est nommée « qualification des instruments ». La gestion d'un parc d'appareils passe par l'inventaire et la création de fiches de vie.

2.2.2. Définir l'expression « fiche de vie ». Présenter rapidement son contenu.

3. MAÎTRISE DE L'APPAREIL : MÉTROLOGIE ET CARTE DE CONTRÔLE (13 POINTS)

Le nouvel appareil va entrer en exploitation. S'agissant d'un appareil de mesure, le laboratoire prévoit des règles d'étalonnage et évalue sa performance, notamment par la justesse et la fidélité.

3.1. Proposer une définition de l'étalonnage.

3.2. Définir les termes « justesse » et « fidélité ».

La validation technique passe notamment par un échantillon de contrôle interne de qualité (CIQ). Cet échantillon CIQ est passé périodiquement au sein des séries d'échantillons de patients (tous les 30 échantillons), et la valeur obtenue est reportée sur une carte de contrôle (appelée carte de Levey-Jenings). L'annexe B propose les données obtenues sur cet échantillon CIQ, les paramètres de la carte de contrôle, et les règles d'interprétation retenues par le laboratoire (dites règles de Westgard).

3.3. Construire et nommer la carte de contrôle sur l'**annexe B**.

3.4. Argumenter le choix de la carte de contrôle utilisée.

3.5. Analyser la carte obtenue. Commenter les actions à mener.

ANNEXE 1 :

EXTRAITS DE L'ARRÊTÉ DU 26 NOVEMBRE 1999 RELATIF A LA BONNE EXÉCUTION DES ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE *Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (GBEA)*

2.15. Validation :

Opération permettant d'assurer qu'un résultat a été obtenu dans des conditions techniques satisfaisantes et que celui-ci est compatible avec le dossier biologique du patient. Cette validation est à la fois analytique et biologique.

La validation analytique comporte la vérification de la conformité des conditions d'exécution aux procédures et tient compte notamment des résultats obtenus avec les échantillons de contrôle.

La validation biologique est le contrôle de la vraisemblance et de la cohérence de l'ensemble des résultats des analyses d'un même dossier, et leur confrontation avec les résultats antérieurs. Elle peut nécessiter la connaissance de l'état clinique du patient et les traitements mis en œuvre. Elle est assurée par un biologiste.

(...)

3. Validation des résultats

La validation des résultats est double : elle comporte une validation analytique, qui peut être réalisée par le personnel d'exécution sous la responsabilité du biologiste, et une validation biologique, qui est de la compétence exclusive du biologiste.

La validation analytique des examens doit être soumise à des procédures précises écrites. Elle ne doit être effectuée qu'après avoir vérifié les indicateurs de bon fonctionnement des instruments et pris connaissance des résultats du contrôle de qualité interne.

La validation biologique doit s'assurer de la compatibilité des résultats de l'ensemble des analyses réalisées pour le même patient à des temps différents, compte-tenu, le cas échéant, des variations de son état clinique, des traitements subis et des résultats antérieurs.

ANNEXE 2 :

EXTRAITS DE L'ORDONNANCE N° 2010-49 DU 13 JANVIER 2010 RELATIVE À LA BIOLOGIE MÉDICALE - NOR: SASX0927179R - VERSION CONSOLIDÉE

Article 7 - Modifié par LOI n°2016-1691 du 9 décembre 2016 - art. 147

I.- Jusqu'au 31 octobre 2020, aucun laboratoire de biologie médicale non accrédité, au sens de l'article L. 6221-1 du code de la santé publique, ne peut fonctionner sans respecter les conditions déterminées par un arrêté du ministre chargé de la santé relative à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.

Jusqu'à cette même date, aucun laboratoire de biologie médicale privé non accrédité ne peut fonctionner sans détenir l'autorisation administrative prévue au premier alinéa de l'article L. 6211-2 du même code, dans sa rédaction antérieure à la publication de la présente ordonnance.

L'autorisation peut être retirée lorsque les conditions de sa délivrance cessent d'être remplies.

A compter du 1er novembre 2016, les laboratoires de biologie médicale ne peuvent fonctionner sans disposer d'une accréditation portant sur 50 % des examens de biologie médicale qu'ils réalisent. Toutefois, les laboratoires de biologie médicale qui, au 31 octobre 2016, ont déposé une demande d'accréditation portant sur 50 % des examens de biologie médicale qu'ils réalisent et sur au moins un examen par famille auprès de l'instance nationale d'accréditation mentionnée au I de l'article 137 de la loi n° 2008-776 du 4 août 2008 de modernisation de l'économie sont autorisés à continuer à fonctionner après le 31 octobre 2016 jusqu'à ce que cette instance ait pris une décision sur leur demande, et au plus tard jusqu'au 31 décembre 2017.

A compter du 1er novembre 2020, les laboratoires de biologie médicale ne peuvent fonctionner sans disposer d'une accréditation portant sur 100 % des examens de biologie médicale qu'ils réalisent.

(...)

Les accréditations prévues aux quatrième à avant-dernier alinéas du présent I portent sur chacune des familles d'examens de biologie médicale.

II.- L'autorisation administrative d'un laboratoire de biologie médicale délivrée, dans les conditions définies au I, avant la date de publication de la présente ordonnance continue de produire ses effets jusqu'à l'accréditation du laboratoire et au plus tard jusqu'à la date mentionnée au IV. Toutefois, si le laboratoire de biologie médicale n'a pas commencé à fonctionner effectivement deux mois après la date de publication de la présente ordonnance, l'autorisation devient caduque.

(...)

IV.- Les autorisations administratives délivrées dans les conditions définies au I sont abrogées au 1er novembre 2020.

V.- Le fait de faire fonctionner un laboratoire de biologie médicale non accrédité, au sens de l'article L. 6221-1 du code de la santé publique, sans respecter les conditions déterminées par un arrêté du ministre chargé de la santé relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale et, pour un laboratoire de biologie médicale privé, sans détenir une autorisation administrative telle que définie aux articles L. 6211-2 à L. 6211-9 du même code, dans leur rédaction antérieure à la présente ordonnance, est constitutif d'une infraction soumise à sanction administrative dans les mêmes conditions que l'infraction mentionnée au 10° de l'article L. 6241-1 dudit code.

ANNEXE 3 :

EXTRAITS DE LA NORME NF EN ISO 15189:2012

Laboratoires de biologie médicale - Exigences concernant la qualité et la compétence

3 - Termes et définitions

3.14 processus post-analytiques / phase post-analytique : processus qui suivent l'analyse et comprennent la revue des résultats, la conservation et le stockage du matériau d'analyse, la mise au rebut des échantillons (et des déchets) et la mise en forme, la validation, le compte-rendu et la conservation des résultats d'examens.

3.15 processus préanalytiques / phase préanalytique : processus commençant chronologiquement par la prescription des examens par le clinicien, comprenant la demande d'examen, la préparation et l'identification du patient, le prélèvement de l'échantillon primaire, son acheminement jusqu'au laboratoire et au sein du laboratoire et finissant au début de l'analyse.

(...)

4 - Exigences relatives au management

4.2.1 - Exigences générales

Le laboratoire doit établir, documenter, mettre en œuvre et entretenir un système de management de la qualité et en améliorer en permanence l'efficacité conformément aux exigences de la présente Norme internationale.

Le système de management de la qualité doit assurer l'intégration de tous les processus nécessaires pour répondre à sa politique et à ses objectifs qualité, ainsi qu'aux besoins et exigences des utilisateurs.

Le laboratoire doit :

- déterminer les processus nécessaires pour le système de management de la qualité et garantir leur application au sein du laboratoire,
- déterminer la séquence et l'interaction de ces processus,
- déterminer les critères et les méthodes nécessaires pour assurer l'efficacité du fonctionnement et de la maîtrise de ces processus,
- assurer la disponibilité des ressources et des informations nécessaires au fonctionnement et à la surveillance de ces processus,
- surveiller et évaluer ces processus, et
- mettre en œuvre les actions nécessaires pour obtenir les résultats prévus et l'amélioration continue de ces processus.

4.2.2 - Exigences relatives à la documentation

4.2.2.1 - Généralités

La documentation du système de management de la qualité doit comprendre ;

- les déclarations d'une politique qualité (voir 4.1.2.3) et les objectifs qualité (voir 4.1.2.4),
- un manuel qualité (voir 4.2.2.2),
- les procédures et enregistrements requis par la présente Norme internationale,
- les documents et enregistrements (voir 4.13) nécessaires au laboratoire pour assurer la planification, le fonctionnement et la maîtrise efficaces de ses processus, et
- les copies des réglementations, normes en vigueur et autres documents normatifs.

NOTE : La documentation peut être dans n'importe quel format ou type de support, à condition qu'elle soit facilement accessible et protégée contre les modifications non autorisées et altérations indues.

4.2.2.2 - Manuel qualité

Le laboratoire doit établir et tenir à jour un manuel qualité qui comprend :

- la politique qualité (4.1.2.3) ou des références à celle-ci,
- une description de l'étendue du système de management de la qualité,
- une présentation de l'organisation et de la structure de direction du laboratoire et sa position dans l'organisation mère,
 - une description des rôles et responsabilités de la direction du laboratoire (y compris le directeur du laboratoire et le directeur de la qualité) pour garantir la conformité avec la présente Norme internationale,
 - une description de la structure et des relations de la documentation utilisée dans le système de management de la qualité, et
 - les politiques documentées établies pour le système de management de la qualité et une référence aux activités managériales et techniques sur lesquelles elles reposent.

L'ANNEXE 3 SE POURSUIT PAGE SUIVANTE

SUITE DE L'ANNEXE 3

Tout le personnel de laboratoire doit avoir accès à et être informé quant à l'utilisation et l'application du manuel qualité et des documents référencés.

4.3 - Maîtrise des documents

Le laboratoire doit contrôler les documents requis par le système de management de la qualité et veiller à éviter toute utilisation intempestive d'un document obsolète.

(...) Le laboratoire doit mettre en place une procédure documentée permettant de garantir ce qui suit :

- tous les documents, y compris ceux tenus à jour dans un système informatique, publiés dans le cadre du système de management de la qualité, sont revus et approuvés par le personnel autorisé avant édition
- tous les documents sont identifiés et doivent inclure :
 - un titre,
 - un identifiant unique sur chaque page,
 - la date de l'édition actuelle et/ou le numéro d'édition,
 - le nombre de pages par rapport au nombre total de pages (par exemple page 1/ 5, page 2/5), et
 - l'autorité responsable de l'édition ;

NOTE : Le terme « édition » désigne un nombre d'impressions éditées à des dates distinctes qui intègre des modifications et amendements. Il peut être considéré comme synonyme de « révision ou version ».

- les éditions autorisées actuelles et leur diffusion sont identifiées au moyen d'une liste (par exemple registre de documents, journal ou index principal)
- seules les éditions actuelles autorisées des documents applicables sont disponibles dans les lieux d'utilisation
- si le système de maîtrise des documents du laboratoire permet des modifications manuscrites des documents en attendant leur réédition, les procédures et les autorités concernant ces modifications sont définies, les modifications étant clairement marquées, paraphées et datées, et un document révisé est édité dans une période de temps spécifiée
- les modifications apportées aux documents sont identifiées
- les documents restent lisibles
- les documents sont périodiquement revus et mis à jour selon une fréquence qui garantit qu'ils restent « aptes à l'usage »
- les documents contrôlés obsolètes sont datés et marqués comme étant obsolètes ;
- au moins une copie d'un document contrôlé obsolète est conservée pendant une période de temps spécifiée ou conformément aux exigences spécifiées applicables.

(...)

5 - Exigences techniques

(...)

5.7.1 - Revue des résultats

Le laboratoire doit disposer de procédures visant à garantir que le personnel autorisé consulte les résultats des analyses avant de les diffuser, et qu'il les évalue par rapport au contrôle interne de la qualité et, si approprié, aux informations cliniques disponibles et aux résultats des analyses précédentes.

ANNEXE 4 :

COMPARAISON DES TEMPS DE RÉPONSE OBSERVÉS DU LABORATOIRE PAR RAPPORT AUX OBJECTIFS CONTRACTUELS DE DÉLAI DE RÉPONSE POUR LES ANALYSES URGENTES DE RÉFÉRENCE ET POUR LE MOIS DE FÉVRIER

Secteur d'analyse	Analyse	Durée maximum contractuelle (min)	Durée moyenne réelle*	Durée maximum observée*	Nombre d'échantillons concernés par le dépassement*
Hématologie	NFS	30	23	29	0
	Plaquettes	30	22	32	2
	Groupage	45	38	48	1
Hémostase	INR	66	68	98	134
	TCA	66	67	89	130
	D-D	45	49	68	39
Biochimie	Ionogramme	30	26	32	1
	Glycémie	60	45	59	0
	Créatinine	60	48	54	0
	Troponine	60	42	62	1
	CK	60	44	53	0
	CRP	60	54	64	1
	G-GT	60	42	58	0
	LDH	60	41	55	0
Hormonologie	b-HCG	75	62	70	0
	E2	75	64	68	0
Toxicologie	Screening	45	41	49	2

(* : relevé automatique de la situation réelle, réalisé par le système informatique de l'hôpital)

Les objectifs fixés dans le contrat sont :

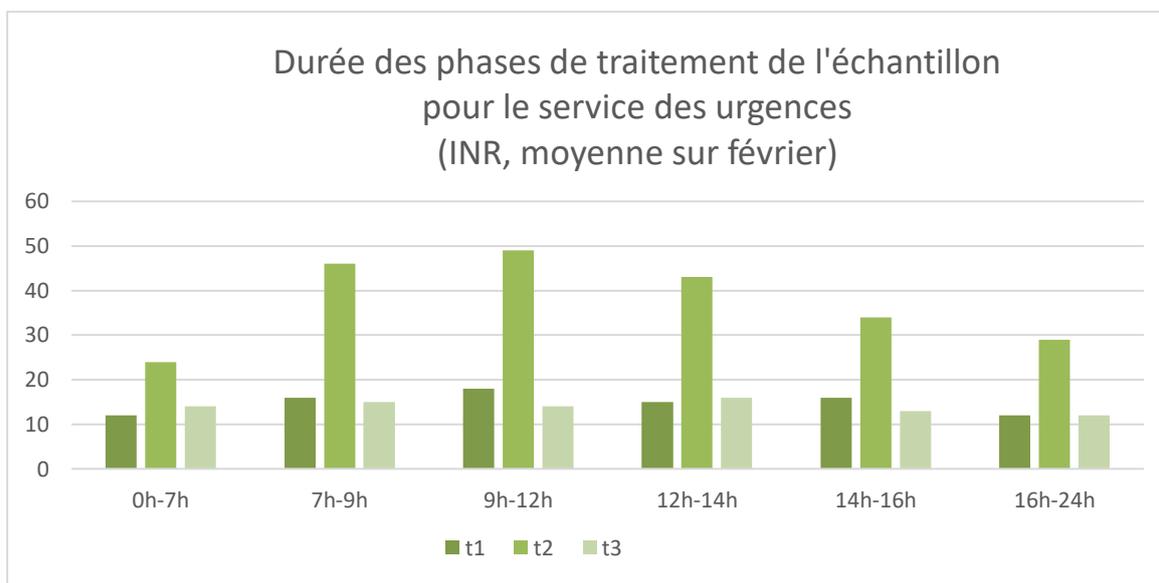
- le respect strict des délais maximaux en moyenne ;
- un maximum de 3 échantillons en dépassement de limite, par secteur d'analyse et par mois ;
- ces échantillons en dépassement ne doivent jamais dépasser de plus de 33 % ($\frac{1}{3}$) le temps maximal prévu par contrat.

ANNEXE 5 :

ANALYSE DÉTAILLÉE POUR L'INR

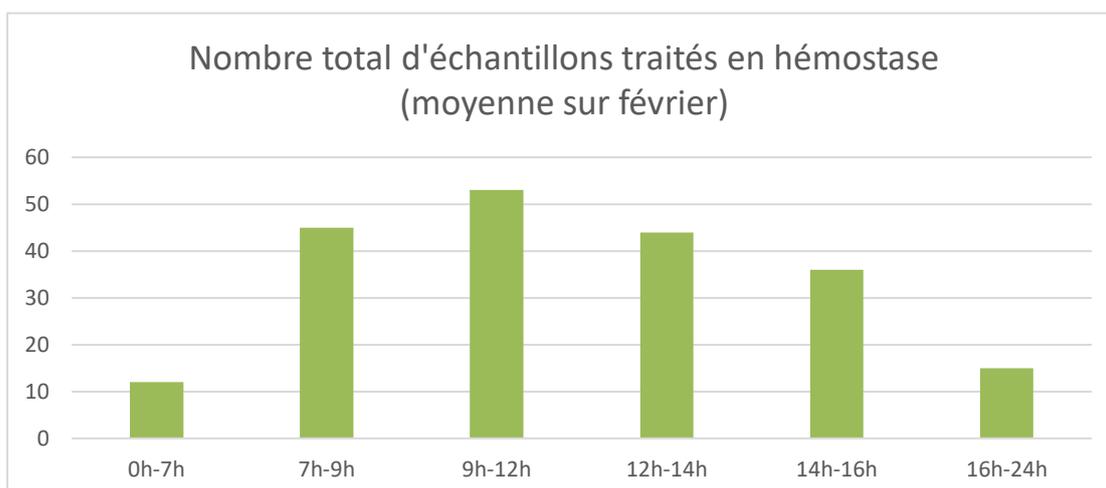
Durée moyenne en minute des différentes phases du traitement de l'échantillon sur la période de février

Phase de l'analyse	Plages horaires					
	0h-7h	7h-9h	9h-12h	12h-14h	14h-16h	16h-24h
t1	12	16	18	15	16	12
t2	24	46	49	43	34	29
t3	14	15	14	16	13	12
Durée totale	50	77	81	74	63	53



Nombre total d'échantillons traités sur le secteur d'hémostase, en moyenne et sur la période de février

