

BTS QUALITE DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

Epreuve : Techniques d'analyses et de contrôles

Modifications sujet à donner oralement aux candidats le jour de l'épreuve

- **Sujet codé QATAC C1 du jeudi 3 juin de 14h00 à 18h30 :**

Page 1/6 1.1 Matériel à disposition : lire 10 tubes ou flacons de gélose au désoxycholate à 1‰ en surfusion au lieu de 10 tubes ou flacons de gélose DCL en surfusion

Page 2/6 1.4 Dénombrement en milieu solide dans la masse en simple couche : lire
Ensemencer deux boîtes de gélose au désoxycholate à 1‰ au lieu de Ensemencer deux boîtes de milieu DCL

Page 4/6 Introduire ensuite précisément

- **Sous hotte ventilée** 3 mL de nitrobenzène bien mélanger

BTS QUALITE DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

Epreuve : Techniques d'analyses et de contrôles

Modifications sujet à donner oralement aux candidats le jour de l'épreuve

- Sujet codé QATAC C2 du vendredi 4 juin de 14h00 à 15h00 :

Page 2/3 Lire Identification des colonies présentes sur M1 au lieu de Contrôles immunologiques des colonies présentes sur M1

BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

Session 2004

E5 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE PRODUCTION U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES

MATIERE D'OEUVRE BIOCHIMIE

- Solution commune aux deux dosages. 100 mL de "solution J" 5,5 mg/L de NaNO_2 et à 2,2 g/L de NaCl , par candidat.

DOSAGE DE LA TENEUR EN CHLORURE

Solutions

- Acide nitrique à 0,1 mol/L = 25 mL/candidat en distributeur (5 mL)
- Nitrobenzène sous hotte = 15 mL/candidat en distributeur (3 mL)
L'usage du nitrobenzène peut être évité en préconisant le chauffage du milieu réactionnel pour faciliter l'agglomération du précipité
- Nitrate d'argent (AgNO_3) à 0,1 mol/L : sécher du nitrate d'argent pendant 2 heures à 150°C et le laisser refroidir dans un dessiccateur. Dissoudre 16,989 g de nitrate d'argent dans 1000 mL. 150 mL/ candidat
- Thiocyanate de potassium (KSCN), solution titrée à 0,1 mol/L : 9,7 g dans 1000 mL. Étalonner avec la solution de nitrate d'argent à 0,1 mol/L et l'indicateur = 50 mL/candidat
- Solution saturée de chromate de K^+ 10 mL/candidat
- (Indicateur) Sulfate double d'ammonium et de fer (III) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3, 24\text{H}_2\text{O}$ à 50 g/L 5 mL/ candidat
- Chlorure de Na anhydre : 0,5 g/candidat

Matériels

- 4 erlenmeyer de 250 mL
- Éprouvette de 100 mL
- 2 Pipettes jaugées 20 mL
- Burette de 25 cm^3
- 2 Sabots à peser
- 2 Pipettes de 5 mL graduées
- 1 balance de précision 0,0001g
- semi microburette (10 mL)

- dessiccateur
- 1 spatule
- 3 béchers « poubelle »
- bec bunsen (en cas de chauffage en remplacement de l'usage du nitrobenzène)
- allumettes (en cas de chauffage en remplacement de l'usage du nitrobenzène)

Matériel collectif

- bidon récupération produits toxiques

DOSAGE DE LA TENEUR EN IONS NITRITE

Solutions

- Nitrite de sodium : solution
10 mL/ candidat à 1g/L de nitrite de sodium noté "solution étalon de Na NO_2 (ou nitrite de sodium) : M"
- Réactif R des ions nitrites : 5 g d'acide sulfanilique + 140 mL d'acide éthanoïque pur + 800 mL d'eau distillée puis 80 mg de N-1-naphtyl éthylène diamine puis compléter à 1L avec de l'eau distillée. **Réactif légèrement rosé. A présenter en flacon dispenseur.**
- Chauffer, laisser refroidir et filtrer.
Il est préférable de préparer le réactif le jour même de l'utilisation.
100 mL/candidat

Matériels

- 1 fiole jaugée de 100 mL
- 2 Pipettes jaugées de 1 mL
- 1 Pipette jaugée de 10 mL ou flacon dispenseur réglé sur 10 mL
- 8 tubes à essais
- 8 cuves spectrophotométriques
- Spectrophotomètre visible
- 1 micro pipette P1000 à volume réglable et cônes bleus.
- papier filtre
- papier Joseph
- parafilm
- poire d'aspiration
- 2 bechers « poubelle »

BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

Session 2004

E5 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE PRODUCTION U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES

Matière d'œuvre jour 1

Biochimie

Microbiologie

Produits par candidat :

- 1 tube de BN avec 10^4 E coli/mL = "Bx" : 5 mL
- 5 tubes contenant exactement 9 mL de tryptone-sel
- 15 tubes de BLBVB avec cloche
- 10 flacons ou tubes de gélose ~~DCL~~ lactosée ou désoxycholate à 0,1 % en surfusion (V = 14 mL)
- 1 tube de BN avec E coli + Staphylococcus aureus noté "Mx"
- 1 boîte de GN
- 1 boîte de Baird-Parker notée m_1
- 1 boîte de VRBL notée m_2

Matériel

- Pipette stérile 1 mL ou équivalent : 7
- Lames, lamelles : colorants de Gram
- 10 boîtes pétri

Ne pas fournir de documents concernant la gélose DCL, les milieux BLBVB.

BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

Session 2004

E5 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE PRODUCTION U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTROLES

Matière d'œuvre jour 2

Microbiologie

- Norme AFNOR calcul de la moyenne pondérée
- Colorants de Gram, lames
- Table Mac Grady. Table de 3 avec limite de confiance + explication de son utilisation
- Staphyslide test + document : Protocole + interprétation
- Document avec composition + lecture + interprétation des milieux : Baird Parker et VRBL.
- Documents fournisseurs "anonymés" note m_1 , m_2 ,
ne pas préciser que m_1 = Baird Parker
 m_2 = VRBL
- Pas de documents internes à chaque centre.

**BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET
LES BIO-INDUSTRIES**

Session 2004

E5 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE PRODUCTION

U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTROLES

Durée : 6 heures

Coefficient : 3

BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

Session 2004

E5 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE PRODUCTION U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES

Durée : 6 heures

Coefficient : 3

Analyses de produits à base de viande *Premier jour : 4h30*

Microbiologie (30 points)

Le laboratoire d'analyses microbiologiques d'une salaison souhaite mettre en place de nouvelles méthodes de suivi de ces produits et procède donc à une série de tests pour sélectionner les techniques les plus efficaces et maîtriser la réalisation de ces analyses.

1. Comparaison de méthodes de dénombrement

Le laboratoire désire tester et comparer 2 techniques de dénombrement de coliformes totaux dans les viandes : la première en milieu solide et la deuxième en milieu liquide. L'échantillon a déjà été préparé : 10g de viande ont été pesés, déposés dans un sac stérile, 90 mL de tryptone-sel leur ont été rajoutés. L'ensemble a été broyé. Vous disposez d'une fraction de ce broyat afin de tester les deux méthodes de dénombrement.

1.1 Matériel à disposition

- Un tube contenant le broyat de viande : "Bx"
- 5 tubes de 9 mL de tryptone-sel
- 15 tubes de milieu BLBVB
- 10 tubes ou flacons de gélose DCL en surfusion
- Pipettes stériles de 1 mL ou équivalent.

1.2 Réalisation des dilutions

Réaliser 5 dilutions décimales du broyat de viande.
Montrer à un examinateur la réalisation d'une dilution.

1.3 Dénombrement en milieu liquide

Ensemencer 3 tubes de milieu BLBVB pour chacune des dilutions réalisées. (Volume d'inoculum = 1 mL)

Incuber à 30°C durant 24h.

1.4 Dénombrement en milieu solide dans la masse en simple couche

Ensemencer 2 boîtes de milieu DCL pour le broyat Bx pur et les dilutions jusqu'à 10^{-4} inclus.

Incuber à 30°C durant 24 h.

2. Tests de milieux d'isolement

Le laboratoire désire tester différents milieux sélectifs afin de réaliser des isolements à partir des produits alimentaires qu'il souhaite analyser.

Un mélange bactérien vous est proposé : "Mx"

2.1 Examens microscopiques

Réaliser un état frais et une coloration de Gram du mélange.

Montrer les examens microscopiques à un examinateur.

2.2 Isolement

Réaliser un isolement du mélange sur gélose nutritive et sur 2 milieux sélectifs : M₁, M₂.

