

<p>BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR</p> <p>QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES</p> <p>ET LES BIO-INDUSTRIES</p>

U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES

Durée : 6 heures	Coefficient 3
------------------	---------------

PREMIER JOUR

Durée : 4 heures 30

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

Tout autre document est interdit

Document à rendre avec la copie : Feuille de résultats, page 9/9

Ce sujet comporte 9 pages numérotées de 1 à 9.
Assurez-vous qu'il est complet dès qu'il vous est remis.

BTS QUALITE DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

Session 2007

U52-Techniques d'analyses et de contrôles

CONTRÔLE QUALITE EN BOULANGERIE

Une enseigne de grande distribution a décidé de développer un secteur boulangerie au sein de tous ses magasins.

Elle doit par conséquent optimiser le procédé de fabrication du pain et contrôler la qualité des matières premières.

PREMIER JOUR (4 heures 30)

Sachant que le pain est fabriqué à partir d'un mélange de farine, d'eau, de sel et de levain, on se propose ici de contrôler la qualité du levain, de la farine livrée et de la farine pré-mix (farine additionnée de sel et des autres additifs autorisés).

1. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES DU LEVAIN (25 points)

Le levain est une pâte composée de farine de blé et de seigle, ou de l'un seulement de ces deux ingrédients et d'eau potable ; elle est éventuellement additionnée de sel. Elle est soumise à une fermentation naturelle acidifiante qui la fait lever.

La flore du levain est constituée de :

- 1 à 10 millions de levures par gramme ou par mL de levain,
- 1 milliard de bactéries par gramme ou par mL de levain.

On se propose ici de vérifier la qualité du levain du fournisseur.

1.1. Estimation de la population de levures du levain en cellule de Malassez (Annexe 1)

Vous disposez d'un échantillon de levain noté L+N°.

Montrer la mise en hématimètre à un examinateur ainsi qu'un champ microscopique.

Noter sur le compte rendu les résultats du comptage en nombre levures/mL de levain sachant que le nombre total de cellules comptées doit être supérieur à 200.

1.2. Vérification de la numération de levures par un dénombrement en surface

D'après les résultats de la numération, tester trois dilutions successives.

Pour chaque dilution, ensemercer 0,1 mL à la surface d'une gélose Sabouraud/chloramphénicol.

Prévoir 2 essais par dilution.

Justifier le choix des dilutions dans le compte rendu et préciser la température d'incubation.

1.3. Identification d'une bactérie du levain

Un isolement du levain noté **B+N°** a été réalisé sur gélose MRS et incubé 48 heures en anaérobiose.

À partir de cet isolement, réaliser les études macroscopique et microscopique.

Montrer un champ microscopique à l'examineur.

Effectuer le test enzymatique approprié et montrer sa réalisation à un examinateur.

Proposer une orientation de la souche isolée.

2. CONTRÔLES IMMUNOLOGIQUES (8 points)

Les mycotoxines (ochratoxines, aflatoxines, fumonisines, zéaralénones ...) sont des substances toxiques ; elles peuvent engendrer des tumeurs cancéreuses, voire des lésions graves des différents systèmes et appareils de l'organisme.

Elles sont sécrétées par des moisissures microscopiques qui se développent essentiellement pendant le stockage des céréales et des tourteaux.

La famille la plus dangereuse des mycotoxines connues à ce jour est celle des aflatoxines.

La France impose des teneurs maximales pour l'aflatoxine B1 dans certaines denrées ; pour la farine blanche, cette teneur est fixée à 3 µg/kg. Cependant, les études montrent que cette teneur est encore trop élevée.

La chaîne de grande distribution s'est donc imposée de n'utiliser que de la farine totalement exempte d'aflatoxines.

On se propose ici de vérifier par la technique d'Ouchterlony que la farine blanche livrée ne contient pas d'aflatoxine B1.