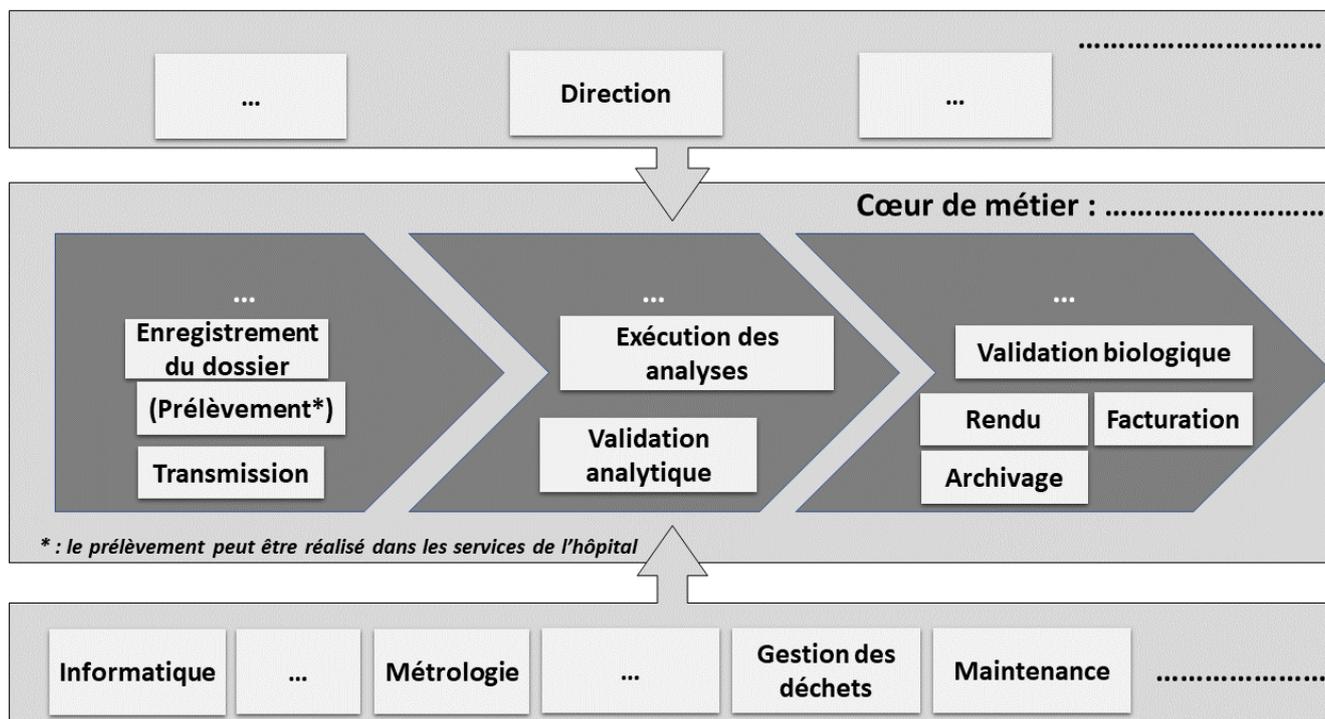
Nombre total moyen d'échantillons en hémostase	Plages horaires					
	0h-7h	7h-9h	9h-12h	12h-14h	14h-16h	16h-24h
	12	45	53	44	36	15



ANNEXE A :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE CARTOGRAPHIE DES PROCESSUS DU LABORATOIRE

Numéro d'anonymat du candidat :



Compléter la cartographie avec les éléments suivants :

- Processus de management
- Processus de réalisation analytique
- Processus support
- Phase préanalytique
- Phase analytique
- Phase post-analytique
- Gestion du personnel
- Gestion de la qualité
- Achats (de fournitures)
- Comptabilité

ANNEXE B :

À COMPLÉTER ET À REMETTRE AVEC LA COPIE CARTE DE CONTRÔLE DE LEVEY-JENNINGS CIQ DU TEMPS DE QUICK UTILISÉ POUR LE CALCUL DE L'INR

Numéro d'anonymat du candidat :

Valeurs obtenues pour le CIQ du Temps de Quick :

Numéro de passage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Temps de Quick (s)	21,0	22,5	21,0	23,0	18,0	19,5	17,0	20,0	21,0	21,5

Numéro de passage	11	12	13	14	15
Temps de Quick (s)	22,0	23,0	23,5	24,0	24,5

Objectifs fournis par le fournisseur de l'échantillon de CIQ :

$m_{TQ} = 22,0$ secondes ; $s_{TQ} = 1,5$ secondes.

Règles pour la construction de la carte de contrôle :

- carte centrée sur m
- limites inférieure et supérieure de surveillance LIS/LSS à $m \pm 2s$
- limites inférieure et supérieure de contrôle LIC/LSC à $m \pm 3s$
-

Règles de Westgard retenues pour l'interprétation :

- règle de surveillance du processus 1_{2s} : lorsqu'une valeur est en-dehors de $m \pm 2s$ sans dépasser $m \pm 3s$, on s'assure que la valeur suivante rentre dans l'intervalle $m \pm 2s$.
- règle de rejet 2_{2s} : rejet du contrôle et de la série si deux valeurs consécutives sont comprises au-delà de $m \pm 2s$.
- règle de rejet critique 1_{3s} : rejet du contrôle et de la série si une valeur est en dehors de $m \pm 3s$.
- règle 10_x : rejet du contrôle si dix valeurs de suite sont du même côté de m et procédé à rerégler.
- règle 7_T : rejet du contrôle si sept variations consécutives vont dans le même sens (7 fois consécutives croissant, ou 7 fois consécutives décroissant) et procédé à rerégler.

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 à l'adresse email suivante : raphael.bouquet@ac-paris.fr
- de lire les éventuels erratums sur le site UPBM : <http://www.upbm.org> (rubrique annales)

Corrigés sujets 2018

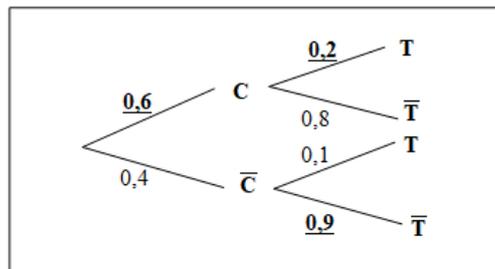
E2-U21 Mathématiques

2018

EXERCICE 1 (9 POINTS)

Partie A

1. Remarque : valeurs du texte écrites en gras souligné



2. $P(T) = P(C \cap T) + P(\bar{C} \cap T) = 0,6 \times 0,2 + 0,4 \times 0,1 = 0,16$

3. Calculons $P_T(C) = \frac{P(C \cap T)}{P(T)} = \frac{0,6 \times 0,2}{0,16} = 0,75$

4. a) Comme estimation ponctuelle de p on prend la fréquence observée dans l'échantillon soit $f = \frac{25}{40} = 0,625$

b)

$$p \in \left[0,625 - 1,96 \sqrt{\frac{0,625 \times (1 - 0,625)}{40}}, 0,625 + 1,96 \sqrt{\frac{0,625 \times (1 - 0,625)}{40}} \right] \approx [0,548; 0,702]$$

Partie B

1. Pour une loi exponentielle, comme rappelé dans le formulaire distribué, $E(X) = \frac{1}{\lambda}$. Dans le texte le délai moyen est de 10 jours donc $\lambda = 0,1$

2. La représentation A correspond à la densité de probabilité de cette loi exponentielle.

3. $P(T \leq 8) = 1 - e^{-0,1 \times 8} \approx 0,551$

Partie C

- Question 1 : réponse A
- Question 2 : réponse C
- Question 3 : réponse B
- Question 4 : réponse A

EXERCICE 2 (11 POINTS)

Partie A

1. 90 minutes correspondent à 1,5 heure. D'après le graphique pour un temps de 1,5, on obtient une température de 22°C.
2. a) Non car au bout de 2 h la température est toujours au-dessus de 10°C
b) Oui. Pour atteindre 10°C, il faut environ 1,75 h soit 1h et 45 minutes.
3. Par exemple avec une baisse de 5 % sur 15 minutes on aurait une température de $63 \times 0,95^{15} \approx 29$ °C, en utilisant la formule explicite d'une suite géométrique. Or avec la courbe C2, on a environ 47°C.
- 4.

1	N ← 0
2	T ← 63
3	Tant que T ≥ 10
4	Affecter à N la valeur N + 1
5	Affecter à T la valeur T x 0,98
6	Fin Tant que

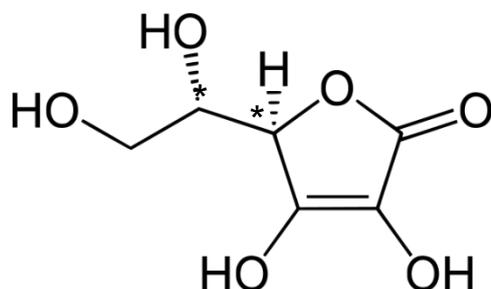
Partie B

1. a) $y' = -1,2(y - 3)$ s'écrit aussi $y' = -1,2y + 3,6$ soit $y' + 1,2y = 3,6$
b) L'équation différentielle $y' + 1,2y = 0$ est du modèle $y' + ay = 0$ avec $a=1,2$. Donc d'après le cours les solutions sont les fonctions de la forme $t \mapsto k e^{-1,2t}$ avec k une constante réelle.
c) La fonction constante $t \mapsto 3$ est solution particulière de (E) donc elle doit vérifier cette équation.
Or $0 + 1,2 \times 3 = 3,6$. Les solutions de l'équation différentielle (E) sont donc de la forme : $t \mapsto k e^{-1,2t} + 3$.
d) D'après le texte, on place les barquettes dans la cellule de refroidissement, c'est à dire au temps $t = 0$, lorsque la température du plat cuisiné atteint + 63°C. D'où $f(0) = 63$.
La fonction f solution de (E) vérifie donc la condition $f(0)=63$, d'où $k e^{-1,2 \times 0} + 3 = 63$ soit $k = 60$. Conclusion $f(t) = 60 e^{-1,2t} + 3$.
2. A la calculatrice, on obtient $f(2) \approx 8,44$. Au bout de 2 h la température de la barquette est d'environ 8,44°C.
3. Si $t \rightarrow +\infty$ alors $-1,2t \rightarrow -\infty$ d'où $e^{-1,2t} \rightarrow 0$ donc $f(t) \rightarrow 3$. Si on laisse la barquette dans la cellule de refroidissement sa température se stabilisera à 3°C.
4. Ce résultat correspond à la valeur moyenne de la fonction entre 0 et 1,5. La température moyenne de la barquette au cours de la première heure et demie sera de 30,8°C.
5. Graphiquement la fonction g possède les mêmes propriétés que la fonction f . C'est à dire $g(0) = 63$ et sa limite en $+\infty$ serait 3.
Donc, on peut admettre que $g(t)$ est de la forme $60 e^{at} + 3$ avec a une constante.
D'après la courbe on aurait $g(1,5) = 22$, d'où $60 e^{1,5a} + 3 = 22$. D'où on obtient $a \approx -0,76$.
On peut donc proposer $g(t) = 60 e^{-0,76t} + 3$.
Avec la calculatrice on constate que la représentation graphique de la fonction ainsi définie « correspond » bien à la courbe C2.

PARTIE A - LA MOLÉCULE D'ACIDE L-(+)-ASCORBIQUE (5 POINTS)

A.1. Un carbone asymétrique est un carbone tétraédrique portant 4 substituants (ou groupements) différents

A.2. 2 carbones asymétriques dans la molécule



A.3.

- groupes hydroxyle ou alcool (-OH)
- 1 groupe ester (ester cyclique appelé aussi lactone)
- une insaturation (alcène)

A.4.

- On classe les groupements liés au carbone 5 par ordre de priorité (CIP) :
- OH > -C₄ > -CH₂OH > -H
- Attention puisque -OH est vers l'arrière, le -H est placé à l'avant du plan, la séquence 1,2,3 semble tourner dans le sens des aiguilles d'une montre mais puisque -H est devant, le carbone n°5 possède la configuration (S)

A.5. « L » signifie que le dernier groupe « -OH » à gauche dans la représentation de Fisher.

Le signe « + » signifie que cette molécule est dextrogyre (fait tourner le plan de polarisation de la lumière polarisée vers la droite, $[\alpha]_D > 0$).

A.6. Deux molécules sont énantiomères si elles sont images l'une de l'autre dans un miroir plan et non superposables.

A.7.a) La configuration de l'un des centres asymétriques (C4) a été changée.

A.7.b)

- (a) Faux car la bonne réponse est C₆H₈O₆.
- (b) Vrai car (A) et (B) sont des diastéréoisomères donc n'ont pas les mêmes propriétés physiques.
- (c) Faux car (A) et (B) sont des diastéréoisomères donc n'ont pas les mêmes propriétés chimiques.
- (d) Vrai une molécule chirale possède un et un seul énantiomère (son image dans un miroir)

PARTIE B - PROPRIÉTÉ RÉDUCTRICE DE L'ACIDE ASCORBIQUE (4 POINTS)

B.1. Ce terme représente le potentiel standard du couple C₆H₆O_{6(aq)} / C₆H₈O_{6(aq)}

B.2. C₆H₆O_{6(aq)} + 2H⁺_(aq) + 2 e⁻ = C₆H₈O_{6(aq)}

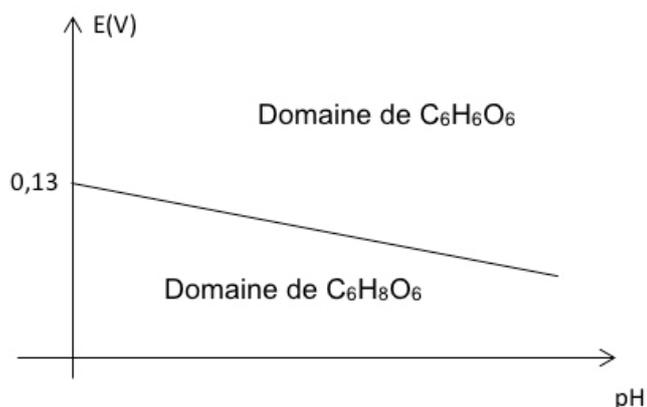
B.3.
$$E = E^\circ (C_6H_6O_{6(aq)} / C_6H_8O_{6(aq)}) + \frac{0,06}{2} \times \log \frac{[C_6H_6O_6] \times [H^+]^2}{[C_6H_8O_6]}$$

$$E = E^\circ + 0,03 \log \frac{[C_6H_6O_6]}{[C_6H_8O_6]} + 0,03 \times 2 \log([H^+])$$

pH = -log[H⁺], E est donc une fonction du pH

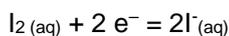
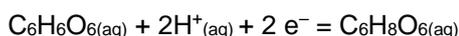
B.4.

On trace une droite de pente $-0,06$ et d'ordonnée à l'origine $0,13$. En dessous se trouve le domaine de prédominance du réducteur, au-dessus celui de l'oxydant



B.5. Pour des pH acides (donc inférieurs à $7,4$) les domaines de prédominance de I_2 et de l'acide ascorbique sont disjoints donc réaction possible.

B.6. Écriture des demi-équations



Chaque couple échange le même nombre d'électrons

En combinant ces deux demi-équations électroniques, nous obtenons l'équation **(1)** proposée.

B.7. $\Delta_R G^\circ = -RT \ln K$ ou $K = \exp\left(\frac{-\Delta_R G^\circ}{RT}\right) = 4,6 \cdot 10^{16}$

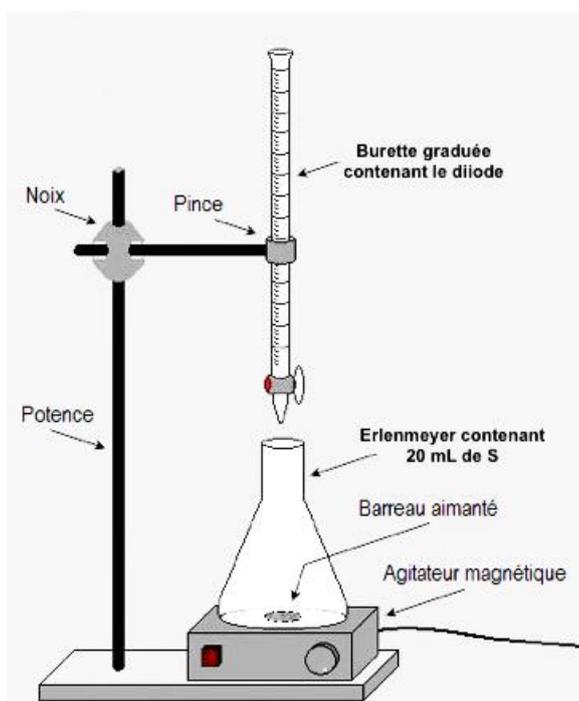
$K > 10^4$, on peut considérer la réaction (1) comme totale

PARTIE C - DOSAGE D'UNE SOLUTION D'ACIDE ASCORBIQUE (6 POINTS)

C.1. Dilution par 100 donc $F = \frac{V_f}{V_m} = \frac{500}{V_m} = 100 \Rightarrow V_m = 5,00 \text{ mL}$

- Pipette jaugée de 5 mL (+ poire d'aspiration)
- Fiole jaugée de 500 mL (+ bouchon)

C.2.



C.3. L'équivalence correspond au moment où les réactifs sont introduits en proportion stœchiométrique ou changement de réactif limitant.

C.4. À l'équivalence $n(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) = n(\text{I}_2)$

$$C_s \cdot V_0 = C_1 \cdot V_{eq}$$

$$C_s = C_1 \cdot V_{eq} / V_0$$

C.5. Application numérique $C_s = 0,02 \cdot 14,2 / 10 = 0,0284 \text{ mol/L}$

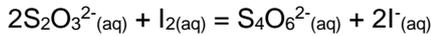
Dilution inverse : $C_{AA} = C_s \cdot 100 = 0,028 \cdot 100 = 2,84 \text{ mol/L}$

Concentration massique : $C_M = 2,84 \cdot 176,13 = 500 \text{ g/L} = 500 \text{ mg/mL}$

C.6. Il s'agit d'un dosage en excès : l'acide ascorbique réagit dans un premier temps avec un excès connu de I_2 . Tout l'acide ascorbique réagit.



On dose ensuite le I_2 restant en excès par le thiosulfate :



Par différence on a accès à la quantité de I_2 ayant réagi avec l'acide ascorbique, donc à la concentration d'acide ascorbique consommé

PARTIE D - INJECTION D'ACIDE ASCORBIQUE A UN PATIENT (5 POINTS)

D.1.

$\vec{F}_1 + \vec{F} = \vec{0}$ En projetant sur l'axe horizontal :

$$F + P_{\text{atm}} \times S_1 = P_1 \times S_1 \Rightarrow P_1 = \frac{F}{S_1} + P_{\text{atm}} \Rightarrow P_1 = \frac{4 \times F}{\pi \times d_1^2} + P_{\text{atm}}$$

(La force \vec{F}_1 étant la force opposée à \vec{F} s'appliquant sur le piston)

A.N : $P_1 = 138197 \text{ Pa} = 1,4 \text{ bar}$

D.2. Débit volumique constant (fluide parfait) donc : $V_1 S_1 = V_2 S_2$

D'où l'expression

$$V_1 = V_2 \times \left[\frac{d_2}{d_1} \right]^2 \Rightarrow V_1 = \frac{1}{16} \times V_2$$

D.3. Bernoulli :

$$\frac{V_1^2}{2} + \frac{P_1}{\rho} = \frac{V_2^2}{2} + \frac{P_{\text{atm}}}{\rho} \Rightarrow V_2 = \sqrt{\frac{(P_1 - P_{\text{atm}}) \times 512}{\rho \times 255}} \quad (\text{avec } V_1 = \frac{1}{16} \times V_2)$$

$$V_2 = \sqrt{\frac{(1,4 - 1) \times 10^5 \times 512}{1000 \times 255}} = 9,0 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

D.4. Conservation du débit volumique $Dv = Sv$, soit V_3 la vitesse de sortie du fluide à la sortie de la seringue (de section S_3)

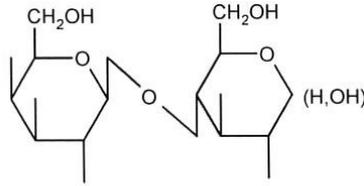
$$V_2 S_2 = V_3 S_3 \text{ d'où } V_3 = \frac{S_2}{S_3} \times V_2, \text{ or } S_3 < S_2 \text{ donc } V_3 > V_2$$

Si la section diminue la vitesse augmente.

PARTIE BIOCHIMIE (40 POINTS)

1. ASPECTS THÉORIQUES DE LA FERMENTATION LACTIQUE

1.1.

