

|   |
|---|
| <p style="text-align: center;"><b>BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR</b><br/><b>QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES</b><br/><b>ET LES BIO-INDUSTRIES</b></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.

Documents à rendre avec la copie : Feuilles de résultats, pages 9/12 et 12/12

Ce sujet comporte 12 pages numérotées de 1 à 12.  
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 D'UNE MAYONNAISE

La plupart des autocontrôles pratiqués dans l'industrie alimentaire sont des contrôles microbiologiques et biochimiques. Pour s'assurer de la qualité des produits, ces tests sont effectués à différents stades de la fabrication, mais également sur des éléments de l'environnement de la production.

Ces contrôles revêtent une importance toute particulière lorsque les produits fabriqués sont très sensibles comme c'est le cas pour la mayonnaise.

### PREMIER JOUR (4 heures 30)

#### BIOCHIMIE (30 points)

Les industries des condiments réalisent régulièrement des contrôles biochimiques sur les matières premières et produits finis. Ces contrôles sont réalisés en particulier sur l'huile de tournesol réceptionnée (indice d'iode) et sur la mayonnaise (teneur en acide éthanoïque).

#### 1. DÉTERMINATION DE L'INDICE D'IODE DE L'HUILE DE TOURNESOL

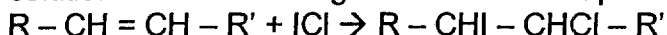
L'huile de tournesol est un mélange composé à 95% de triglycérides et 5% d'acide gras libres, de stérols, de cires et de diverses impuretés.

C'est une huile di-insaturée caractérisée par un indice d'iode compris entre 110 et 143.

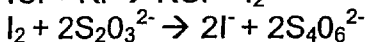
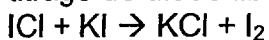
On se propose de vérifier l'indice d'iode d'une huile fraîchement réceptionnée.

##### 1.1 . Principe

Addition sur le corps gras, en solution dans du cyclohexane, d'un excès de mono-chlorure d'iode en solution dans un mélange d'acide éthanoïque et de tétrachlorure de carbone :



Détermination de l'excès de mono chlorure d'iode par addition d'iodure de potassium et d'eau : titrage de diode libérée par une solution titrée de thiosulfate de sodium :



## 1.2 . Réactifs

Eau désionisée

Iodure de potassium à 100g/L

Empois d'amidon

Solution de thiosulfate de sodium :  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3, 5\text{H}_2\text{O}$

$C = 0.2 \text{ mol.L}^{-1}$

Solvant : cyclohexane

Réactif de Wijs, contenant du mono-chlorure d'iode dans de l'acide éthanoïque

## 1.3. Mode opératoire

On réalisera deux essais sur l'huile de tournesol (notés E1 et E2) et un essai blanc (E0).

### 1.3.1. Préparation des échantillons d'huile de tournesol E1 et E2

Peser exactement dans chacune des fioles d'Erlenmeyer de bouchant émeri 250 mL environ 0,13 g d'huile de tournesol (masses  $m_1$  et  $m_2$  relevées).

Ajouter à l'éprouvette dans chaque fiole 20 mL de cyclohexane pour dissoudre la matière grasse (travail sous hotte et utilisation des gants).

Puis ajouter exactement 25 mL de réactif de Wijs. (travail sous hotte et utilisation des gants).

Boucher les fioles d'Erlenmeyer et les agiter doucement. Les placer à l'obscurité pendant 1 heure.

Ajouter ensuite à l'éprouvette 20 mL de la solution d'iodure de potassium et 150 mL d'eau désionisée dans chacune des fioles d'Erlenmeyer.

Doser avec la solution de thiosulfate de sodium jusqu'à ce que la couleur brune, due au diiode, passe au jaune paille.

Ajouter quelques gouttes d'empois d'amidon ; la solution devient bleue noirâtre et poursuivre le dosage jusqu'à la disparition de la couleur bleue et le virage à l'incolore. On relèvera les volumes  $V_1$  et  $V_2$  de thiosulfate de sodium.

Montrer les chutes de burette à l'examineur.

### 1.3.2. Préparation de l'essai blanc E<sub>0</sub>

Le blanc sera préparé dans les mêmes conditions que les essais.

On relèvera le volume  $V_0$  de thiosulfate de sodium.

Montrer la chute de burette à l'examineur.

## 1.4. Résultats

Compléter la feuille de résultats de l'annexe 1.

Calculer l'indice d'iode.

Conclure.