2.1. Matériel et réactifs

1 gel d'agarose en petite boîte de pétri

1 emporte pièce

1 micropipette délivrant 20 µL

antisérum anti-aflatoxines B1 noté « antiB1 »

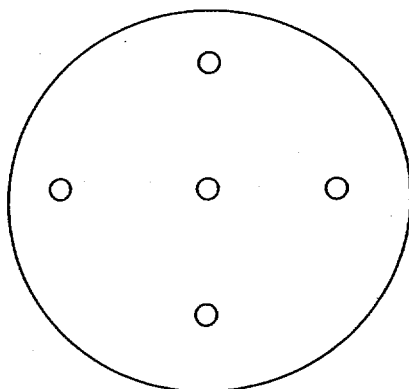
aflatoxines B1 noté « AflaB1 »

2 échantillons de la farine en solution à tester noté « F1 » et « F2 »

ochratoxine noté « Ochra »

2.2. Mode opératoire

Déposer 20 µL de chaque échantillon selon le modèle suivant :



Réservoir central :
anti-aflatoxine

Réservoirs périphériques :

1- aflatoxine

2- F1

3- ochratoxine

4- F2

Incuber le gel en atmosphère humide à 30°C pendant 48 heures.

2.3. Résultats

Préciser dans le compte rendu le rôle des dépôts de l'aflatoxine et de l'ochratoxine dans le gel.

3. CONTRÔLES BIOCHIMIQUES (27 points)

3.1 Contrôle de la quantité de chlorure de sodium ajoutée

Un excès chronique de sodium provoque l'hypertension artérielle et peut être à l'origine de nombreux accidents cardio-vasculaires. Les besoins minimum en chlorure de sodium sont de 2 g par personne et par jour. L'OMS préconise une dose maximale de 6 g par personne et par jour.

En 1999, l'enquête INCA (enquête INDividuelle de Consommation Alimentaire) révèle que la consommation journalière individuelle moyenne en France est de 10 g. Elle montre de plus que le pain est responsable de 25% à 30% de ces apports. L'extension du pétrissage intensifié, qui a réduit les temps de fermentation et affadi le pain, a conduit à augmenter les doses de sel. Ce sel atteint alors 2,4% de la masse de la farine, soit au moment du dosage des ingrédients 24 g par kg de farine.

En janvier 2002, le rapport AFSSA du groupe de travail sur le sel, réunissant professionnels de l'alimentation et spécialistes médicaux, recommande de réduire cette teneur de 25%. Il propose une réduction progressive d'environ 5% par an, pendant 5 ans, pour atteindre à l'échéance de 2007 18 g de sel ajouté par kg de farine.

Les professionnels se sont engagés à respecter cette recommandation. On se propose de contrôler la quantité de chlorure de sodium ajoutée dans une farine de blé type 45 en effectuant le dosage des ions chlorures par la méthode de Charpentier Volhard. Un premier dosage est réalisé sur une farine normale (avant addition de sel) et un second sur une farine dite « pré-mix », c'est à dire contenant le sel ajouté et les additifs autorisés.

3.1.1 Solutions et réactifs

Les solutions de farine ont été préparées de la manière suivante : la farine a été passée au four (50°C pendant 30 minutes) afin de la déshydrater. Puis on a pesé exactement 1,0 gramme de cette farine qu'on a dissout dans 100 mL d'eau désionisée.

nitrate d'argent (AgNO_3) à 4,0 mmol.L ⁻¹	(50 mL)
thiocyanate d'ammonium (KSCN) à 1,0 mmol.L ⁻¹	(100 mL)
Solution saturée d'alun de fer et d'ammonium	(10 mL)
Acide nitrique : disponible en distributeur	

3.1.2 Dosage des chlorures de la farine

Mode opératoire (2 essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire :
Prise d'essai = 10 mL de la solution de farine normale,
20 mL environ d'eau désionisée,
5 mL d'acide nitrique,
5 mL de solution de nitrate d'argent,
environ 1 mL de solution saturée d'alun de fer et d'ammonium.

Placer dans la burette la solution de thiocyanate d'ammonium. Verser en agitant constamment et en opérant rapidement jusqu'à obtenir une teinte orangée persistante.

Résultats

Compléter la feuille de résultats biochimie (**Annexe 2**).

Calculer le nombre de moles d'ions chlorure contenu dans 1 g de farine normale.

Donnée : CV de la méthode = 2,5%

3.1.3 Dosage des chlorures de la farine « pré-mix »

Mode opératoire (2 essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire :
Prise d'essai = 2 mL de la solution de farine « pré-mix »,
25 mL environ d'eau désionisée,
5 mL d'acide nitrique,
5 mL de la solution de nitrate d'argent,
environ 1 mL de solution saturée d'alun de fer et d'ammonium.

Doser par la solution de thiocyanate de la même manière que précédemment.

Résultats

Compléter la feuille de résultats biochimie (**Annexe 2**).

Calculer le nombre de moles d'ions chlorure contenu dans 1 g de farine pré-mix.