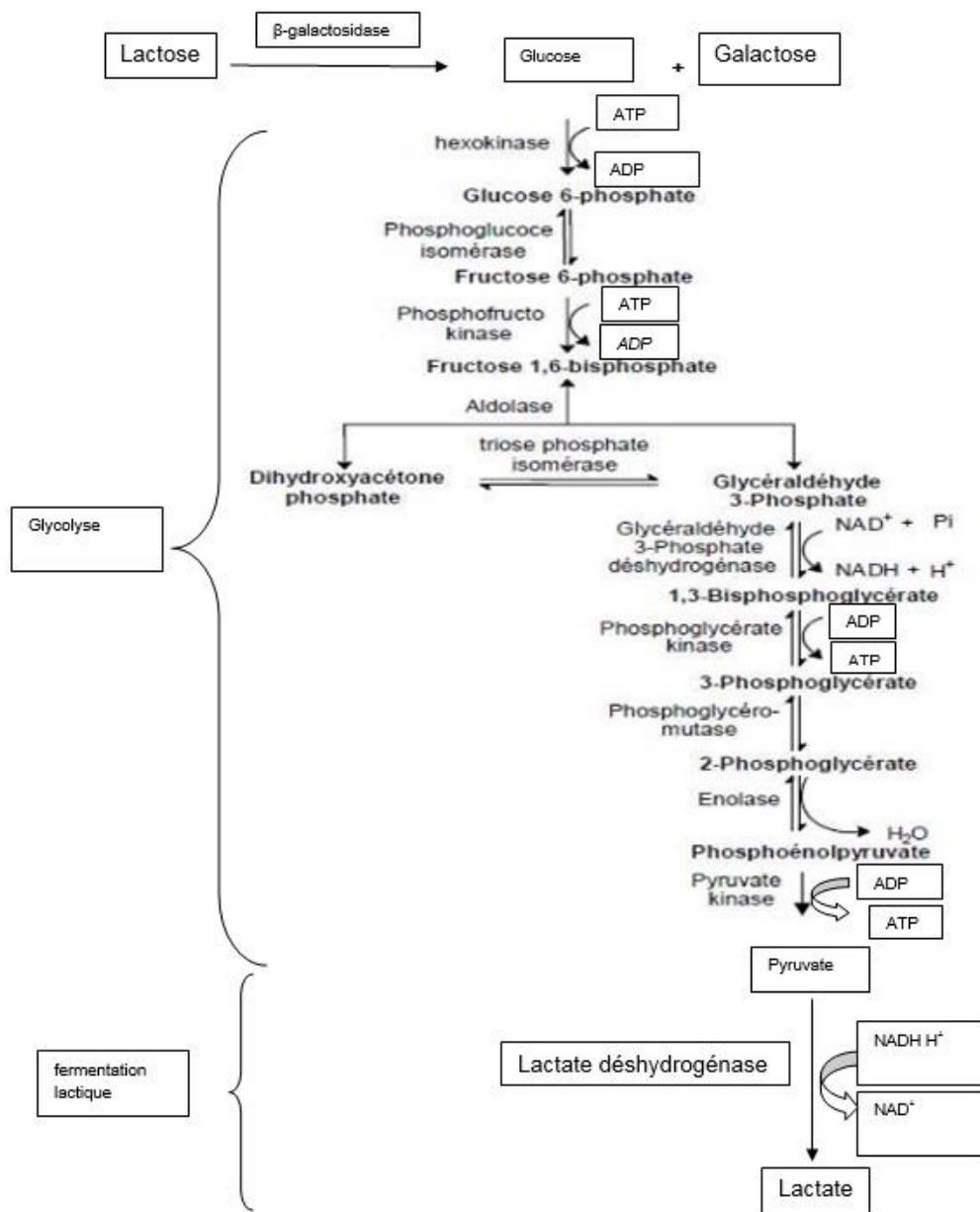


LACTOSE

β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-glucopyranose

Le lactose est un sucre réducteur du fait de la présence d'une fonction hémiacétal sur le carbone n° 1 de glucose

1.2.



Bilan énergétique : production de 2 ATP.

Intérêt bactéries : la réoxydation du NADH, H⁺ pour former NAD⁺ nécessaire à la glycolyse.

1.3. Masse de lactose nécessaire = $(0,7/90,08) * 342,3 / 2 = 1,33$ g.

Lactose hydrolysé = $1,33 * 100 / 4,8 = 28$ %

Il reste donc $4,8 - 1,33 = 3,47$ g de lactose résiduel dans 100 g de yaourt.

Il reste encore beaucoup de lactose dans un yaourt, une personne intolérante ne peut donc pas en consommer.

2. DOSAGE DE L'ACIDITÉ DU YAOURT PAR MÉTHODE ENZYMATIQUE

2.1. Méthode : dosage de substrat en point final : tout le substrat (lactate à doser) doit être métabolisé par les enzymes. La réaction doit être totale.

2.2. Teneur théorique d'un yaourt en acide lactique > 0,7 %, concentration supérieure à $0,7 * 10 * 1,033 = 7,2$ g/L justifiant selon l'annexe 1 une dilution 1/100 de l'échantillon.

2.3. A1 : lecture de l'absorbance des réactifs sans déclenchement de la réaction enzymatique.

A2 : Lecture de l'absorbance après réaction enzymatique totale.

2.4.

$$\rho(\text{acide lactique, échantillon dilué}) = \frac{V_{\text{cuve}} \cdot M_{\text{acide lactique}}}{\epsilon \cdot l \cdot V_{\text{échantillon dilué}}} \times \Delta A$$

$$\rho(\text{acide lactique, échantillon dilué}) = (2,26 \times 90,09 / (6300 \times 1 \times 0,1)) \times \Delta A$$

$$\rho(\text{acide lactique, échantillon dilué}) = 0,3232 \times \Delta A$$

$$\Delta A = (0,351 - 0,103) - (0,102 - 0,101) = 0,247$$

$$\rho(\text{acide lactique, échantillon dilué}) = 0,08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$\text{Teneur (acide lactique, yaourt)} = \frac{\rho(\text{acide lactique, échantillon dilué})}{d \cdot 10} \times F$$

$$\text{Teneur (acide lactique, yaourt)} = (0,08 / (1,033 \times 10)) \times 100$$

$$\text{Teneur (acide lactique, yaourt)} = 0,77 \text{ g} / 100 \text{ g}$$

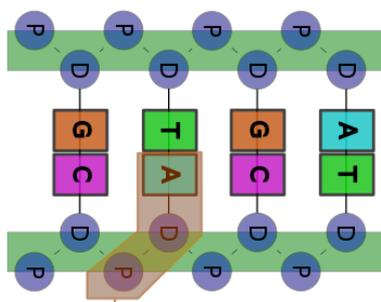
3. AMÉLIORATION DES FERMENTS GRACE A LA TECHNIQUE CRISPR-CAS9

3.1. Structure de l'ADN

3.1.1. Base azotée + désoxyribose + phosphate(s) ; désoxyribose + Pi + A,T,G,C.

3.1.2. Interaction hydrogène : bases complémentaires A/T et C/G

3.1.3.



A, T, C et G : Bases azotées

P : Acide phosphorique

D : Désoxyribose

3.2. Modification du génome des ferments par la technique Crispr-Cas9

3.2.1. Rupture de la liaison phosphodiester (ou liaison covalente) entre 2 nucléotides. Endonucléase ou DNase.

3.2.2. A : ADN, B : ARN, C : Interaction hydrogène entre ADN/ARN.

3.2.3. GAGGT TACTG

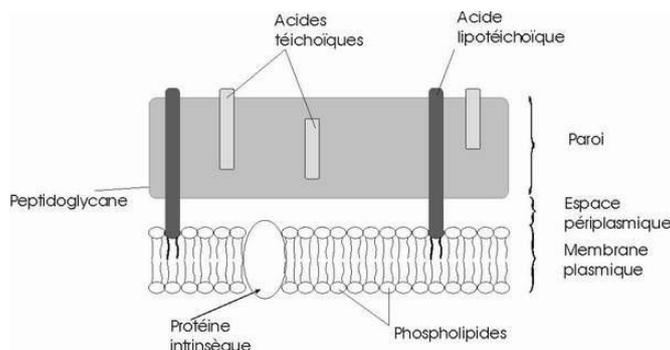
CTCCA ATGAC

3.2.4. La modification du génome (introduction de gènes après intervention de Cas9) peut permettre l'amélioration de l'efficacité des ferments et/ou leur résistance aux phages.

PARTIE MICROBIOLOGIE (39 POINTS)

1. CARACTÉRISTIQUES DES FERMENTS LACTIQUES DU YAOURT

1.1



Paroi d'une bactérie Gram positif.

1.2. Catalase

1.3. Homofermentaire : souche réalisant la fermentation lactique avec production d'une quantité d'acide lactique > 90 % ou majoritairement de l'acide lactique (accepté aussi avec production uniquement d'acide lactique).

Bactéries thermophiles (accepté aussi thermotolérant).

1.4. Facteur de croissance : substance organique indispensable au développement du microorganisme mais qu'il est incapable de synthétiser donc qu'il doit trouver dans le milieu.

Exemples : bases azotées, vitamines, acides aminés (au moins deux exemples attendus).

Les 2 souches étudiées ne peuvent croître sans facteur de croissance, elles sont donc auxotrophes vis-à-vis de facteurs spécifiques.

1.5. Performance, production d'acide lactique importante, vitesse de croissance élevée, coût, facilité d'emploi, qualité du produit obtenu.

2. SUIVI DE CROISSANCE DES FERMENTS LACTIQUES

2.1. Phase de latence (60 min)

Phase d'accélération (60 min)

Phase exponentielle (90 min)

Phase de ralentissement (30 min)

Phase stationnaire (60 min)

2.2. En phase exponentielle, le temps de génération est $G = \ln 2 / \mu_{\max}$

$$\mu_{\max} = (\ln N_1 - \ln N_2) / (t_2 - t_1) = (18,83 - 17,22) / (180 - 150) = 0,054 \text{ min}^{-1}$$

$$G = \ln 2 / 0,054 = 12,8 \text{ min}$$

Le temps de génération de la souche de *L. bulgaricus* est donc d'environ 13 minutes.

2.3. La croissance de *S. thermophilus* (*S.t*) démarre plus rapidement que celle de *L. bulgaricus* (*L.b*).

La quantité de cellules de streptocoques produites en fin de fermentation est plus importante que celle du lactobacille.

L.b démarre sa croissance alors que *S.t* est en phase exponentielle, on peut penser que *L.b* utilise des produits du métabolisme de *S.t* pour se développer (effet de synergie).

2.4. Nombre de *L.b* : $6 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$

Nombre de *S.t* : $2 \cdot 10^9 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$

Total = $2 \cdot 10^9 + 6 \cdot 10^8 = 2,6 \cdot 10^9 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$

Le yaourt est bien conforme ($> 10^7 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ en fin de fabrication).

3. CRISPR-CAS9 ET ACTIVITÉ DES FERMENTS LACTIQUES DU YAOURT

3.1. Résistance naturelle des bactéries vis-à-vis des phages grâce au système Crispr-Cas9

3.1.1. Phage : virus infectant une bactérie + bonus si définition virus.

Phages virulents : infection lytique et destruction de la bactérie.

Phages tempérés : infection lysogène, le phage intègre son ADN au chromosome bactérien, pas de destruction immédiate de la bactérie.

3.1.2. La présence de phages peut entraîner une destruction des ferments lactiques et donc empêcher la fermentation lactique.

3.2. Amélioration des performances des ferments lactiques grâce au système Crispr-Cas9

3.2.1. Témoin : disque de cellulose seul.

Il n'y a pas de croissance des souches autour du disque témoin sans facteur de croissance, la souche ne se développe pas sur ce milieu.

La souche native ne se développe pas avec un seul facteur de croissance (1 ou 2), ils doivent être associés pour permettre un développement.

La souche modifiée se développe en présence du facteur de croissance 1 seul, on remarque encore un meilleur développement avec les 2 facteurs associés (diamètre de croissance supérieur à la souche native).

La souche transformée est moins exigeante que la souche native.

3.2.2. Le temps de génération de la souche modifiée est plus faible et sa productivité est plus importante. Sur ces 2 paramètres cinétiques, elle est plus performante que la souche native.

PARTIE TOXICOLOGIE (21 POINTS)

1. POUVOIR TOXIQUE DES MYCOTOXINES

1.1 Une mycotoxine est une toxine produite par une moisissure. Les mycotoxines contaminent plus particulièrement les céréales mais aussi le lait, les fruits, noix, amandes, grains et fourrages, ainsi que les aliments issus de ces filières.

Parmi les genres producteurs, on peut citer *Aspergillus*, *Penicillium* ou *Fusarium*.

1.2. Mutagène : substance qui entraîne des modifications du génome transmissibles à la descendance.

Cancérogène : substance capable de transformer des cellules normales en cellules malignes :

- les cellules sont devenues immortelles,
- elles n'obéissent plus aux facteurs de régulation cellulaire,
- elles sont capables d'aller coloniser d'autres tissus.

Tératogène : substance qui entraîne des malformations du fœtus ou de l'embryon.

1.3.1. Étape 1 : phase de fonctionnalisation ; elle implique l'introduction ou l'exposition d'un groupement réactif par des réactions d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse,

Étape 2 : phase de conjugaison à des radicaux hydrophiles pour faciliter l'élimination.

Les principales voies d'élimination des mycotoxines sont les voies biliaire (ou hépatique) et urinaire (ou rénale).

1.3.2. Il s'agit du phénomène de bioactivation ou biotoxification : au lieu de détoxifier, le foie augmente le pouvoir toxique de la molécule avec formation de dérivés époxydes. Ceux-ci, fortement électrophiles, peuvent s'intercaler entre les bases de l'ADN ou agir sur les protéines entraînant des effets néfastes sur l'organisme (vieillesse prématurée des cellules, mutagénèse, ...).

1.4.1. DSE : Dose sans effet, dose de toxique maximale n'ayant pas d'effet nocif sur l'espèce étudiée dans un test de toxicité chronique.

DJT : Dose journalière tolérable, quantité maximale de toxique qu'un individu peut absorber quotidiennement durant toute sa vie sans conséquences néfastes.

1.4.2. DJT = DSE/FS. Le facteur de sécurité (FS) tient compte de la variabilité intra et inter-espèce et de la nature des effets de la substance => varie de 100 à 1000, selon la classification de la substance active.

Dans l'exemple étudié, $DJT_{\text{aflatoxine B1}} < DSE/1000$ car la molécule est très toxique (bioactivation).

2. UTILISATION DE FERMENTS LACTIQUES CONTRE LES MYCOTOXINES

2.1. Dans le témoin (lait sans ensemencement), la quantité d'aflatoxine récupérée diminue avec le temps d'incubation. Ceci est dû au fait que le rendement d'extraction diminue lorsque la durée de contact entre l'aflatoxine et les protéines du lait augmente.

2.2. L'incubation est arrêtée lorsque les laits fermentés atteignent 90 °D, ce qui explique que certaines cinétiques sont arrêtées avant 12 h.

2.3. Quelle que soit la souche utilisée, la quantité d'aflatoxine récupérée est moins importante que pour le témoin (après 6 h, entre 70 et 75 % pour les 2 souches séparées alors que le témoin est à 90 %). Plus on récupère d'aflatoxine, moins les ferments sont efficaces. Ainsi, *Lactobacillus bulgaricus* semble la plus efficace car elle permet d'atteindre en 6h le niveau que *Streptococcus thermophilus* met 12h à atteindre. Les deux souches combinées sont moins efficaces que les souches seules.

2.4. On peut envisager d'ensemencer des aliments contaminés en aflatoxine (ex : céréale) par une souche de bactérie lactique.

PREMIÈRE PARTIE : SCIENCES DES ALIMENTS (50 POINTS)**1. CAFÉ BOISSON (10 points)**

- 1.1. Dépulpage : élimination de la chaire qui enveloppe le noyau
Démucilage : élimination de la couche qui entoure le noyau
Déparchage : élimination de l'enveloppe (parche) qui entoure chaque grain, libération des grains contenus dans une coque (parche).
- 1.2. Pectinase, cellulase, polysaccharidase
- 1.3. Fermentation : action sans intervention mécanique donnant un résultat plus homogène et plus aromatique mais risque de poursuite de la fermentation avec apparition de métabolites indésirables.
- 1.4. Torréfaction : Chauffage plus ou moins long à température élevée qui vise à développer des notes aromatiques. Perte de masse, coloration de vert à brun, apparition de substances aromatiques, friabilité, augmentation de volume,

2. MINI-CANNELÉ (19 points)

- 2.1. Principales protéines :
Blanc : ovalbumine, conalbumine, ovomucoïde, ...
Jaune : ovovitélines, ovovitellines, phosvitine, ...
- 2.2. Blanc/solution : présence très majoritaire de protéines globulaires solubles
Jaune/émulsion : richesse en lipides ; suspension de particules lipoprotéiques en phase aqueuse.
- 2.3. Propriétés technologiques :
Blanc : propriétés moussantes (foisonnantes) et coagulantes (liantes) ...
Jaune : propriétés émulsifiantes, coagulantes (liantes), colorante, aromatisante ...
- 2.4. Rôle du sucre :
Moelleux au cœur : rétention d'eau, augmentation de la viscosité
Croustillant en périphérie : caramélisation
- 2.5. Cuisson :
Formation rapide d'une enveloppe imperméable par caramélisation et coagulation puis cuisson lente afin d'éviter le dessèchement intérieur.
Phénomènes biochimiques de la caramélisation du sucre (vitrification), gélatinisation de l'amidon (passage de la forme cristalline à la forme amorphe) et coagulation des protéines d'œuf.
- 2.6. Perte de croustillant :
Hydratation par l'air de la couche cristallisée et migration d'eau de l'intérieur du gâteau vers l'extérieur.

3. VERRINE DE MOUSSE AU CHOCOLAT (9 points)

- 3.1. - Alginate et carraghénanes : polysaccharides gélifiants provenant d'algues.
- Gélatine de porc : protéine gélifiante provenant de tissus animaux (peau, cartilage, os de porcs)
- Amidon modifié : épaississant provenant en général du maïs.
- les émulsifiants sont aussi des stabilisants : lécithine de soja issue du soja et esters lactiques de mono et diglycérides obtenus par estérification de l'acide lactique sur des matières grasses souvent végétales.
- 3.2. Amidon modifié par substitution (groupements hydroxyle remplacés par acétyle) ou par réticulation ou par hydrolyse de ramification ou par prégélatinisation, ...
Utilisé ici parce que plus stable (pas de rétrogradation), prise rapide du gel à froid, ...
- 3.3. Beurre de cacao : matière grasse issue de la pression de la pâte de cacao obtenue par broyage des grains torréfiés.
Diagramme :
 - Torréfaction
 - Concassage
 - Broyage
 - Pressage ou extraction

4. BOULE DE SORBET AU CITRON (12 points)

4.1. Diagramme :

- Fabrication du mix, pasteurisation, maturation, foisonnement, surgélation
- Pasteurisation : élimination des microorganismes pathogènes et réduction de la flore totale afin d'assainir le sorbet et contribuer à sa stabilisation microbiologique et enzymatique.
- Foisonnement : introduction d'air afin d'obtenir la structure de mousse.
- Surgélation : obtention de la structure finale et conservation par abaissement de l'activité water.

4.2. Foisonnement : injection d'air afin d'obtenir une mousse qui est une dispersion d'air dans un liquide visqueux. Détermine directement la masse volumique du produit.