**Données :**

$$M(I) = 126,9 \text{ g.mol}^{-1}$$

$$C_{\text{thiosulfate de sodium}} = 0,10 \text{ mol.L}^{-1}$$

L'indice d'iode  $I_1$  est la masse de diiode, exprimée en gramme, qui se fixe par réaction d'addition sur les doubles liaisons de 100 g de corps gras.

$$I_1 = \frac{1}{2} C_{\text{thiosulfate de sodium}} \frac{M_{I_2}}{m} (V_0 - V_1) \times 100$$

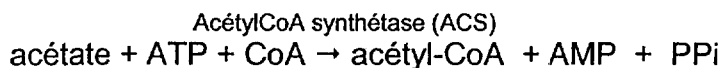
CV de la méthode = 2,5 %

## 2. DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN ACIDE ACÉTIQUE DE LA MAYONNAISE

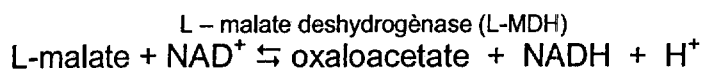
La mayonnaise contient environ 4% de vinaigre à 8% (V/V). Le vinaigre joue un rôle dans la valeur gustative du produit fini. Sa teneur en acide éthanoïque assure également une certaine "propreté microbiologique".

Le fabricant désire suivre la teneur en acide éthanoïque dans le produit fini par méthode enzymatique.

### 2.1. Principe



l'oxaloacétate nécessaire à la réaction précédente est obtenu par oxydation du malate selon la réaction suivante :



On mesure l'apparition du NADH,  $\text{H}^+$  à 340 nm.

### 2.2. Mode opératoire

#### 2.2.1 Préparation de la solution "S"

La solution "S" fournie a été obtenue de la manière suivante :

Une masse  $m = 5.0234\text{g}$  de mayonnaise préalablement homogénéisée est dispersée avec quelques gouttes d'eau désionisée. Après dispersion, la solution est transférée dans une fiole jaugée. On ajoute 50 mL d'eau désionisée. La fiole est placée au bain thermostaté à 60°C pendant 20 minutes pour assurer une séparation de phases.

A l'issue de ces 20 minutes, on ajuste au trait de jauge la fiole de 100 mL et on la place au réfrigérateur 20 minutes.

A la sortie du réfrigérateur, on filtre et on obtient le filtrat, appelé solution « S », qui servira pour le dosage enzymatique.

#### 2.2.2 Dosage de l'acide éthanoïque de la solution "S" et du contrôle "C"

Se reporter à l'annexe 2 (réactifs et mode opératoire).

Effectuer un essai sur la solution « S » et un essai sur le contrôle « C ».

La concentration en acide éthanoïque du contrôle sera communiquée au cours de l'épreuve.

### 2.3. Résultats

Compléter la feuille de résultats en annexe 1.

Calculer la variation d'absorbance :  $\Delta A = A_2 - A_0$  pour chaque cuve.

Calculer la variation d'absorbance :  $\Delta A' = A_1 - A_0$  pour chaque cuve.

Calculer la variation d'absorbance nette de chaque essai :

$$\Delta A_E = [(\Delta A - \Delta A')_{\text{essai}} / \Delta A_{\text{essai}}] - [(\Delta A - \Delta A')_{\text{blanc}} / \Delta A_{\text{blanc}}]$$

Etablir la formule littérale donnant la concentration massique de l'acide éthanoïque dans les solutions « S » et « C ». Il est fortement conseillé de faire un schéma opératoire de la préparation de la solution pour le dosage de l'essai.

Faire les applications numériques pour chacune des solutions.

Interpréter le résultat obtenu pour le contrôle.

Calculer la teneur en acide éthanoïque dans la mayonnaise exprimée en g pour 100 g (%). Conclure.

**Données :**

$\epsilon_{\text{NADH}}$  à 340 nm = 6300 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>.

M acide éthanoïque = 60,05 g.mol<sup>-1</sup>

CV de la méthode = 2,5 %

# MICROBIOLOGIE (30 points)

## 1. CONTRÔLE DE LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DE LA MAYONNAISE

Il s'agit de contrôler à l'expédition certaines caractéristiques du produit fini, afin de vérifier sa conformité aux critères microbiologiques en vigueur.