Biochimie : (30 points)

La détection et le dosage des nitrites dans les aliments et en particulier dans les produits de charcuterie se justifie par le fait qu'ils conduisent à des nitrosamines cancérigènes.

En France, la législation limite la teneur en nitrite dans les produits de charcuterie à 150 mg/kg exprimés en NaNO₂.

La teneur en sel habituellement observée pour ce type de charcuterie est de 1,8 %.

Les chlorures et les nitrites sont dosés dans un échantillon J issu d'un jambon cuit.

1. Préparation de l'échantillon J fourni

1.1 Principe

Les chlorures et les ions nitrites NO₂⁻ sont extraits d'un jambon après hachage et passage à l'eau bouillante.

Ensuite, une défécation est effectuée à l'aide d'hexocyanoferrate de potassium et d'éthanoate de zinc.

1.2 Protocole

Mise en solution des chlorures et des ions nitrite du jambon.

25 g de jambon haché ont été pesés précisément dans un ballon de 100 mL. Après ajout de 5 mL de solution de borax saturée et 50 mL d'eau distillée (température >70°C), le mélange a été chauffé au bain-marie bouillant.

Après refroidissement, le contenu du ballon a été transvasé dans une fiole jaugée de 200 mL

Puis, 2 mL d'hexocyanoferrate de potassium, 2 mL d'éthanoate de zinc et 50 mL d'eau distillée, ont été ajoutés.

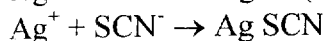
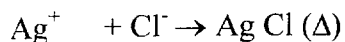
Après agitation et repos, la fiole jaugée a été complétée au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Le mélange a été filtré et la solution obtenue est appelée J.

2. Dosages

2.1 Dosage des chlorures

Les équations mises en œuvre dans ce dosage sont les suivantes :



2.1.1 Étalonnage d'une solution de nitrate d'argent

Dans un Erlenmeyer, introduire :

- une masse m, voisine de 0,1 g de chlorure de sodium pur et anhydre
- 100 mL d'eau distillée
- 2 mL de solution saturée de chromate de potassium.

Verser la solution de nitrate d'argent jusqu'au virage de l'indicateur au rouge orangé.

Noter le volume de solution de nitrate d'argent nécessaire.

Réaliser 2 essais.

Données : Na : 23g.mol⁻¹. Cl : 35,5 g.mol⁻¹

2.1.2 Dosage des chlorures dans l'échantillon

Introduire dans un erlenmeyer :

- 20 mL de J
- 5 mL d'acide nitrique
- 1 mL de l'indicateur (sulfate double d'ammonium et de fer).

Introduire ensuite précisément :

- 20 mL de la solution de nitrate d'argent à environ $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$.

- 3 mL de nitrobenzène et bien mélanger.

Agiter vigoureusement afin de coaguler le précipité.

Titrer l'excès de nitrate d'argent avec la solution de thiocyanate de potassium à $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$ jusqu'à coloration rose persistante.

Noter le volume de solution de thiocyanate de potassium nécessaire.

Réaliser deux essais.

2.2 Dosage des ions nitrites

2.2.1 Fabrication d'une gamme étalon

A partir d'une solution M à 1g de nitrite de sodium par litre, préparer 5 solutions filles de volume final 1 mL.

Solution fille	[NaNO ₂] en mg/L
1	2
2	4
3	6
4	8
5	10

Préparer un tube avec 1 mL d'eau distillée pour le blanc.

2.2.2 Dosage

Préparer 2 essais avec 1 mL de la solution J.

Ajouter 10 mL de réactif R dans tous les tubes.

Après homogénéisation, transférer en cuve et mesurer l'absorbance à 526 nm après 10 minutes.

Compléter le tableau de l'annexe 2.

3. Résultats

Compléter les feuilles de résultats en annexes 1 et 2.

Répondre aux questions figurant sur ces annexes.

Nom et Prénom du candidat :

N° de poste :

ANNEXE 1
À rendre avec la copie

Feuilles de résultats contrôles biochimiques

1. Dosage des chlorures

1.1 Étalonnage de la solution de nitrate d'argent.