Le NaCl étant le seul additif source de chlorures, calculer la masse de NaCl ajoutée par kg de farine. Conclure.

Données :

$$M(\text{Cl}) = 35,5 \text{ g.mol}^{-1}$$

$$M(\text{Na}) = 23 \text{ g.mol}^{-1}$$

$$\text{CV de la méthode} = 2,5\%$$

3.2. Contrôle de l'activité amylasique lors de la panification

On se propose d'évaluer l'activité amylasique développée dans la pâte en cours de panification. Les amylases contenues dans les grains de blé provoquent l'hydrolyse de l'amidon en maltose au déclenchement de la germination. Lors de la panification, ce maltose est utilisé par la levure pour sa fermentation alcoolique. Une activité amylasique insuffisante ralentit la vitesse de fermentation et ne permet pas d'obtenir une pâte de qualité rhéologique satisfaisante.

3.2.1 Principe

L'action des amylases est évaluée en mesurant la quantité de glucides réducteurs présents après la fermentation lors d'une panification classique. Les glucides réducteurs réagissent en milieu alcalin et à chaud avec l'acide 3,5 dinitrosalicylique (3,5 DNS). On mesure l'apparition par colorimétrie à 530 nm d'un produit de la réaction, l'acide 3-amino-5-nitrosalicylique.

L'entreprise effectuant ce contrôle de l'activité amylasique a déterminé que la quantité de maltose présent dans une pâte fermentée doit être supérieure à 0,200 g par gramme de farine. Si la quantité de maltose est inférieure à cette valeur, l'entreprise procédera à l'addition d'amylase au cours du pétrissage.

3.2.2 Réactifs et préparation des solutions à doser

Réactif au 3,5 DNS : disponible en distributeur

Solution de glucose à 0,01 mol.L⁻¹

Extrait de pâte fermentée : **ont été extraits** les glucides d'une quantité de pâte correspondant à 1 gramme de farine. Cet extrait a été dilué dans 100 mL d'eau désionisée et est noté « EPF ».

« Contrôle » : préparer par pesée exacte de glucose anhydre (pilulier) (au 1/10 mg) 100 mL de solution de glucose à environ 0,005 mol.L⁻¹.

3.2.3 Mode opératoire

Gamme d'étalonnage

À partir de la solution de glucose à 0,01 mol.L⁻¹, préparer une gamme d'étalonnage de 6 tubes à essais, contenant de 0 à 10 µmol de glucose :

Solution étalon

Eau désionisée qsp 3 mL

Ajouter dans chaque tube 2 mL de réactif au 3,5 DNS.

Mélanger. Boucher les tubes avec du coton cardé.

Porter au bain thermostaté bouillant pendant exactement 5 min.

Refroidir dans un bain d'eau froide.

Ajouter 5 mL d'eau désionisée.

Homogénéiser et laisser reposer au moins 15 minutes.

Lire les absorbances à 530 nm.

Essais

Réaliser en double le dosage sur une prise d'essai de 1 mL d'extrait de pâte fermentée « EPF ».

Réaliser un dosage sur une prise d'essai de 1 mL de « Contrôle ».

Traiter dans les mêmes conditions et dans le même temps que la gamme d'étalonnage.

3.2.4 Résultats

Compléter la feuille de résultats biochimie (**Annexe 2**).

A l'aide de l'outil informatique, effectuer la régression linéaire et en donner les paramètres caractéristiques.

Calculer la concentration molaire du glucose du « Contrôle ». Conclure.

Calculer la concentration molaire en glucides réducteurs dans l'extrait de pâte fermentée.

Calculer la masse de maltose présente pour 1 gramme de farine dans la pâte fermentée.

Conclure.

Données :