4.3. Dans le but de stabiliser la structure aérée du sorbet pour limiter son affaissement au cours de la conservation, diminuer la quantité d'eau libre congelable pour obtenir une texture moelleuse sur le produit fini et limiter la migration d'eau en surface.

- ### 4.4.
- Physiques : taux de foisonnement, vitesse et qualité de fonte, point de congélation, ...
 - Chimiques : extrait sec, matière grasse, sucres, ...
 - Microbiologiques : flore mésophile aérobie revivifiable, entérobactéries, levures/moisissures...

DEUXIÈME PARTIE : GÉNIE INDUSTRIEL (50 POINTS)

1. CRISTALLISATION (10 points)

1.1. Saccharose et triglycérides

1.2. - Grainage = ajout de cristaux préformés puis croissance de ces cristaux en maintenant la sursaturation par évaporation.

- Tempérage = contact avec surface froide avec retour dans la masse par agitation puis élévation de température pour ne garder que les cristaux les plus stables

1.3. - Congélation : diminution aw puisque eau congelée sort de phase liquide, donc meilleure conservation.

- Lyophilisation : élimination de l'eau sans altération du produit directement par sublimation des cristaux de glace, donc excellente conservation.

2. ÉVAPORATION (15 points)

2.1. Modélisation d'une évaporation à double effet

2.1.1. Titre : principe d'un évaporateur double effet

1 : Entrée produit évaporateur 1^{er} effet

2 : Entrée produit évaporateur 2^{ème} effet

3 : Sortie produit partiellement concentré de l'évaporateur 1^{er} effet

4 : Sortie produit concentré de l'évaporateur 2^{ème} effet

A : Entrée vapeur primaire

B : Sortie vapeur secondaire de l'évaporateur 1^{er} effet

C : Sortie vapeur secondaire de l'évaporateur 2^{ème} effet

Sens de circulation du produit : 1 3 2 4

Sens de circulation du flux de vapeur : ABC

Chaque flux réinjecté à l'effet suivant : produit sortant effet 1 = produit entrant effet 2, vapeur extraite effet 1 = vapeur travail effet 2

Le produit concentré lors de la première évaporation est réinjecté dans l'évaporateur 2 pour être encore plus concentré.

Le premier évaporateur est alimenté en vapeur primaire, la vapeur retirée au produit (vapeur secondaire) est utilisée comme vapeur primaire pour le second évaporateur.

2.1.2. Débit vapeur primaire = Débit condensat vapeur primaire.

Débit produit entrant = Débit produit sortant + Débit vapeur secondaire.

Débit produit entrant x teneur MS entrant = Débit produit sortant x teneur MS sortant.

2.2. Considérations pratiques concernant l'installation multiple à effet

2.2.1. Coût investissement augmente avec nombre d'effets car achat de couteuse surface d'échange de chaleur latente d'évaporation.

Coût fonctionnement diminue quand nombre d'effets augmente (car dépense énergie environ $2300\text{kJ} \cdot (\text{kg eau})^{-1} / n$ pour n effets).

2.2.2. La température du premier effet doit être supportée par le produit à traiter sans risque altération.

La température du dernier effet est limitée par la viscosité du concentré qui augmente avec les effets, généralement cette température est $\geq 40^\circ\text{C}$.

2.2.3. La pression diminue progressivement lors effets successifs grâce à la pompe à vide placée après le dernier effet.

3. EXTRACTIONS RÉALISÉES SUR LE CAFÉ (15 points)

3.1. Décaféination du café par le dioxyde de carbone supercritique (CO₂ supercritique)

3.1.1. Il s'évapore entièrement lors du recyclage donc ne laisse aucun résidu dans l'extrait, absence de toxicité (industriel).

Il bénéficie d'une image « naturelle » et « sympathique » cf bulles champagne, contrairement aux solvants « chimiques » (consommateur).

3.1.2. 1 : Liquide (haute pression)

2 : Supercritique (haute pression)

3 : Gaz (basse pression)

4 : Liquide (basse pression)

De 1 à 2 : Chauffage

De 2 à 3 : Extracteur

De 3 à 4 : Condenseur

De 4 à 1 : Compresseur

3.2. Extraction du café par l'eau chaude

3.2.1. Contre-courant et co-courant

- Avantage du contre-courant : maintient un écart de concentration entre café et solvant suffisant pour que l'extraction soit efficace
- Inconvénient du co-courant : gradient de concentration faible donc difficultés d'extraction en fin d'opération.

3.2.2. A = alimentation en marc de café
D = bande supérieure

B = sortie du liquide extrait
C = bande inférieure,
E = sortie du marc de café déshydraté.

3.2.3. Le marc est réparti entre une bande de toile inférieure et une bande de toile supérieure. La pression augmente lors du passage entre les rouleaux successifs, ce qui permet d'extraire plus de jus (rendement plus important). Les résidus de marc de café déshydraté sont éliminés en E.

4. FILTRATION FRONTALE (10 points)

4.1. Domaine proche de celui du séparateur centrifuge et/ou centrifugeuse à assiettes, mais au-dessus des techniques membranaires (microfiltration).

Utile pour des suspensions assez chargées (1 à 20 %) en particules de taille conséquente (10 à 1000 μm).

4.2. Au démarrage, le débit est maintenu constant et la perte de charge augmente de façon linéaire jusqu'à une valeur maximale, du fait de l'augmentation de la résistance.

Puis la perte de charge est maintenue à sa valeur maximale et le débit ne peut que diminuer.

4.3. - Filtration « dans la masse » lorsque les particules sont retenues en surface et/ou dans l'épaisseur du matériau poreux. Filtration utilisée pour des suspensions peu chargées car sinon cela colmaterait rapidement.

- Filtration « sur gâteau » un adjuvant de filtration peut être utilisé pour former un dépôt préalable et/ou ajouté à la suspension à traiter. Les particules sont retenues par ce gâteau qui augmente d'épaisseur pendant la filtration et ainsi ne colmate pas (préservation de la porosité du gâteau).

1. QUALITÉ DE LA MATIÈRE PREMIÈRE (20 points)

1.1. Contrôle des poissons fraîchement pêchés

1.1.1. Les documents qualité sont généralement organisés en 4 niveaux souvent représentés sous forme de pyramide où chaque strate matérialise un niveau : le manuel (d'assurance) qualité ; les procédures organisationnelles ; les documents opérationnels ; rapports et enregistrements. D'autres représentations existent : documents directeurs (MAQ et procédures organisationnelles), documents techniques (opérationnels) ; enregistrements – voire Cf ISO 9001-2015 : Spécifications ; enregistrements.

- La fiche de contrôle à réception appartient au niveau le plus bas : rapports et enregistrements.
- Les enregistrements apportent la preuve tangible de l'accomplissement d'une action, et la trace des résultats associés.

1.1.2.

« Les Mareyeurs » Adresse : Contact :		Enregistrement Fiche de contrôle à réception des poissons frais		Référence : E.001 Version 1.0 Date de création pagination	
Rédaction Nom, visa		Vérification Nom, visa		Approbation Nom, visa	
Identification du contrôle					
Lieu :		Date :		Heure :	
N° lot :		Lieu de pêche : Date de pêche :		Espèce :	
Points à contrôler		Consignes/Observations			
Espèce :					
Critères organoleptiques (taille, odeur, texture, aspect, etc.) :					
Décision :					
ACCEPTATION <input type="checkbox"/> LIEU DE STOCKAGE : REFUS <input type="checkbox"/> CAUSE : DEVENIR :				Visa du contrôleur :	

Note : la température du poisson est par essence celle de la mer au moment de la pêche ; il ne fait pas de sens de contrôler celle du poisson ; en revanche on pouvait ajouter un contrôle de la température de la salle.

1.1.3. Il n'y a que de la traçabilité interne puisque l'entreprise assure les activités de pêche et de transformation. Éléments de traçabilité du lot : Lieu de pêche, Date de pêche, N° lot, Espèce, Quantité (éventuellement), lieu de stockage.

1.1.4. Fiche de non-conformité. Procédure associée : traitement (et devenir) des non-conformes. *D'autres réponses censées du type « fiche de NC + fiche d'AC » ont aussi été acceptées.*

1.2. Contrôles sur les lots de poissons acceptés

Cf. Document du codex §8.1.1

- Flore totale : le respect des critères microbiologiques permet d'empêcher le traitement de matières premières contenant des toxines microbiennes (Cf texte du codex) ou pouvant être altérées ou ayant un risque augmenté de contenir des germes pathogènes (culture personnelle).

- L'histamine est à l'origine de toxi-infections alimentaires (dit tel quel dans le document du codex).

2. ÉTUDE HACCP DU PROCÉDÉ DE FABRICATION DU KAMABOKO (17 points)

2.1. Étude préliminaire

2.1.1. - HACCP : *Hazard Analysis, Critical Control Point* qui signifie en français : Analyse des Dangers - Points Critiques pour leur Maîtrise. Méthode permettant d'assurer la sécurité biologique, chimique, physique (allergènes) des denrées alimentaires.

- CCP : *Critical Control Point* ou Étape à laquelle une (des) mesure(s) de maîtrise peut être exercée pour prévenir ou éliminer un danger menaçant la sécurité des aliments ou le ramener à un niveau acceptable.

- PRPo : Programme Prérequis opérationnel : PRP identifiés par l'analyse des dangers comme essentiels pour maîtriser la probabilité d'introduction de dangers liés à la sécurité des denrées alimentaires et / ou de la contamination ou prolifération des dangers dans les produits ou dans l'environnement de transformation, en particulier lorsqu'aucun CCP n'est possible.

2.1.2. - Différence importante : les CCP présentent une limite critique ; les PRPo ne présentent pas de limite critique. Aussi accepté : les CCP correspondent à une étape de transformation du produit, les PRPo à une disposition générale dans la production.

- Différence secondaire, présente dans l'ISO 22.000 mais pas dans le codex ni dans le document en annexe 4 (donc non exigible) : les CCP peuvent et doivent être surveillés en continu, les PRPo ne le peuvent pas en général.

2.2. Étude du risque métal

Deux approches possibles dans la réponse.

- Approche « sécurité » qui suit le diagramme en annexe 2 : des machines ou tables métalliques sont utilisées à tous les stades et présentent donc un risque métal. → Dans ce cas le détecteur doit être placé en fin de chaîne, après l'emballage (12) pour l'activité sur le bateau, et après l'emballage (24) pour l'activité à terre.

- Approche « économique » qui respecte l'énoncé (le risque métal est introduit par les étapes de cutterage-mélange, de raffinage, de broyage, de mélange, d'étalement, de mise en forme. → Le 1^{er} détecteur sera placé après l'étape 10 (raffinage) car c'est la dernière activité source potentielle de fragments métalliques pour la fabrication de « surimi-base ». Le second sera placé après l'étape 21 (mise en forme et découpe) pour la même raison. De cette manière on évite également de perdre de l'argent en continuant à travailler une matière non-conforme pour les métaux.

2.3. Autres risques

2.3.1.

Étapes	Danger	Risque*	Mesures préventives*	Limites critiques	Mesures de surveillance
5* Éviscération	Microbiologique	Contamination (mauvaise éviscération, ou éviscération trop lente)	Respect BP/H Sans délai Basse T°	Aucune	Encadrement Contrôle par les pairs
22 Pasteurisation	Microbiologique	Prolifération Flore trop élevée si pasteurisation insuffisante	Respect du barème durée/T°	15 min à 80 °C	Sonde + enregistrement (durée et T°C)

* Note : l'étape 5 peut être traitée de plusieurs manières (5.a, 5.b, 5.c) : différents choix sont possibles mais l'ensemble doivent être cohérent.

- PRPo (BP, et pas de CCP à bord du bateau) : 5.a : éviscération pour préparer et parer le poisson, pouvant augmenter le danger microbiologique si mal réalisée ou bien 5.b : éviscération rapide pour éviter le risque de migration microbienne ou parasitologique depuis les intestins

- BP/PRP (car risque réintroduit ensuite et CCP final via la pasteurisation du kamakobo), Cf. 5.c : pasteurisation (CCP) ultérieure du produit (en 22) donc l'étape 5 n'est ni CCP ni PRPo puisque le danger est maîtrisé ultérieurement.

2.3.2. Selon les choix faits en 2.3.1 – voir note

Étapes	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	CCP, PRPo, BPH ?
5.a	O	N	O	N	X	N	PRPo
5.b	O	O	X	X	N	X	
5.c	O	N	O	O	X	X	BP (ni CCP ni PRPo)
22	O	O	NP	NP	O	NP	CCP

3. QUALITÉ DU « SURIMI-BASE » (29 points)

3.1. Étude des non-conformités

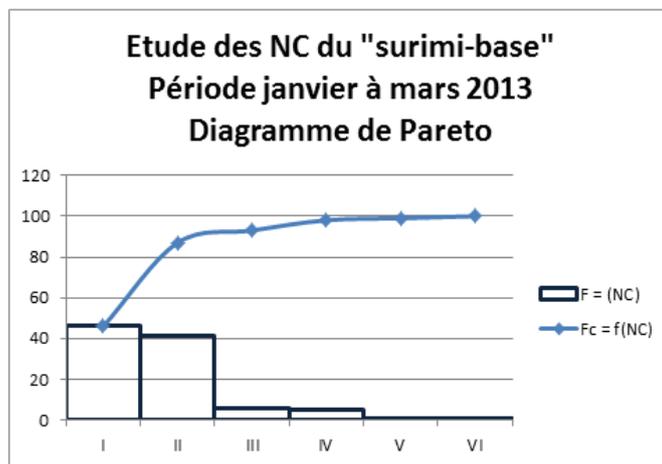
3.1.1. Diagramme de Pareto : très souvent, une minorité des causes est responsable d'une majorité des effets (par exemple 80 % des difficultés sont imputables à 20 % des causes possibles). Ce diagramme permet d'identifier graphiquement les causes responsables de 80 % des difficultés afin d'agir prioritairement sur elles. Il ne faut cependant pas oublier de traiter les causes des non-conformités critiques.

3.1.2. Note : d'autres regroupements judicieux peuvent être acceptés. Par exemple : (Mauvais pouvoir gélifiant + Teneur en eau excessive + Présence de petites arêtes + Mauvaise odeur) = caractéristiques organoleptiques.

Tableau avec regroupements :

Nature		Fréquence (%)	
Couleur non satisfaisante		5	5
Texture / composition	Mauvais pouvoir gélifiant	14	41
	Teneur en eau excessive	24	
	Présence de petites arêtes	3	
Présence de <i>Listeria monocytogenes</i>		1	1
Étiquetage	Étiquette collée de travers	2	6
	Erreur d'étiquetage	4	
Conditionnement	Emballage froissé	3	46
	Poids inférieur à la valeur nominale après décongélation	43	
Mauvaise odeur		1	1

	Nature	Fréquence (%)	Fréquence cumulée (%)
I	Conditionnement	46	46
II	Texture	41	87
III	Étiquetage	6	93
IV	Couleur non satisfaisante	5	98
V	Présence de <i>Listeria monocytogenes</i>	1	99
VI	Mauvaise odeur	1	100



3.1.3. - Il faut trouver une solution aux problèmes de conditionnement et de texture en priorité. Ces deux causes règlent 87 % des non-conformités.

- Cependant, la présence de *Listeria monocytogenes* doit être réglée de toute urgence : non-conformité critique qui met en danger la sécurité du consommateur

Notes : selon l'argumentation, on pouvait aussi accepter aussi comme critiques...

- la présence des petites arêtes, si on considère qu'il y a risque sur la santé du consommateur

- les problèmes d'étiquette non lisible, si on considère qu'ils sont une infraction à la réglementation.

La justification et donc importante !

3.2. Réalisation d'un audit

3.2.1. Il s'agit d'un audit interne, car réalisé par le RQ de l'entreprise.

3.2.2. Document écrit listant des exigences (généralement établi au sein d'une entreprise, ou entre un fournisseur et un client).

3.2.3. - 1. (Décision de) déclenchement de l'audit

- 2. Préparation de l'audit : définition de l'objet et du champ de l'audit, composition de l'équipe d'audit, construction de la documentation et de la grille, notification et planning, visite préalable si nécessaire

- 3. Déroulement/exécution de l'audit : Réunion d'ouverture, enquête, synthèse et restitution succincte

- 4. Conclusion de l'audit : formalisation et rédaction du rapport d'audit, demandes d'actions correctives éventuelles et suivi subséquent

- 5. Clôture de l'audit

3.3. Coût de la qualité

3.3.1. COQ = CIQ (investissement) + CNQ (non qualité)

CIQ = coût de contrôles/détection CD + coût de prévention CP

CNQ = coût de défaillance internes CDI + coût de défaillance externes CDE

CP : Investissements de toute natures engagés pour étudier, prévenir et réduire les anomalies, défauts, défaillances, dysfonctionnements ; c'est-à-dire pour obtenir la qualité. Ces coûts interviennent avant même que la production ait commencé : coûts amont.

CD : Dépenses engagées pour vérifier la conformité des produits aux exigences de la qualité.

CDI : Ils résultent des dysfonctionnements internes à l'entreprise ou en amont du processus global de l'entreprise et ne touchant pas directement les clients à qui sont destinés les produits.

CDE : Ce sont les coûts de défaillance qui interviennent après l'expédition à l'acheteur ou au consommateur.

3.3.2. Formation du personnel : CP

- Achat d'un thermomètre enregistreur : CD

- Achat d'installations appropriées et convenables pour l'entreposage et la fabrication de glace : CP

3.3.3. La formation (prévention) devrait diminuer les NC internes et/ou externes. Les contrôles devraient transformer des défaillances externes (onéreuses) en défaillances internes (moins onéreuses). Le COQ devrait diminuer globalement.

3.4. Métrologie

3.4.1. On peut comparer, à différents moments et/ou différentes températures, la valeur affichée par ce thermomètre avec la valeur affichée par un autre thermomètre.

3.4.2. La fiche de vie est l'enregistrement qui rassemble toutes les informations liées aux grandes étapes de la vie d'un appareil : mise en service, maintenances, pannes et réparations, et pour les appareils de mesure étalonnages et contrôles.

4. CONTRÔLE DU PRODUIT FINI (14 points)

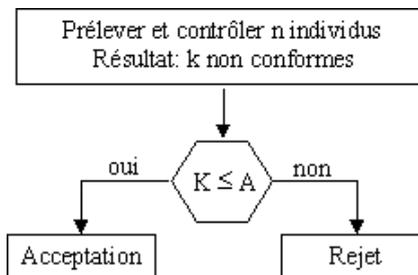
4.1. Plan d'échantillonnage simple :

Soit k le nombre d'individus (de produits) NC dans l'échantillon n

Soit A (ou C_a) le critère d'acceptation du lot et R le critère de rejet. $R = A + 1$.

Règle de décision :

- si $k \leq A$, le lot est accepté,
- si $k > A$, le lot est refusé.