- Masses de chlorure de sodium
- Volumes de solution de nitrate d'argent
- Calculer la concentration de la solution de nitrate d'argent (CV = 0,5 %) :

1.2 Dosage des chlorures dans l'échantillon

- Volumes de solution de thiocyanate de potassium
- Calculer la concentration en chlorures dans la solution J, en mol.L⁻¹ (CV = 1 %) :
- Calculer la teneur en chlorure de l'échantillon, exprimée en % de chlorure de sodium dans le jambon et conclure :

ANNEXE 2
À rendre avec la copie
Feuille de résultats : contrôles biochimiques

2. Dosage des nitrites

2.1 Préparation de la gamme étalon et des essais, résultats.

2.1.1 Compléter le tableau ci-dessous.

2.1.2 Donner la concentration de la solution étalon utilisée.

2.1.3 Justifier les volumes choisis de la solution étalon.

Tubes							E ₁	E ₂
Solution étalon en mL								
Solution J en mL							1	1
Eau distillée en mL								
Réactif R en mL	10	10	10	10	10	10	10	10
Mélanger, transférer en cuve et mesurer l'absorbance à 526 nm après 10 minutes								
Concentration en Na NO ₂ en mg.L ⁻¹								
Absorbance à 526 nm								

2.2 Exploitation des résultats

2.2.1 Donner la droite de régression et le coefficient de corrélation.

2.2.2 Déterminer la concentration en nitrite de sodium dans la solution J (CV= 3%).

2.2.3 Calculer le taux de nitrite dans le jambon testé en mg de nitrite de sodium par kg de jambon et conclure.

BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

Session 2004

E5 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE PRODUCTION U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTROLES

Durée : 6 heures

Coefficient : 3

Analyses de produits à base de viande *Deuxième jour : 1h30*

Rappel du premier jour : L'échantillon a déjà été préparé : 10g de viande ont été pesés, déposés dans un sac stérile, 90 mL de tryptone-sel leur ont été rajoutés. L'ensemble a été broyé. Vous disposez d'une fraction de ce broyat afin de tester les deux méthodes de dénombrement.

1. Comparaison de méthodes de dénombrement

1.1 Dénombrement en milieu liquide

A l'aide de la table de Mac Grady, estimer la concentration en coliformes totaux dans la viande.

Encadrer le résultat à l'aide des limites de confiance à 95 % de fiabilité.

1.2 Dénombrement en milieu solide

Dénombrer les colonies et déterminer le nombre d'UFC de coliforme par g de viande.

Exprimer le résultat en se référant aux données de l'annexe 1.

1.3 Conclusion

Comparer les résultats des 2 méthodes.

2. Tests de milieux d'isolement

Le mélange proposé le premier jour était en fait un mélange de *Staphylococcus* et d'*Escherichia coli*.

2.1 Lecture de l'isolement sur GN

Vérifier la pousse des 2 souches bactériennes.

2.2 Analyse du milieu M1

2.2.1 Analyse du milieu M1

Ce milieu est normalement sélectif des *Staphylococcus*.

A l'aide des documents fournis, des examens macroscopique et microscopique, vérifier cette donnée et conclure sur la sélectivité du milieu M1.

2.2.2 Contrôle immunologique des colonies présentes sur M1.

Le milieu M1 peut apporter des renseignements sur l'espèce de *Staphylococcus* ayant été isolé.

En justifiant votre réponse, indiquez l'espèce de *Staphylococcus* présumée présente sur M1. Vérifiez cette présomption par un test immunologique rapide (résultat en moins de 30 secondes) fourni par le centre. Montrer la réalisation à un examinateur. Conclure.

2.3 Analyse du milieu M2

Analyser votre isolement à l'aide des documents fournis et conclure sur la sélectivité du milieu M₂.

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

Pour qu'un résultat soit valable, on estime en général qu'il est nécessaire de compter les colonies sur au moins 1 boîte contenant au minimum 15 colonies [colonies en totalité, colonies caractéristiques ou colonies répondant aux critères d'identification ou de confirmation.

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

$$N = \frac{\sum C}{V \times [n_1 + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

où

$\sum C$ est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives dont au moins une contient au minimum 15 colonies ;

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

n_1 est le nombre des boîtes retenues à la première dilution ;

n_2 est le nombre des boîtes retenues à la deuxième dilution ;

d est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue [d = 1 dans le cas où l'échantillon pour essai (produits liquides) ensemencé directement est retenu].

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

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

Exprimer le résultat comme suite :

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

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

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

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

où

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

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

n : nombre de boîtes retenues

d = taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.