$$M(\text{glucose}) = 180 \text{ g.mol}^{-1}$$

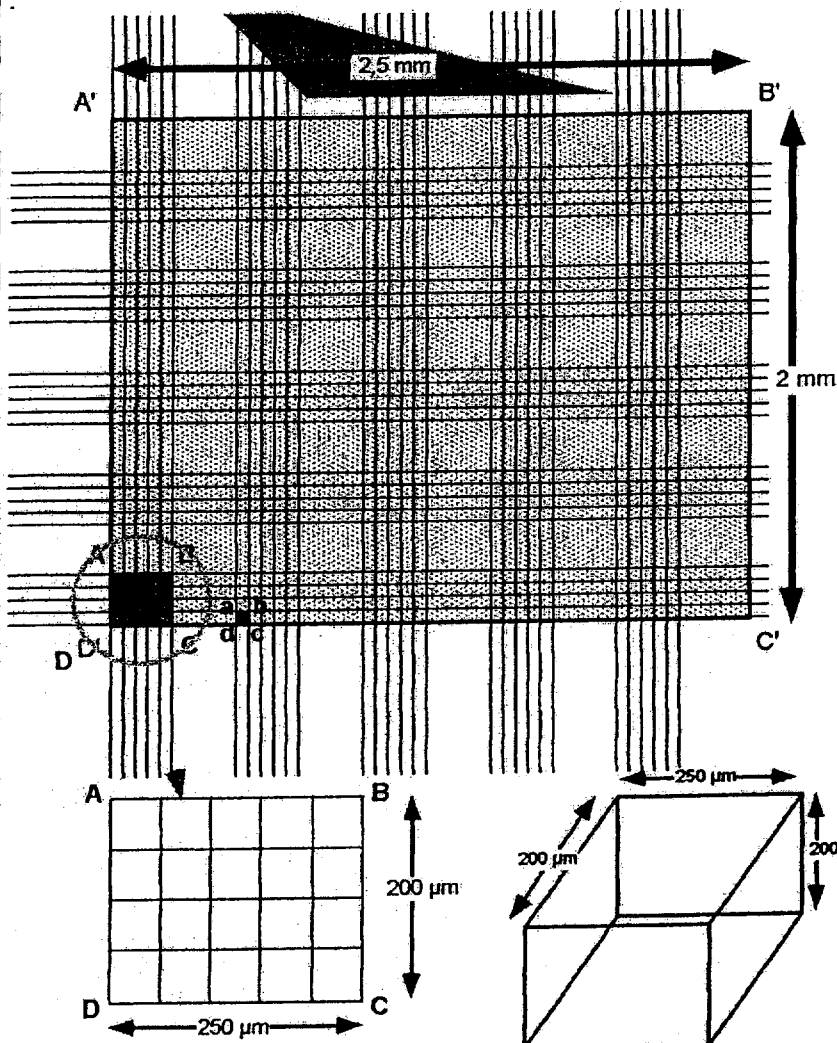
$$M(\text{maltose}) = 342 \text{ g.mol}^{-1}$$

$$\text{CV de la méthode} = 2\%$$

ANNEXE 1

Hématimètre de Malassez

Le quadrillage de l'hématimètre de Malassez est conçu de la façon suivante :



Il est constitué d'un grand rectangle (A'B'C'D') de :

- 2,5 mm de longueur
- 2 mm de largeur

Il est divisé en 100 rectangles égaux:
 - 25 rectangles sont clairs
 - 50 rectangles sont divisés en bandes

- 25 rectangles (ABCD) sont divisés en 20 petits carrés (abcd)

Lorsque la lamelle plane est déposée sur la plate-forme centrale, la distance entre cette plate-forme centrale et la face inférieure de la lamelle est de 0,2 mm.

La chambre parallélépipédique correspondant au grand rectangle a un volume total de :

$$V = 2,5 \cdot 2 \cdot 0,20 = 1 \text{ mm}^3$$

Le parallélépipède correspondant à chaque rectangle a un volume de :

$$V = 0,25 \cdot 0,20 \cdot 0,20 = 0,01 \text{ mm}^3$$

ANNEXE 2

À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

FEUILLE DE RÉSULTATS BIOCHIMIE

N° poste :

1. Contrôle de la quantité de chlorure de sodium ajoutée

1.1 Dosage des chlorures de la farine

	<i>Essai 1</i>	<i>Essai 2</i>
Volume équivalent (mL)		

1.2 Dosage des chlorures de la farine pré-mix

	<i>Essai 1</i>	<i>Essai 2</i>
Volume équivalent (mL)		

2. Contrôle de l'activité amylasique lors de la panification

Masse glucose pesée =

Tableau de colorimétrie :

Tubes	0	1	2	3	4	5	Contrôle	Essai 1	Essai 2
Solution de glucose à 0,01 mol.L ⁻¹ (mL)	0								
EPF (mL)									
Contrôle (mL)									
Eau désionisée (mL)	3								
DNS (mL)									
Eau désionisée (mL)									
Masse de glucose (µmol)									
A à 530 nm									

Résultats de la colorimétrie :