$A =$ critère d'acceptation
 $R = A + 1 =$ critère de rejet

4.2. Carte de contrôle à la moyenne :

μ : moyenne ou valeur cible

LCI ou LIC pour limite de contrôle inférieure

LCS ou LSC pour limite de contrôle supérieure

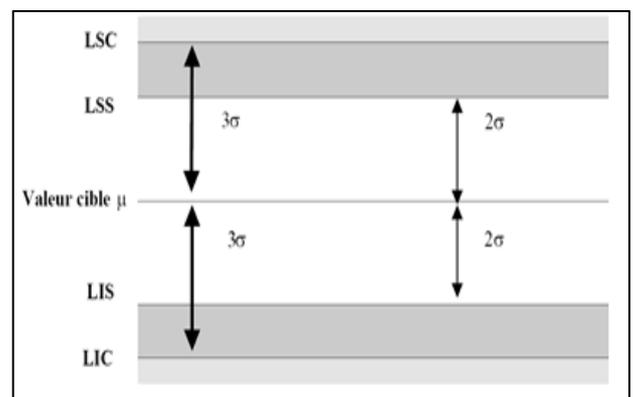
LCI et LCS sont situées à $\pm 3\sigma_{\text{échantillon}}$ de la ligne centrale

LSI ou LIS pour limite de surveillance inférieure

LSS pour limite de surveillance supérieure

LSI et LSS sont situées à $\pm 2\sigma_{\text{échantillon}}$ de la ligne centrale

Note : on peut accepter qu'il n'y ait que deux limites de tolérance (LTI et LTS) ; les écarts à ± 2 et 3σ correspondent au cas général mais ne sont pas obligatoires.



4.3. Pour $n = 8$ et $\delta = 1,25\sigma$, $p = 30\%$. Cela signifie que la probabilité d'accepter le lot alors qu'il y a un dérèglement de $1,25\sigma$ est de 30% - on a donc 70% de chances de rejeter ce lot. 30% peut sembler élevé car $1,25\sigma$ reste dans les limites de surveillance si on a retenu 2σ pour les définir, Cf. question 4.2.

4.4. Pour $p \leq 10\%$ il faut $n \geq 12$. On augmente la taille de l'échantillon donc on augmente le coût de détection.

4.5. En augmentant la taille de l'échantillon, la probabilité d'acceptation est plus faible (courbe plus basse) : en effet, un échantillon plus grand est plus exhaustif (on se rapproche du contrôle unitaire) et présente donc moins de risque d'acceptation des lots dérèglés (Cf. dérèglement de $1,25\sigma$ ici). Cela dit $1,25\sigma$ reste dans les limites de surveillance donc abaisser son acceptabilité peut sembler contre-productif.

Corrigés sujets 2019

E2-U21 Mathématiques

2019

Exercice 1 (10 points)

PARTIE A : Équation différentielle

1. Soit t un réel positif. Cette équation différentielle équivaut à : $y' - (20,8/20)y = 0$
soit $y' - 1,04y = 0$.

Les solutions de cette équation sont donc les fonctions du type $y(t) = ke^{1,04t}$ où k est une constante réelle.

2. Avec la condition $f(0) = 10$, en la remplaçant dans l'équation précédente, on obtient :
 $ke^{1,04 \times 0} = 10$, soit $k = 10$ donc $f(t) = 10e^{1,04t}$.

PARTIE B : Modèle exponentiel

1. Voici le tableau des valeurs :

Heure (t_i)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Quantité de SA (N_i)	10	27	78	232	650	1800	5100	14100	39000
$z_i = \ln(N_i)$	2,30	3,30	4,36	5,45	6,48	7,50	8,54	9,55	10,57

2. À l'aide de la calculatrice, on trouve : $z(t) = 1,037t + 2,301$.
3. Comme $z_i = \ln(N_i)$ alors $N_i = e^{z_i}$ donc $N(t) = e^{1,037t + 2,301}$.
4. On résout l'équation $N(t) = 20$ donc $10e^{1,04t} = 20$
soit $e^{1,04t} = 2 \Rightarrow 1,04t = \ln 2 \Rightarrow t = \frac{\ln 2}{1,04} \approx 0,666$
On obtient environ $G \approx 60 \times 0,666 \approx 40$ minutes.
5. Comme $t \rightarrow +\infty$, alors $1,04t \rightarrow +\infty$, $e^{1,04t} \rightarrow +\infty$ et $10e^{1,04t} \rightarrow +\infty$ donc la limite de N en $+\infty$ est $+\infty$.

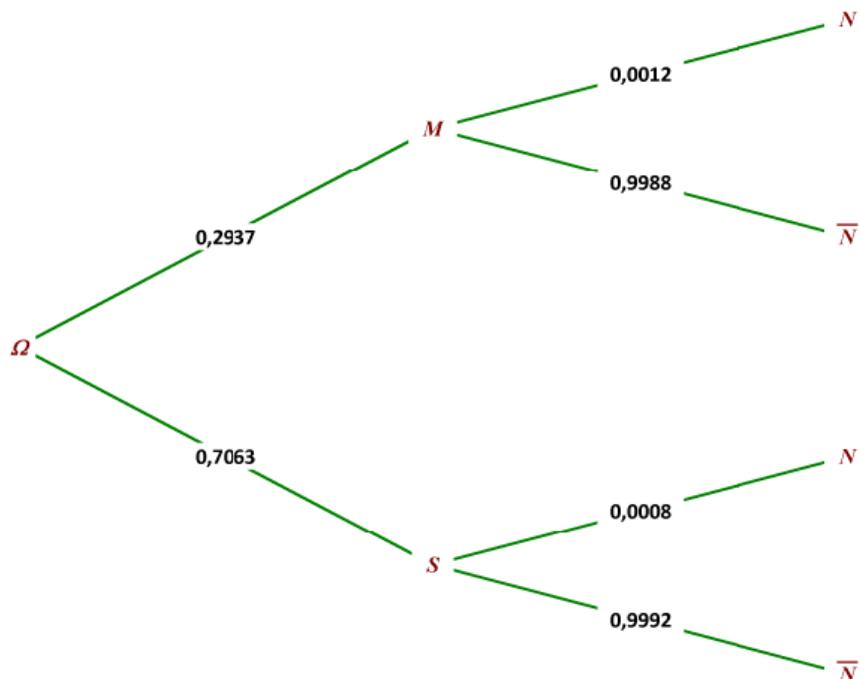
PARTIE C : Modèle logistique

1. Afin de trouver le sens de variation de la fonction M sur $[0 ; +\infty[$, on étudie le signe de sa dérivée M' : le dénominateur est strictement positif du fait que ce soit un carré, et le numérateur est également strictement positif puisque c'est le produit de constantes positives et $e^{1,04t} > 0$.
Ainsi $M'(t) > 0$ donc la fonction **M est strictement croissante sur $[0; +\infty[$.**
2. a. Quand t tend vers $+\infty$, alors : $-1,04t \rightarrow -\infty$, $e^{-1,04t} \rightarrow 0$ donc $1350 e^{-1,04t} + 1 \rightarrow 1$.
Ainsi la limite de M en $+\infty$ est **13500**.
b. Dans la réalité, le nombre de bactéries ne peut pas augmenter de manière illimitée. **C'est le modèle logistique de la fonction M qui semble le plus vraisemblable** comparé au modèle exponentiel où la fonction a pour limite $+\infty$ quand t tend vers $+\infty$.
3. Par lecture graphique, on voit que cela correspond à **8 heures**.
4. La **réponse b.** est la réponse correcte. En effet, c'est à **7 heures** que la courbe de la fonction M admet la tangente la plus pentue, c'est à dire avec le coefficient directeur le plus élevé.

Exercice 2 (10 points)

PARTIE A : Eau de source et eau minérale naturelle

- $p(M) = 37000/126000$ soit environ **0,2937** et $p(S) = 89000/126000$ soit environ **0,7063**.
- En utilisant un arbre pondéré :



- À l'aide de la formule des probabilités totales, on obtient :
 $p(N) = p(M) \times p_M(N) + p(S) \times p_S(N) = 0,2937 \times 0,0012 + 0,7063 \times 0,0008 \approx \mathbf{0,0009}$.
- $p_N(M) = \frac{p(M \cap N)}{p(N)} = \frac{0,2937 \times 0,0012}{0,0009} \approx \mathbf{0,3916}$.

PARTIE B : Étude du nitrate présent dans l'eau

- La moyenne pour cette série donne $\bar{x} \approx \mathbf{4,5213}$ et l'écart-type $s' \approx \mathbf{0,0975}$.
- La valeur estimée de σ est égale à $s = s' \sqrt{\frac{600}{599}} \approx \mathbf{0,0976}$.
- Le graphique choisi est celui qui a son pic dont l'abscisse est située à 4,5, ce qui correspond à la moyenne (n°1 et n°2). De plus, l'écart-type étant de 0,004, on sait que 99% des valeurs se situent dans l'intervalle $[\mu - 3\sigma ; \mu + 3\sigma] \approx [4,512 ; 4,488]$. On en déduit qu'il s'agit de la **courbe n°2**.
 - Pour que cette probabilité soit environ égale à 0,95, ce nombre « a » doit être égal à $2 \times \sigma$, donc à **0,008**.
 - Si le taux moyen de nitrate de l'échantillon appartient à l'intervalle $[4,5 - 0,008 ; 4,5 + 0,008]$ soit $[4,492 ; 4,508]$ alors on accepte l'hypothèse H_0 sinon on accepte H_1 .
 - $\bar{x} \approx 4,5213$ donc l'**hypothèse que le taux moyen de nitrate de la production soit égal à 4,5 est rejetée au risque de se tromper de 5%**.

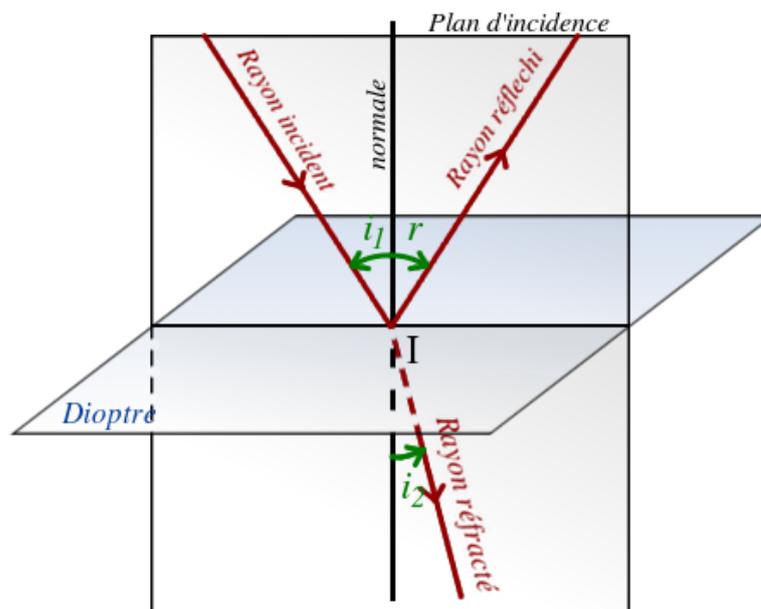
PARTIE C : Distribution

- Le biologiste semble avoir tort car pour considérer la probabilité qu'un lot de 540 bouteilles prélevées au hasard contienne moins de 520 bouteilles de très bonne qualité, il faut additionner les probabilités liées à 0, 1, ..., 518, 519 bouteilles de très bonne qualité. **Graphiquement, on constate qu'en additionnant, on dépasse les 0,005.**
- n=540** car on peut obtenir au maximum 540 bouteilles de très bonne qualité.
De plus, on sait que l'espérance de Y correspond au nombre moyen de bouteilles de très bonne qualité car on considère que la production est jugée suffisamment importante.
 $E(Y) = np = 528$ donc $p = 528/540$ soit environ 0,978. Ainsi Y suit la loi binomiale **B(540, 0,978)**.

PARTIE A – LA MATURITÉ DU RAISIN (5 POINTS)

A.1. Un réfractomètre utilise la lumière visible, il s'agit d'ondes électromagnétiques.

A.2.



Lors du passage d'un milieu transparent à un autre, la lumière subit une déviation.

A.3. 21°B signifie que dans 100 g de solution, il y a 21 g de sucre. Si on considère que la densité de la solution est voisine de 1, alors 100 g de solution correspond à 100 mL soit 0,100 L

$$t_m = \frac{21}{0,100} = 210g \cdot L^{-1}$$

A.4. $n_i \times \sin i = n_r \times \sin r \Leftrightarrow n_r = \frac{n_i \times \sin i}{\sin r} = \frac{1 \times \sin 30}{\sin 22} = 1,33$

A.5. La précision est insuffisante, on ne peut donc pas conclure.

A.6. On peut calculer la masse volumique du jus de raisin :

$$\rho = \frac{m}{V} = \frac{54,42}{50,00} = 1,088g \cdot mL^{-1}$$

On peut maintenant calculer la densité :

$$d = \frac{\rho_{produit}}{\rho_{eau}} = \frac{1,088}{1,000} = 1,088$$

A.7. D'après le tableau, une telle densité indique que le degré Brix est de **21,6°B**. Les vendanges peuvent donc commencer.

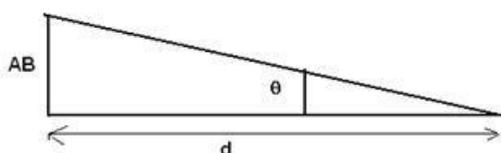
PARTIE B – LA FERMENTATION (8 POINTS)

B.1. Information portée par l'oculaire : x 10 – Grossissement de l'oculaire.

Information portée par l'objectif : x 40 – Grandissement de l'objectif.

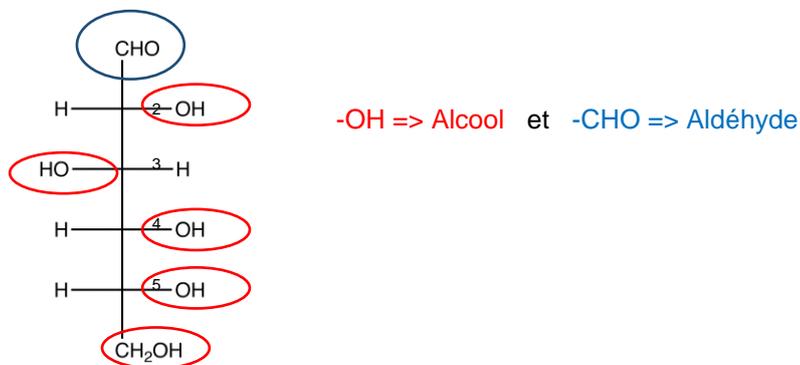
B.2. $G_c = |\gamma_1| \times G_{c2} = 40 \times 10 = 400$

B.3.a. $\tan \theta = \theta = \frac{AB}{d} = \frac{5 \cdot 10^{-6}}{0,25} = 2 \cdot 10^{-5} rad$



B.3.b. Comme l'angle est inférieur au diamètre apparent de $3 \cdot 10^{-4} rad$, on ne peut pas distinguer la cellule de levure à l'œil nu.

B.4.



B.5. Les carbones 2, 3, 4 et 5 sont des carbones asymétriques.

B.6. Carbone n°2 : OH > CHO > C3 > H Il ne faut pas oublier qu'en représentation de Fischer le H, situé sur une liaison horizontale pointe vers l'avant, il faut donc inverser par rapport au sens de rotation observé. Configuration R.

B.7. La molécule comporte un groupe alcool et 2 atomes de carbone, il s'agit de l'Ethanol.

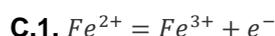
B.8. La molécule comportant un OH, le spectre doit avoir une forte bande d'absorption entre 3200 et 3650 cm^{-1} . Seul le spectre A correspond.

Possibilité de justifier avec la liaison C=O.

B.9. Pour la molécule d'éthanol, 3 groupes de protons équivalents donc il y aura 3 signaux.

H de CH_3 : 2 voisins donc un triplet.

PARTIE C – LE FER DANS LE CHAMPAGNE (7 POINTS)



C.3. $n_{\text{SCN}^-} = C \times V = 1,0 \times 1.10^{-3} = 1.10^{-3} \text{ mol}$

$$n_{\text{Fe}} = \frac{C_m \times V}{M} = \frac{2,0 \cdot 10^{-3} \times 10,0 \cdot 10^{-3}}{55,8} = 3,58 \cdot 10^{-7} \text{ mol}$$

Les ions thiocyanate sont bien en excès.

C.4. $K_f = \frac{1}{K_D} = \frac{1}{10^{-2,1}} = 10^{2,1} = 126$

La réaction est limitée et n'est pas totale.

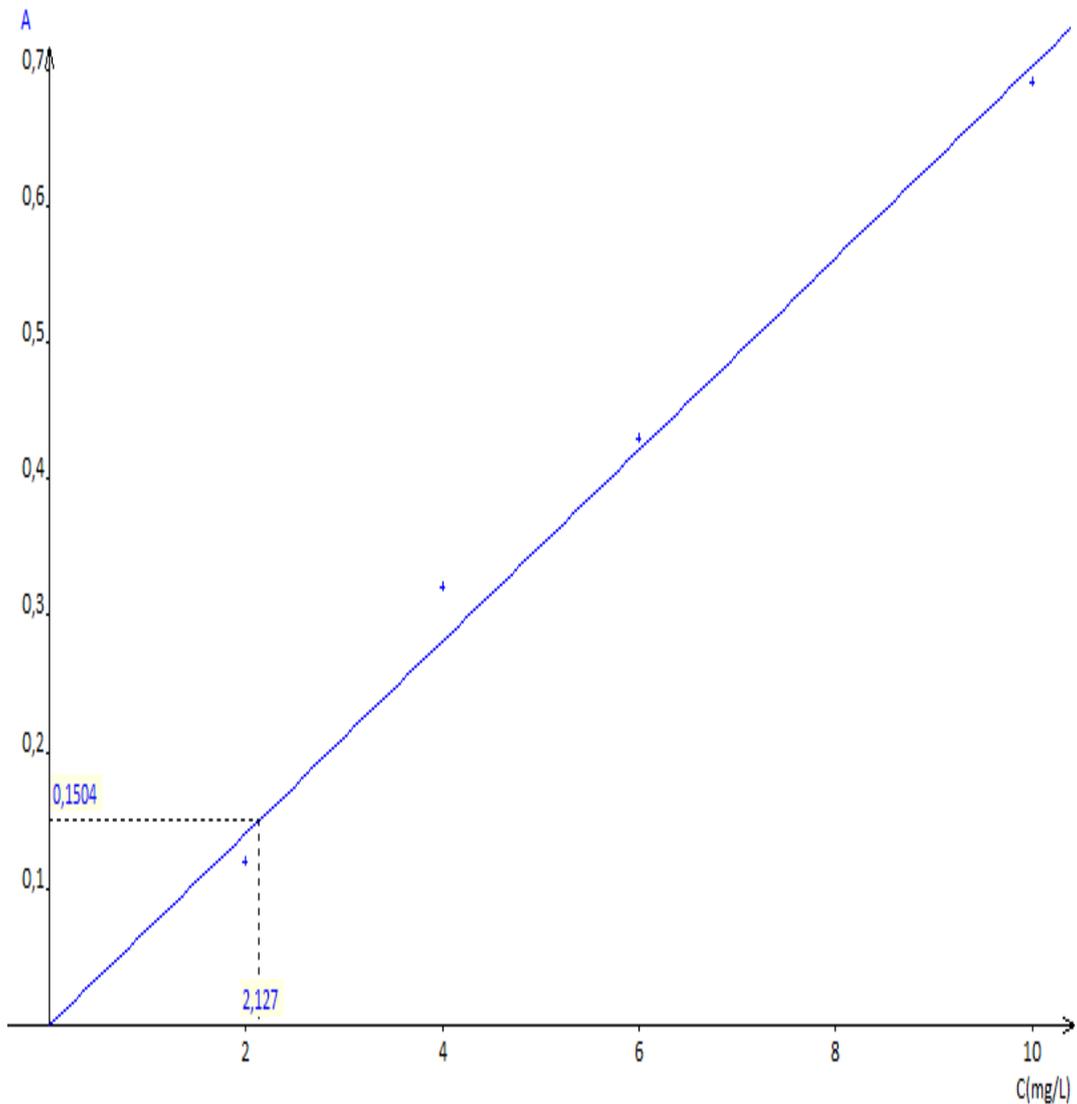
En mettant les ions SCN^- en excès, l'équilibre est déplacé afin que tous les ions fer III réagissent.

C.5. $C_m \times V_m = C_f \times V_f \Leftrightarrow V_m = \frac{C_f \times V_f}{C_m} = \frac{10 \times 50}{25} = 20 \text{ mL}$

Prélever, à l'aide d'une pipette jaugée, 20 mL de la solution mère et les introduire dans une fiole jaugée de 50 mL. Compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Mélanger pour homogénéiser.

C.6. En réalisant le blanc avec une solution de vin, on va éliminer les erreurs liées à la couleur du vin.

C.7. Voir courbe A = f(C)



C.8. La courbe étant une droite, la loi mise en évidence est la loi de Beer-Lambert. $A = \varepsilon \times l \times C$

Avec A l'absorbance sans unité ;

l la largeur de la cuve en cm

C la concentration de la solution en $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

ε le coefficient d'absorption molaire en $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$

C.9. Voir courbe, le champagne dosé a une teneur en fer comprise entre 2 et 3 mg/L (valeurs acceptées).

C.10. Le viticulteur n'a pas à craindre pour son champagne car $C < 10 \text{ mg/L}$.

C.11. Erreur du spectrophotomètre

Imprécision sur la régression linéaire

Lors des manipulations, pipette, fiole, ...

PARTIE 1 : ÉTUDE DE LA FERMENTATION DES GRAINES (41 POINTS)

1. FERMENTATION DE LA PULPE

1.1. Fermentation par les levures

- 1.1.1. Annotations : - paroi
- membrane plasmique
- noyau (membrane nucléaire + ADN)
- vacuole
- cytoplasme
- mitochondrie

Eucaryote : Présence d'un vrai noyau (enveloppe nucléaire) et d'organites

1.1.2. Condition favorisant la fermentation : anaérobiose ; Substrat indispensable : glucose

1.1.3. Fermentation alcoolique

1.1.4.

	Respiration	Fermentation
Devenir du pyruvate	CO ₂ , H ₂ O ou le nom des voies métabolique Cycle de Krebs	Éthanol et CO ₂
Atmosphère	Aérobiose	Anaérobiose
Localisation	Mitochondries	Cytoplasme

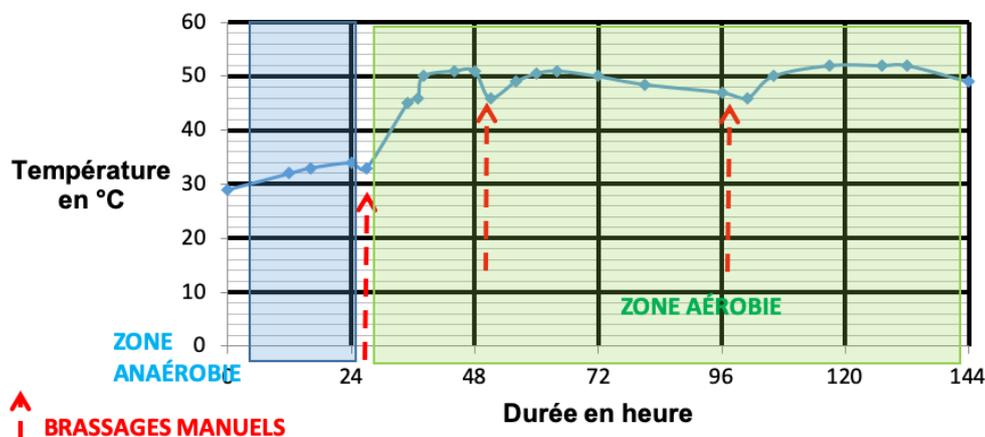
1.1.5. Évolution du pH :

- au départ pH=3 (voir composition en haut du sujet).
- il augmente jusqu'à 4,5 en 144 h : augmentation du pH

Hypothèse : l'acide citrique est consommé pendant la fermentation ou toute autre hypothèse cohérente

1.2. Transformations par les bactéries

1.2.1. Bactéries acétiques : *Acétobacter*, *Gluconobacter*



1.2.2. Brassages manuels (sur le graphe)

À chaque brassage, il y a :

- Diminution de la température, entrée d'air frais (< 50 °C)
- Augmentation de la température : entrée d'O₂, l'oxydation de l'éthanol est très exergonique.

1.2.3. Un petit volume de l'échantillon ou des dilutions décimales réalisées est étalé en surface d'un milieu gélosé (adapté à la culture du germe). Après culture (dans des conditions optimales), les UFC formées sont comptées.

Au bout de 24 h une bactérie déposée donne naissance à une colonie.

$$N = \frac{\text{nombre de colonies}}{\text{volume inoculum} \times \text{dilution de la boîte dénombrée}} = \frac{60}{0,1 \times 0,1 \cdot 10^{-2}}$$

= 6.10⁴ UFC/gramme de fève de cacao (résultat juste et expression en UFC/g).

1.2.4. Qx ou $\mu_{\text{expo}} = \Delta \ln N / \Delta t = 0,50 \text{ h}^{-1}$

G = $\ln 2 / \mu_{\text{expo}} = 1,40 \text{ h}$

1.2.5. Bactéries lactiques : *Lactobacillus*, *Streptococcus*,

Homofermentaire : accumulation d'acide lactique uniquement

Hétérofermentaire ; accumulation d'acide lactique et d'autres produits : éthanol, acide éthanoïque et CO₂

2. CONTAMINATIONS DANS LES COTYLÉDONS

2.1. Contamination d'origine bactérienne

2.1.1. Décarboxylation des acides aminés

2.1.2. Cadavérine, putrescine, histamine,

2.2. Contamination d'origine fongique

2.2.1. Moisissures : règne des mycètes (ou champignons)

Ce sont des organismes eucaryotes qui présentent de longs filaments, fins et ramifiés à structure cellulaire (appelés hyphes qui forment un mycélium), hétérotrophes et chimioorganotrophes.

Se reproduisent à l'aide de spores par reproduction sexuée et ou asexuée (1)

2.2.2. Origine : spores provenant de l'air ou du sol en contact avec le produit

2.2.3. Perte de la qualité marchande : altération du goût et de l'aspect

Risques sur la santé humaine : mycotoxines

PARTIE 2 :

RISQUES TOXICOLOGIQUES DU CACAO (16 POINTS)

1. L'OCHRATOXINE

1.1. Tératogène : capable d'engendrer des malformations sur le fœtus ou l'embryon.

Mutagène : capable d'interagir avec le génome et d'entraîner des modifications génétiques graves.

1.2. Ici l'OTA pénètre dans l'organisme par voie orale puisque elle a la même voie d'entrée que le cacao.

2. ÉTUDE DE LA TOXICITÉ DE L'OCHRATOXINE

2.1. Le schéma doit faire apparaître :

- Une étape de culture cellulaire + OTA
- Une étape d'incubation avec le MTT, durant laquelle il y a une réaction de transformation (réduction) du MTT en formazan, composé coloré
- Une étape de solubilisation du composé coloré
- Une étape de détection au spectrophotomètre (570 nm)

2.2. Plus la concentration en OTA augmente, plus l'absorbance à 570 nm diminue c'est-à-dire que les cellules étudiées sont de moins en moins viables.

L'OTA a donc un effet cytotoxique mis en évidence par ce test.

2.3. L'absorbance maximale reflète 100 % de cellules viables.

Détermination graphique : absorbance maximale à 0,7 environ.

Pour une absorbance de 0,35 on obtient C_{OTA} compris entre 10⁰ et 10¹ pg·mL⁻¹.

Détermination de l'IC₅₀ : on admettra tout résultat entre 1 et 10 pg·mL⁻¹ en OTA.

2.4. La DJT désigne la quantité de substance étudiée qui peut être quotidiennement ingérée par le consommateur, pendant toute la vie, sans effet pour sa santé.

La DJT est calculée à partir de la dose maximale sans effet nocif observable (NOAEL) divisé par un facteur de sécurité ou d'incertitude.

3. DOSAGE DE L'OCHRATOXINE

3.1. L'ochratoxine A est purifiée par une méthode d'immuno-affinité. Il y a formation d'un complexe immun entre des Ac anti_{OTA} et l'ochratoxine, ce qui permet de séparer sélectivement l'OTA des autres composants présents dans le cacao (purification sur colonne, en batch, ...). Schéma possible.

3.2. La limite de conformité est de 1,5 µg d'OTA/kg de chocolat.

Pour un échantillon de 10 g de chocolat, on admet donc 15 ng d'OTA maximum.

L'échantillon testé contient 8 ng d'OTA → conforme.

PARTIE 3 :

ÉTUDE DES CONSTITUANTS DU CHOCOLAT (43 POINTS)

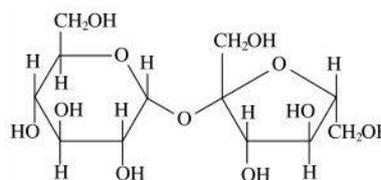
1. LA SAVEUR SUCRÉE DU CHOCOLAT

1.1. Le saccharose

Place dans la classification : diholoside

Formules chimiques : α-D glucopyranosyl - (1-2) β-D fructofuranoside

Liaison osidique



1.2. Le sucre inverti

1.2.1. Définition du sucre inverti : Mélange équimolaire de glucose et de fructose obtenu par hydrolyse du saccharose

Justification du qualificatif : Inversion du pouvoir rotatoire lors de l'hydrolyse du saccharose

Réaction d'hydrolyse :

Nom des produits : α-D glucopyranose et β-D fructofuranose

Nom de l'enzyme Invertase, β fructosidase

1.2.2. Document 1 : La solubilité augmente avec la température. Le saccharose présente une solubilité médiane au glucose et au fructose. La solubilité du sucre inverti est supérieure à celle du saccharose à température modérée (25-30 °C)

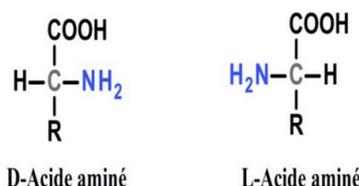
Document 2 : Le saccharose représente la référence. Le pouvoir sucrant du glucose + fructose est supérieur au pouvoir sucrant du saccharose

Les 2 hypothèses : Meilleure solubilité du sucre inverti, donc dissolution plus facile lors de la fabrication du chocolat. Pouvoir sucrant plus élevé donc intérêt économique.

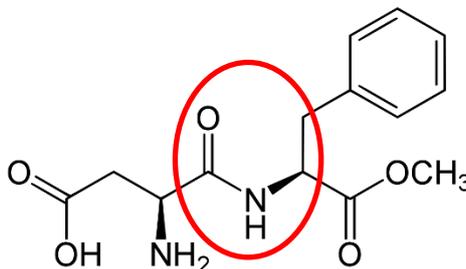
2. LE CHOCOLAT ALLÉGÉ EN SACCHAROSE

2.1. Édulcorant : l'aspartame

2.1.1. Nomenclature L et D Selon Fisher. Basé sur la position du NH₂ de l'AA : à droite, D et à gauche L.



2.1.2. Formule développée de l'aspartame avec localisation de la liaison peptidique



2.2. Dosage de l'aspartame

2.2.1. Identification :

Alpha cétoacide : a et d car présence du groupement CO-COOH

Acides aminés : b et c

Composé d : OAA (oxaloacétate)

Mécanisme réactionnel : transfert direct d'un groupement amine d'un acide aminé 1 à un α -cétoacide 2 pour former un acide aminé 2 et un α -cétoacide 1

Classe enzymatique : 1 : Transférase

2.2.2. La longueur d'onde choisie est 340 nm car la forme réduite NADH,H⁺ absorbe spécifiquement à cette longueur d'onde.

Il y a consommation du NADH,H⁺ et donc une diminution de l'absorbance.

2.2.3. Limite de détection : plus petite quantité donnant un signal significativement différent du bruit de fond (ou du blanc).

Zone de linéarité : zone de concentration dans laquelle la loi de Beer – Lambert est vérifiée.

2.2.4. Concentration massique

$$\rho (\text{aspartame, échantillon}) = \frac{V_{\text{cuve.Maspartame}}}{\epsilon \cdot l \cdot V_{\text{échantillon}}} \cdot \text{facteur dilution} \cdot \Delta A$$

$$\frac{2,44 \times 294,31 \times 5}{6300 \times 1 \times 1 \times 4} = 0,1425$$

$$\rho (\text{aspartame, échantillon}) = 0,1425 \times \Delta A$$

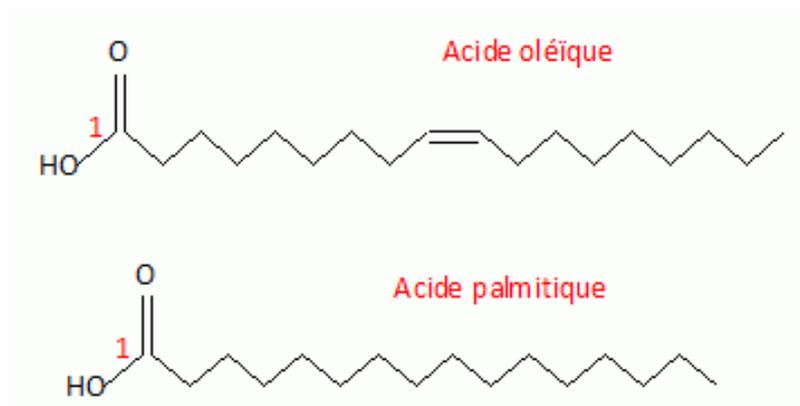
2.2.5. Teneur en aspartame $T = \frac{\Delta A}{1} \times 0,1425 \times 0,1 \times 100 = 0,406 \text{ g}$

2.2.6. Conclusion Calcul de la DJA ($m = 40 \times 55 = 2200 \text{ mg}$)

Le nombre de tablettes est de 5 au moins/jour.

3. LES MATIÈRES GRASSES DU CHOCOLAT

3.1. Formules



3.2. La température de fusion diminue avec l'augmentation du nombre d'insaturations. Le chocolat est riche en acides gras saturés et a donc une température de fusion supérieure à la température ambiante.

3.3. L'hydrogénation des matières grasses végétales provoque la saturation des doubles liaisons.

Le chocolat résiste beaucoup mieux à la chaleur et l'intérêt est aussi économique (diminution coûts de production)

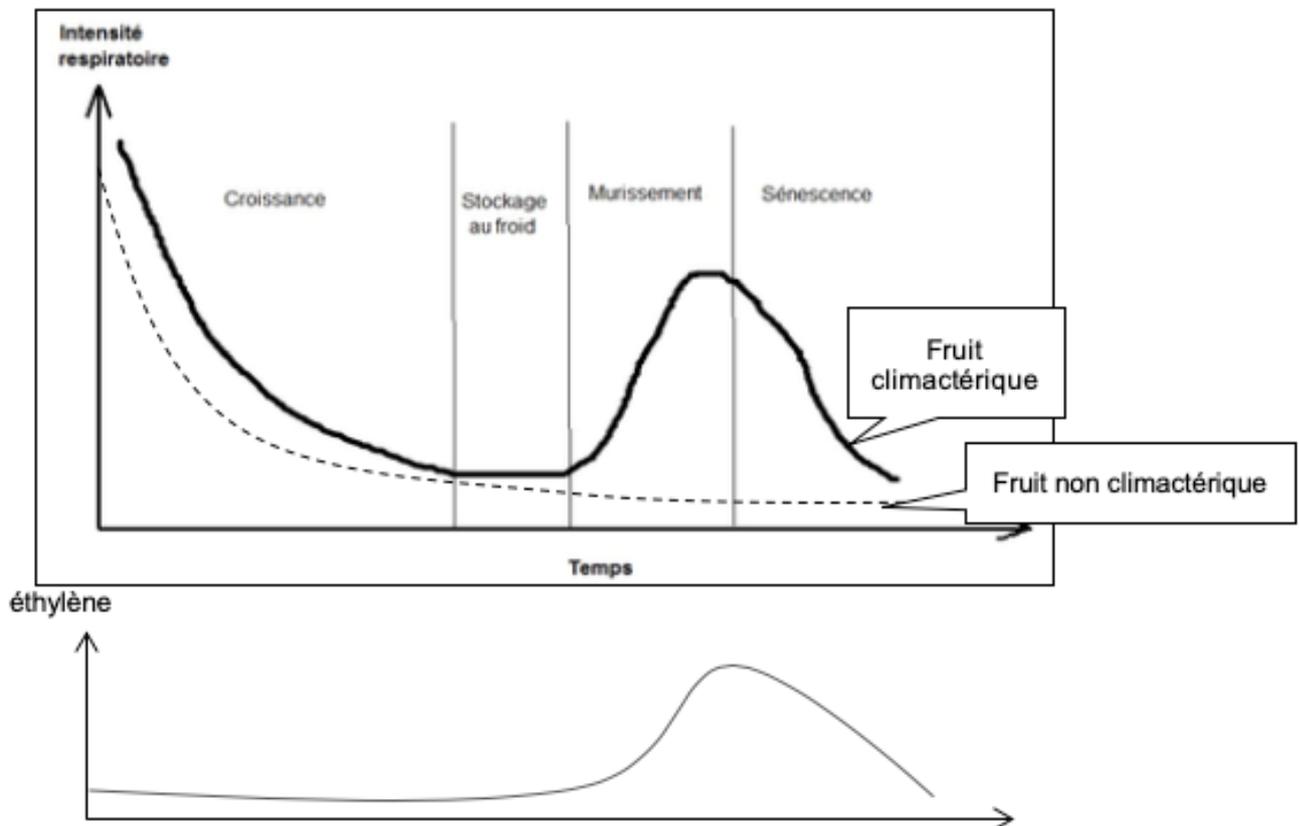
PREMIÈRE PARTIE : SCIENCE DES ALIMENTS (50 POINTS)

1. LA CONFITURE DE FRAMBOISES (22 points)

1.1. Les fruits

1.1.1. Un fruit est, en terme botanique, l'évolution de l'ovaire de la fleur contenant des ovules fécondés par le pollen (c'est le résultat de la fécondation et du développement de l'organe femelle de la plante).

1.1.2. Fruit dont la maturation est associée à un accroissement temporaire de la respiration et de la production d'éthylène, il peut murir après récolte



1.1.3. Les fruits murs libèrent l'éthylène (phytohormone) qui induit la maturation des fruits pas mûrs.

1.1.4. Tracé courbe respiratoire d'un fruit non climactérique (voir courbe pointillée ci-dessus).

1.1.5. Transformation de l'amidon en saccharose, développement des glucides simples, donc augmentation du goût sucré, réduction de l'acidité, production de composés aromatiques, modification des pigments (souvent vert qui disparaît au profit de pigments jaunes ou rouges) ... (augmentation de la teneur en vitamines).

1.1.6. Moyens de lutte contre le brunissement enzymatique :

- ① Inactiver les enzymes par la chaleur (le blanchiment, la pasteurisation et l'appertisation) ou le froid (congélation) ou la baisse de pH.
- ② Ajouter des composés réducteurs (acide ascorbique, sulfites) qui transforment les quinones en phénols,
- ③ Supprimer le co-substrat (O_2) par confisage, en mettant sous vide,
- ④ Sélectionner des variétés pauvres en substrats phénoliques,

1.2. La confiture de framboises

1.2.1. Dénomination exacte de la confiture : « confiture extra » car 50 % de fruit utilisés au départ, or pour « extra » il faut au minimum 450 g de fruit pour 1 kg de confiture (soit 45%).

1.2.2. Teneur en MS du mélange sucre- fruit = 56,5 %

$$m_{\text{finale}} \times MS_{\text{finale}} = m_{\text{sucré}} \times MS_{\text{sucré}} + m_{\text{fruits}} \times MS_{\text{fruits}}$$

$$MS_{\text{final}} = (50 \times 100 + 50 \times 13) / 100 = 56,5 \%$$

1.2.3. Élimination par évaporation d'une quantité d'eau afin de concentrer la matière sèche et diminuer l'aw = cuisson-concentration (ou concentration sous vide).

1.2.4. Développement de moisissures si aw trop élevée ou MS insuffisante ou si cuisson insuffisante ou si operculation non étanche.

1.2.5. La pectine sert à la gélification de la confiture ; la texture gélifiée fait partie de la définition du produit.

1.2.6. Les charges négatives repoussent les molécules de pectine et empêchent la formation de gel. La méthylation et l'acidification servent à réduire les charges négatives pour permettre le rapprochement des molécules de pectine.

1.2.7. pH de la purée est déjà à 3 +/- 0,2, conforme au pH nécessaire à la gélification de la pectine utilisée (2,8 – 3,2).

2. LA GÉNOISE (16 points)

2.1. La farine de froment

2.1.1. Type : taux de cendre = teneur en minéraux exprimée en centigramme après minéralisation de 100 g d'extrait sec de farine. Plus le type est élevé, plus on retrouve des constituants des enveloppes du blé et plus la couleur augmente.

2.1.2. Farine complète conventionnelle contient plus de pesticides car ceux-ci sont essentiellement stockés dans les enveloppes.

2.1.3. Blé tendre pour la farine et le pain/ blé dur pour les semoules et pâtes alimentaires. Différence de teneur en protéines (plus pour le blé dur) et couleur.

2.1.4. La force boulangère est liée à la quantité de gluten présente dans la farine, le gluten est une protéine responsable de l'élasticité et de l'extensibilité de la pâte nécessaire au gonflement. Important pour la génoise car gonflement avec la levure chimique.

2.2. Les œufs et les ovoproduits

2.2.1. L'œuf a une haute valeur biologique car il contient de nombreux acides aminés indispensables ainsi que les 2 acides gras indispensables (acide linoléique et linoléique) à l'homme.

2.2.2. Foisonnant pendant le foisonnement permettant de retenir l'air incorporé ; liant (thermocoagulant) pendant la cuisson

Colorant pendant la cuisson (réaction Maillard –sucre-protéines) + pigments du jaune

2.2.3. Ovoproduits : réduction du risque microbiologique par élimination des coquilles et par pasteurisation. Suppression du risque corps étranger ; stockage et dosage facilités, ...

3. LE PRODUIT FINI : LES MINI CAKES FOURRÉS À LA FRAMBOISE (12 points)

3.1. Réaction acide-base qui dégage du CO₂ (gazeux).

3.2. Foisonnement : incorporation d'air conduisant à une augmentation de volume.

3.3. Date : DDM car pas de risque sanitaire (aw suffisamment basse)

Autres mentions obligatoires d'étiquetage : -Dénomination précise, adresse du fabricant ou distributeur, poids net, N° lot, liste des ingrédients...

3.4. Liste des ingrédients par ordre décroissant pondéral, allergènes en gras, % de confiture de framboises.

3.5. Le conditionnement adapté doit être étanche à l'eau et aux gaz pour conserver l'humidité (empêcher le rancissement) de la génoise et protéger de l'oxydation (ou rancissement), opaque à la lumière pour éviter les réactions de photo-oxydation.

DEUXIÈME PARTIE : GÉNIE INDUSTRIEL (50 POINTS)

1. FABRICATION DE FRAMBOISES ENTIÈRES SURGELÉES (25 points)

1.1. Procédés de fabrication des framboises entières surgelées

1.1.1. Confère page 177

1.1.2. Le lavage/désinfection permet d'éliminer les souillures :

- chimiques : pesticides, engrais, urines animales, ...
- physiques : terre, cailloux, sable, herbes, ...
- biologiques : bactéries, moisissures, virus, ...

Le produit entrant sur la ligne de fabrication est propre et sain, moins de risque pour le produit fini, moins de risque/salissure sur la chaîne de fabrication.

1.2. La surgélation

1.2.1. Surgélation : procédé industriel qui consiste à abaisser très rapidement la température d'une denrée jusqu'à -18 °C à cœur.

1.2.2. La surgélation évite : - Compression mécanique, - Dégradation enzymatique, - formation de gros cristaux - Cryodessiccation, - Exsudation importante des aliments à la décongélation.

1.2.3. 1. Entrée produit ; 2. Bande transporteuse, ; 4. Zone de refroidissement ; 5. Zone de surgélation ; 6. Sortie produit ; 7. Sortie air froid.

1.2.4. Explications : le produit à traiter est acheminé dans le tunnel par un tapis convoyeur à une extrémité du tunnel. Il est refroidi, dans un premier temps, par le fluide cryogénique gazeux puis surgelé jusqu'à -37 °C lors de son passage sous les buses d'aspersion du fluide cryogénique. Le produit sort à l'autre extrémité du tunnel à -37 °C. Le fluide cryogénique est éliminé de l'enceinte du tunnel par un extracteur.

Fluides cryogéniques : Azote et dioxyde de carbone liquides.

1.2.5. La présence d'un pseudo-palier de surgélation est dû au fait qu'il ne s'agit pas d'eau pure. Les framboises se comportent comme une solution diluée. Au fur et à mesure que la glace se forme, les molécules de solutés se concentrent dans la phase liquide. Le point de congélation de la phase liquide plus en plus concentrée en solutés baisse, induisant une diminution progressive du point de fusion jusqu'à la cristallisation complète.

1.2.6. 1 et 3 : transfert de chaleur sensible, Cp ; 2 : transfert de chaleur latente (Lv) correspondant à un changement d'état de l'eau (solidification)

1.2.7. $Q_1 = m \cdot C_p \cdot \Delta T$ et $Q_2 = m \cdot L_v$

1.2.8. Calcul des quantités de chaleur cédées par l'aliment :

$$Q_1 = m \cdot C_p \cdot \Delta T = 25 \text{ kg} \times 3,75 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1} \times (-2 - 8 \text{ °C}) = - 937,5 \text{ kJ}$$

$$Q_2 = m \cdot L_v = 25 \text{ kg} \times 313,5 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} = - 7837,5 \text{ kJ}$$

$$Q_3 = m \cdot C_p \cdot \Delta T = 25 \text{ kg} \times 3,75 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1} \times (-37 + 2 \text{ °C}) = - 3281,25 \text{ kJ}$$

$$Q = \text{quantité de chaleur absorbée par le tunnel} = - (Q_1 + Q_2 + Q_3) = 12056,25 \text{ kJ ou } 3,35 \text{ kWh}$$

1.2.9. $P = 3,35 / 0,1 = 33,5 \text{ kW}$ (6 min = 0,1 heure)

$$\text{Ou } t = 6 \times 60 = 360 \text{ s donc } P = Q/t = 12056,25/360 = 33,49 \text{ kW}$$

2. FABRICATION D'UNE PURÉE DE FRAMBOISES SURGELÉE (21 points)

2.1. Le pressage

2.1.1. Les fruits sont chargés, puis il y a gonflement de la membrane avec l'air comprimé ce qui permet le pressage de framboises ; la pulpe est recueillie dans les tubes collecteurs. Les résidus de framboises écrasées sont éliminés lors de la vidange en fin de pressage.

2.1.2. Qualité de l'air comprimé : pas de contaminant chimique, air sec, charge microbienne réduite, air froid pour éviter l'échauffement des fruits.

2.1.3. Rebéchage : technique qui consiste à disperser ou casser le gâteau qui s'est formé lors du premier pressurage pour augmenter le rendement d'extraction.

2.1.4. $Rdt = \text{masse}_{\text{produit final}} \times 100 / \text{masse matières premières}$.

2.1.5. $m_{\text{produit final}} = m_{\text{framboises entières}} - m_{\text{déchets}} - m_{\text{restes de fruits collés}}$

$$= m_{\text{framboises entières}} - m_{\text{déchets}} - (3,5 / 100 \times m_{\text{framboises entières}})$$

$$= 100 - 6,5 - (3,5/100 \times 100)$$

$$= 90 \text{ kg}$$

$$\text{Donc le rendement} = (90 \times 100/100) = 90 \%$$

2.1.6. Huile de pépins de framboises (application en cosmétique), valorisation en alimentation animale.

2.2. Traitements de la purée

2.2.1. Le jus de citron permet d'augmenter l'acidité pour inhiber le développement des micro-organismes ou effet antioxydant.

Le sirop de fructose-glucose est un produit sucrant servant à masquer l'acidité.

De plus le pouvoir sucrant du fructose est plus élevé => apport glucidique moindre dans le produit fini, index glycémique plus faible.

2.2.2. Éviter l'oxydation des fruits.

2.2.3. Le produit circule dans une tubulure percée par deux électrodes alimentées par une source de tension alternative (500 à 200 V). Un courant s'établit et passe directement dans le produit qui se comporte comme une résistance et s'échauffe par effet Joule.

2.2.4. Pasteurisation : température de traitement thermique variant entre 60 et 100 °C,

Stérilisation : température de traitement thermique > 100 °C (température de référence 121,1 °C)

Objectifs :

Pasteurisation : réduction significative de la flore végétative et des bactéries pathogènes non sporulées, destruction des enzymes d'altération présentes dans un produit. Conservation des qualités organoleptiques (goût, odeur, couleur). Obtention d'une DLC ou DDM en fonction du pH.

Stérilisation : destruction de tous les micro-organismes y compris les bactéries sporulées, des enzymes et des toxines présents dans un produit. Obtention d'une DDM.

2.2.5. 1^{ère} solution

Calcul de VP



≈ 24

Calcul de n

$$VP = n \times D_{70}$$

$$n = \frac{VP}{D_{70}}$$

$$n = \frac{24}{0,75} = 32$$

Calcul de N

$$N = N_0 \times$$

$$N = 5.10^6 \times 10^{-32}$$

$$N = 5.10^{-26} \text{ UFC} \cdot \text{L}^{-1}$$

2^{ème} solution

$$D_T = D_{ref} \times$$

$$D_{90} = 0.75 \times$$

$$= 1,04.10^{-3} \text{ min} = 6,25.10^{-2} \text{ s}$$

$$\log$$

$$=$$

$$\text{donc } N = N_0 \times$$

$$= 5.10^6 \times$$

$$= 5.10^{-26} \text{ UFC} \cdot \text{L}^{-1}$$

3. CONDITIONNEMENT (4 points)

3.1. Fonctions protection-manutention / fonction marketing

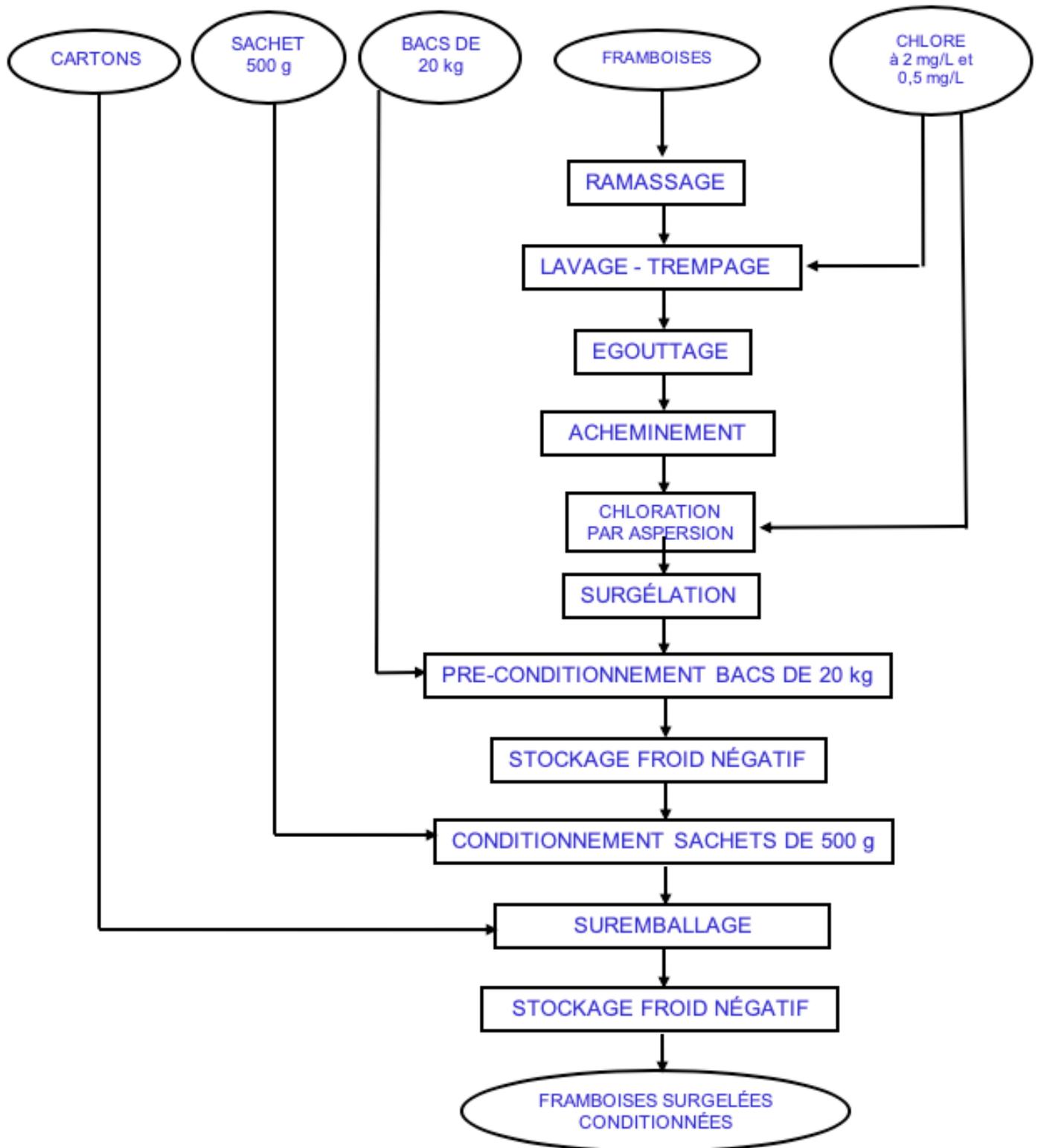
- **protection contre les altérations** (protection mécanique, imperméabilité ou étanchéité, protection contre les échanges gazeux, contre la lumière, contre la chaleur, contre les microorganismes).

- **fonction de manutention :** former des unités de ventes (sachets) facilement transportables (cartons).

- **fonction marketing :** support d'information (réglementaire et commercial) aux consommateurs et aux clients.

3.2. Inertie vis-à-vis du produit : pas de migration des composés de l'emballage vers le produit.

Réponse question 1.1.1



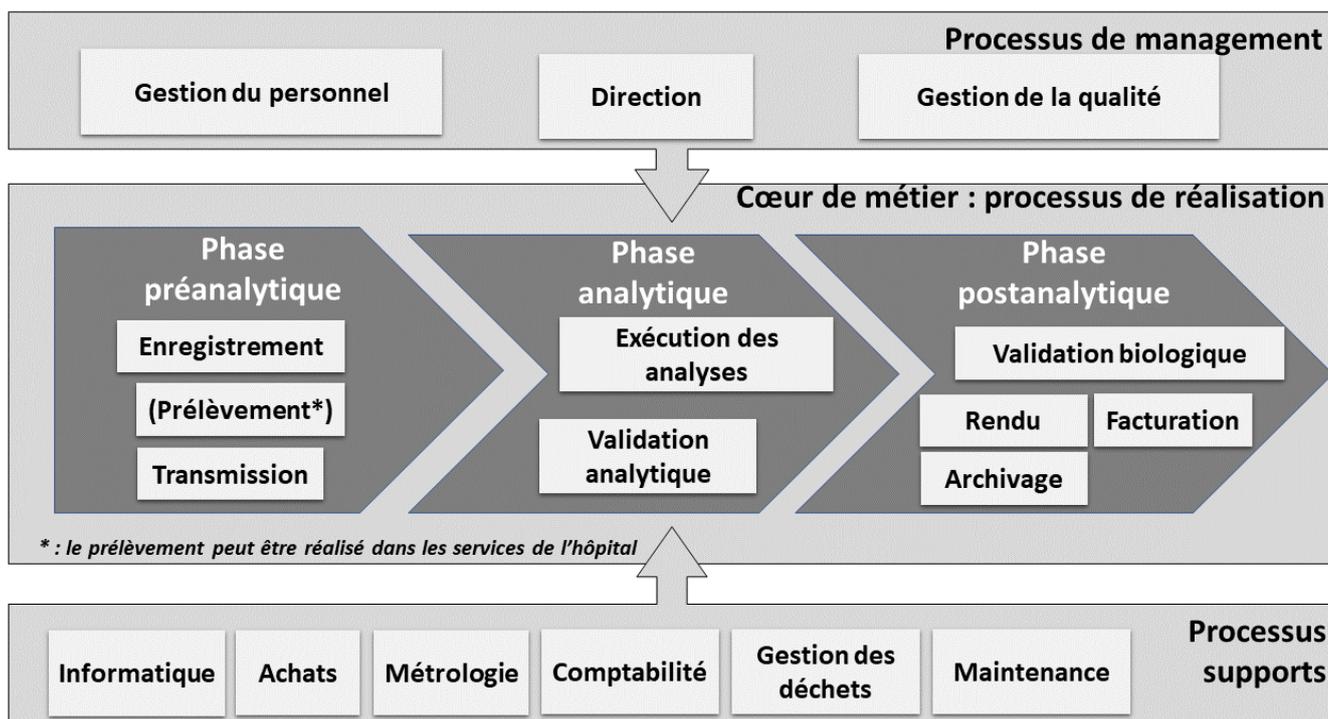
1. SYSTÈME DE MANAGEMENT DE LA QUALITÉ (42 POINTS)

1.1 Accréditation des LBM

- 1.1.1. NF = Norme Française = texte de référence pour la France, retenu par l'AFNOR
 EN = *European Norme* = norme européenne = texte de référence pour l'UE, retenu par le Comité Européen de Normalisation
 ISO = *international standard organisation* = texte de référence de portée mondiale, retenu par l'ISO
- 1.1.2. Accréditation : Attestation délivrée par une tierce partie, ayant rapport à un organisme d'évaluation de la conformité, constituant une reconnaissance formelle de la compétence de ce dernier à réaliser des activités spécifiques d'évaluation de la conformité (ISO/CEI 17000 :2005).
 C'est donc une procédure par laquelle un organisme faisant autorité (en France, c'est le COFRAC) reconnaît formellement qu'un organisme ou individu est compétent pour effectuer des tâches spécifiques du domaine du contrôle et de l'évaluation.
- 1.1.3. L'accréditation en soi n'est pas une démarche obligatoire, mais l'ordonnance du 13/01/10 (annexe 2) impose aux LBM d'être accrédités à 100 % pour continuer leur activité après le 1^{er} novembre 2020, et à 50 % depuis le 01/11/16 (ou le 31/12/17 selon les cas, voir question 1.1.4).
- 1.1.4. Lors de la publication du texte de l'annexe 2, trois cas pouvaient se présenter :
 - Laboratoire non accrédité : Respect des conditions spéciales d'un arrêté ministériel (GBEA de l'annexe 1) +Autorisation administrative selon l'article L.6211-2
 - Laboratoire accrédité à 50 %
 - Laboratoire ayant fait une demande d'accréditation à 50 % dont au moins un examen par famille d'examens. Fonctionnement au plus tard jusqu'au 31/12/17
 Au 1^{er} novembre 2020 au plus tard, l'accréditation à 100% des examens réalisés est obligatoire.

1.2. Cartographie des processus

- 1.2.1. Processus : ensemble d'activités corrélées ou en interaction qui utilise des éléments d'entrée pour produire un résultat escompté (ISO 9000:2015) ; ensemble d'activités corrélées ou interactives qui transforme des éléments d'entrée en éléments de sortie (ISO 9000:2005)
- 1.2.2. L'approche processus, mise en œuvre via la cartographie des processus, permet de découper une activité globale trop complexe à prendre en charge en activités plus élémentaires, délimitées, sur lesquelles il est possible de travailler pour les améliorer. Autrement dit, un processus est l'objet (cible) de la démarche d'amélioration.
- 1.2.3.



1.2.4. Éléments d'entrée : échantillons (analytiques et de contrôle), demande d'examens (prescription), procédures analytiques, réactifs et consommables

Éléments de sortie : résultats des échantillons analytiques et de contrôle

1.2.5. Validation analytique : assurée par le personnel exécutant (technique), après vérification du bon fonctionnement des indicateurs et évaluation par rapport au CIQ.

Validation biologique : assurée par le biologiste, vérifiant la cohérence des résultats avec le contexte et les antécédents.

Justification : GBEA §2.15 et §3 et ISO 15189 5.7.1 (revue des résultats)

1.3. Documentation

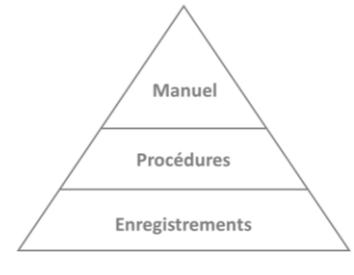
1.3.1. Justification : ISO 15189 §4.2.2.1 et 4.2.2.2

Notes :

(1) Selon les usages, les procédures organisationnelles peuvent être détachées des procédures analytiques et insérées dans le manuel

(2) Manuel : y compris la déclaration et les objectifs qualité, la description du SMQ, l'organisation du laboratoire, la structure de la documentation.

(3) La norme signale d'autres documents : les copies des réglementations, normes en vigueur et autres documents normatifs.

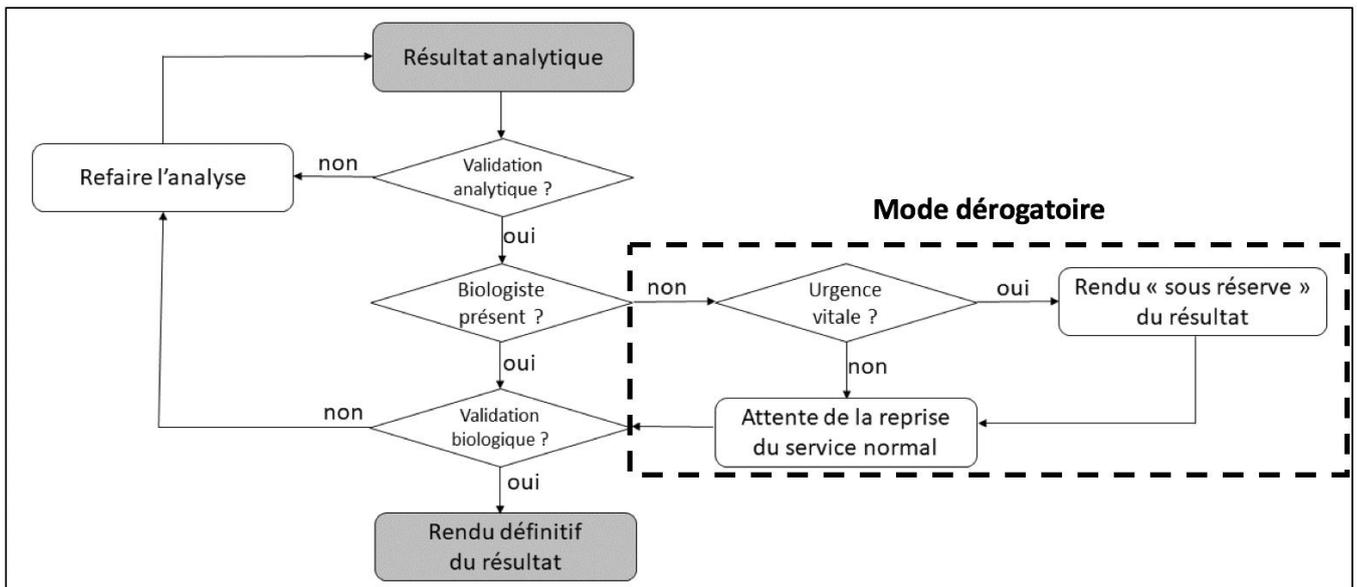


1.3.2. Manière spécifiée de réaliser une activité ou un processus (ISO 9000 :2015)

1.3.3. Présentation d'un modèle de document, avec cartouche, description sommaire, et logigramme comme demandé.

Comme indiqué au §4.3 de ISO 15189, le cartouche doit contenir un titre, un identifiant (numéro par exemple), la date de l'édition et/ou le numéro de version, une pagination, des auteurs (classiquement mais non obligatoirement rédacteur, vérificateur, approbateur), un statut (actif, obsolète). Il est d'usage d'attendre en outre l'identification du laboratoire.

Note : le mode dérogatoire (rectangle en pointillé) n'était pas attendu



1.3.4. Formellement, le mode dérogatoire contrevient aux exigences du GBEA (obligatoire, Cf. arrêté) et de l'ISO 15189 (imposées pour l'accréditation) et c'est donc une non-conformité réglementaire et/ou normative. Mais l'exigence de continuité du service et le caractère urgent imposent ce rendu, qui est donc justifié par le contexte. La validation ultérieure permet en outre de respecter les obligations légales.

2. PRISE EN CHARGE D'UN PROBLÈME DE DÉLAI DE RÉPONSE (25 POINTS)

2.1. Indicateur qualité

2.1.1. Un indicateur qualité est une grandeur mesurée, à intervalles réguliers, représentative de l'efficacité du système de management de la qualité ou d'une partie de ce système.

2.1.2. C'est un bon indicateur qualité car c'est un paramètre :

- représentatif de la qualité (ou du SMQ),
- bien défini,
- durable pour que sa mesure soit poursuivie dans le temps,
- facile et répétable,
- qui permet de progresser, donc qui est compréhensible par tout le personnel.

*Astuce mnémotechnique : un indicateur qualité doit être « SMART » (intelligent) : un indicateur doit être **Significatif**, **Mesurable**, **Atteignable** (notion d'objectif accompagnant), **Reproductible** (mesure stable), **Temporel** (la mesure est datée).*

2.1.3. t_1 , phase préanalytique ; t_2 , phase analytique ; t_3 phase postanalytique.

2.1.4.

Secteur d'analyse	Analyse	Durée maximum contractuelle (min)	Durée moyenne réelle* (1↓)	Durée maximum observée* (2↓)	Nombre d'échantillons concernés par le dépassement* (3↓)
Hématologie	NFS	30	23	29	0
	Plaquettes	30	22	(30+10=40)>32	2
	Groupage	45	38	(45+15=60)>48	1
Hémostase	INR	66	68	(66+22=88)<98	134
	TCA	66	67	(66+22=88)<89	130
	D-D	45	49	(45+15=60)<68	39
Biochimie	Ionogramme	30	26	(30+10=40)>32	1
	Glycémie	60	45	59	0
	Créatinine	60	48	54	0
	Troponine	60	42	(60+20=80)>62	1
	CK	60	44	53	0
	CRP	60	54	(60+20=80)>64	1
	G-GT	60	42	58	0
	LDH	60	41	55	0
Hormonologie	b-HCG	75	62	70	0
	E2	75	64	68	0
Toxicologie	Screening	45	41	(45+15=60)>49	2

1- Les durées moyennes maximales sont respectées dans tous les secteurs, sauf l'hémostase.

2- En cas de dépassement (durée maximale observée), le nombre de dépassements constatés respecte la limite contractuelle (3 par mois et par secteur) dans tous les secteurs sauf en hémostase.

3- En cas de dépassement (durée maximale observée), la valeur maximale de dépassement constatée respecte la limite contractuelle (+ 30 %) dans tous les secteurs sauf en hémostase.

Conclusion : le contrat est respecté, sauf en hémostase où les problèmes sont nombreux et significatifs. Il faut donc intervenir sur le secteur de l'hémostase pour chercher les causes de ce retard.

2.1.5. L'annexe 5 permet de préciser les problèmes rencontrés pour l'obtention de l'INR (International Normalised Ratio ou temps de Quick) et indiqués dans l'annexe 4 : le temps maximum prévu par contrat est de 66 minutes ; en février 134 échantillons dépassent ce temps pour une durée moyenne de 68 minutes avec un pic à 98 minutes.

L'étude détaillée de l'annexe 5 montre que :

- les dépassements concernent les plages 7/9, 9/12, 12/14 (= journée), lors du pic d'activité.
- la phase préanalytique augmente assez peu et la phase post-analytique encore moins ; en revanche la phase analytique est principalement concernée.

On peut penser que le pic d'activité entraîne un engorgement du poste d'hémostase. Il faut donc prioritairement travailler à fluidifier ce poste.

2.1.6. Réalisation d'un diagramme d'Ishikawa avec utilisation concomitante de l'outil 5M.

Matériel (machine lente, qui se dérègle souvent, demandant trop de maintenance) ; Méthode (trop longue) ; Main d'œuvre (trop lente, pas assez nombreuse) ; Milieu (poste trop éloigné) ; Matière (conditionnement difficile à ouvrir), etc ...

Note : l'outil 5M comme mode de regroupement est classique et pratique mais non obligatoire. D'autres regroupements étaient acceptables.

2.2. Choix et gestion d'un appareil d'analyse

2.2.1. Document spécifiant des exigences dans le cadre de la fourniture d'un produit ou d'un service entre client et fournisseur, ou dans le cadre d'un projet interne.

2.2.2. Document (enregistrement) spécifique à un appareil et décrivant tous les événements importants liés à la vie d'un appareil : achat, mise en service, étalonnage, maintenance, vérification, panne. Des rapports détaillés peuvent être annexés à une fiche de vie.

3. MAÎTRISE DE L'APPAREIL : MÉTROLOGIE ET CARTE DE CONTRÔLE (13 POINTS)

3.1. D'après le VIM 2012 :

Étalonnage : Opération qui, dans des conditions définies met en relation :

- Les valeurs fournies par des étalons et les indications correspondantes, avec
- Le résultat de mesure à partir d'une indication

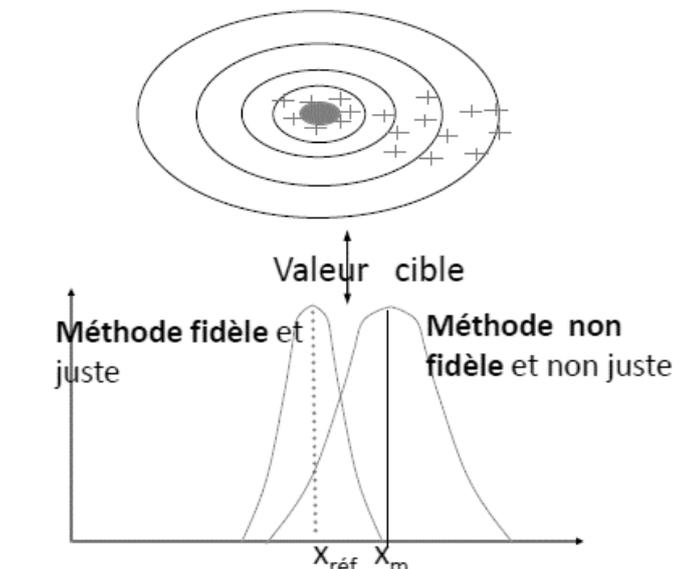
L'étalonnage permet de convertir une mesure de l'appareil en une valeur utilisable ; l'étalonnage permet de régler l'appareil.

Note : en LABM, l'étalonnage est appelé « calibration », qui est un terme anglais – l'étalon est alors appelé calibrateur.

3.2. D'après le VIM 2012 :

Justesse : étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini (d'une série) de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence.

Fidélité : aptitude à donner des indications très voisines lors de la réalisation de mesurages répétées dans les mêmes conditions.



3.3.

CARTE DE CONTRÔLE DE LEVEY-JENNINGS DU CIQ DU TEMPS DE QUICK UTILISE POUR LE CALCUL DE L'INR

$m_{TQ} = 22,0$ secondes

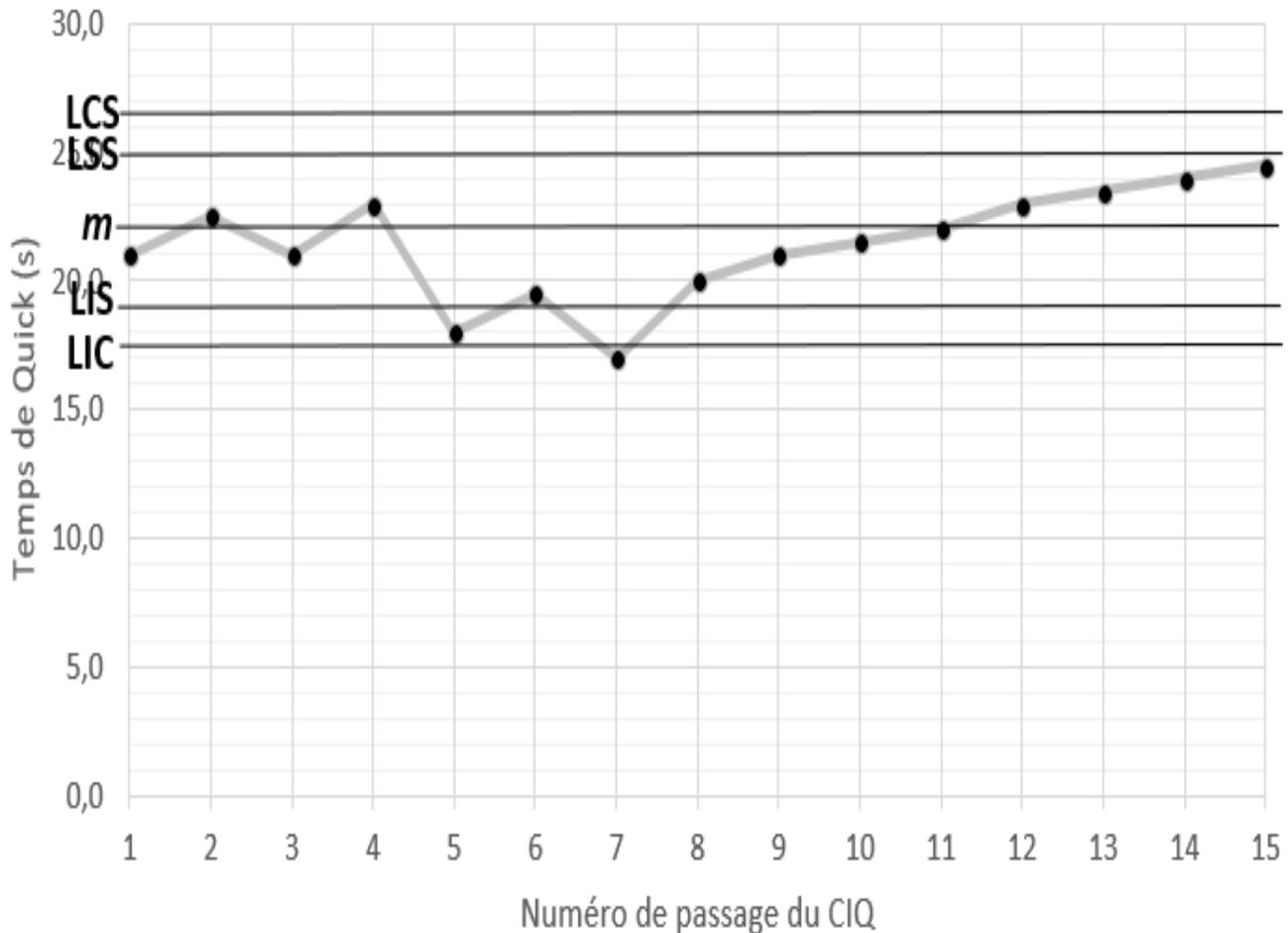
$2\sigma_{TQ} = 2 \times 1,5 = 3$ secondes donc LIS = $22 - 3 = 19$ secondes ; LSS = $22 + 3 = 25$ secondes

$3\sigma_{TQ} = 3 \times 1,5 = 4,5$ secondes donc LIC = $22 - 4,5 = 17,5$ secondes ; LSC = $22 + 4,5 = 26,5$ secondes

Notes :

(1) Le « s » à utiliser pour calculer les limites +/- 2s et +/- 3s était l'écart-type σ_{TQ} .

(2) La carte de contrôle réalisée n'était pas une carte à la moyenne puisque les valeurs indiquées à chaque passage ne sont pas des moyennes de résultats de mesurages du CIQ mais le résultat d'un mesurage unique.



3.4. Puisqu'il s'agit d'un contrôle de justesse, il faut réaliser une la carte de contrôle aux mesures ce qui est le cas ici.

Idéalement il faudrait réaliser une carte de contrôle à la moyenne (ce qui n'est pas le cas ici, cf note 2 de la question précédente) car celle-ci permet de mesurer l'écart entre la moyenne fournie par le fournisseur et les valeurs mesurées sur les contrôles internes.

3.5. Carte globalement centrée mais :

- n°5 : alerte 1σ → surveiller le processus et le passage suivant du CIQ ; retour à la normale en 6 donc pas de NC
- n°7 : rejet 1σ → rejet du CIQ ; réviser les échantillons des patients précédents, qui ne sont pas validés ; réajuster la machine éventuellement
- n°8 : retour à la normale, OK
- 7 à 14 ou 8 à 15 selon qu'on considère qu'il y a eu réajustement ou non : alerte 7σ → réajustement de la machine qui est en situation de dérive (note : le repassage des échantillons de patients n'est pas obligatoire au regard de la formulation de l'annexe B, mais pas une erreur non plus).

NOTES

A series of horizontal dotted lines for writing notes.



Lined paper with horizontal dotted lines for writing.

A series of horizontal dotted lines for writing, spanning the width of the page.



A series of 30 horizontal dotted lines for writing notes.

Dotted lines for writing.

A series of horizontal dotted lines for writing.