### 1.1. Matériel et réactifs

1 tube de 10 mL d'une dilution au 1/10 de la mayonnaise à analyser noté « M »  
2 tubes de 9 mL de Tryptone Sel notés « diluant »  
6 tubes de 15 mL et 6 tubes de 5 mL de géloses VRBL en surfusion (à demander à l'examineur)  
3 boîtes de géloses Baird Parker additionnées de jaune d'œuf au tellurite de potassium notées « BP »  
6 boîtes de Pétri stériles vides  
3 pipettes stériles de 1 mL  
1 étaleur stérile (ou billes de verre stériles)  
1 agitateur (vortex)  
1 étuve à 30°C  
1 étuve à 37°C

### 1.2. Préparation des échantillons

Une dilution au 1/10 de mayonnaise a été préparée en introduisant, de façon aseptique, 25 g de mayonnaise dans 225 mL de diluant.  
Préparer les dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  de cette solution de mayonnaise en Tryptone Sel (noté « diluant »).  
Montrer à l'examineur la réalisation d'une dilution.

### 1.3. Dénombrement des coliformes totaux

Ensemencer 1 mL de la solution « M » et 1 mL de chacune de ses dilutions avec des géloses VRBL dans la masse en double couche.  
Réaliser 2 essais par dilution.  
Incuber 24h à 30°C.

### 1.4. Dénombrement des Staphylocoques Présumés Pathogènes (SPP)

Ensemencer en répartissant au total 0,1 mL de la solution « M » à la surface de 3 boîtes de Pétri (notées « BP »).  
Incuber 48h à 37°C.

## **2. MISE EN ÉVIDENCE DU POUVOIR PATHOGÈNE DES STAPHYLOCOQUES PRÉSUMÉS PATHOGÈNES (SPP)**

Des analyses microbiologiques réalisées par le laboratoire de l'usine ont mis en évidence la présence de Staphylocoques Présumés Pathogènes (SPP) dans un lot de mayonnaise. Ces SPP ont été isolés sur gélose nutritive (boîte notée « G+n° ») et ont été cultivés en milieu liquide (tube noté « T+n° »). Le laboratoire souhaite confirmer ou infirmer le caractère pathogène des SPP par la recherche de trois enzymes spécifiques de *Staphylococcus aureus*.

### **2.1. Matériel et réactifs**

- 1 boîte notée « G+n° »
- 1 tube noté « T+n° »
- 1 tube à hémolyse contenant 0.5 mL de plasma de lapin noté « PL »
- 1 tube de gélose à l'ADN et au bleu de toluidine en surfusion (à demander à l'examineur)
- 1 petite boîte de Pétri (diamètre 55 mm)
- lame de verre
- 1 pipette stérile de 1 mL
- 1 tube en verre vide stérile
- réactif catalase
- pipettes Pasteur et poire
- 1 bain thermostaté à 100°C
- 1 étuve à 37°C

### **2.2. Test catalase**

Réaliser le test sur une colonie isolée sur « G+n° ».  
Montrer le résultat à un examinateur.  
Conclure.

### **2.3. Test coagulase**

Réaliser le test à partir du bouillon « T+n° » en suivant le protocole en annexe 3.  
Montrer le résultat à un examinateur.  
Conclure.

### **2.4. Test thermonucléase**

Réaliser le test à partir du bouillon « T+n° » en suivant le protocole en annexe 4.

### **3. ÉTUDE D'UN CONTAMINANT**

Un contaminant bactérien a été isolé dans une chambre froide de l'usine. Ce contaminant a été ensemencé sur gélose nutritive (boîte notée « C+n° »).

#### **3.1. Matériel et réactifs**

1 boîte notée « C+n° »  
matériel et réactifs de coloration  
matériel de microscopie  
matériels et réactifs des tests enzymatiques.

#### **3.2. Mode opératoire**

Réaliser une coloration de Gram sur la souche isolée sur « C+n° ». Observer au microscope cette coloration. Montrer à l'examineur le résultat obtenu.

Réaliser devant l'examineur le (ou les) test(s) utile(s) à l'orientation du germe.

Proposer par écrit une orientation du germe à identifier (compléter le document de l'annexe 5).

Demander par écrit les milieux et la micro-galerie nécessaires à l'identification de la souche (compléter le document de l'annexe 5).

Réaliser les ensemencements.



# ANNEXE 1

## À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE FEUILLE DE RÉSULTATS BIOCHIMIE

Nom :

Numéro de poste :

### 1. Détermination de l'indice d'iode de l'huile de tournesol

|                                  | Blanc   | Essai E1 | Essai E2 |
|----------------------------------|---------|----------|----------|
| Masse de la prise d'essai (en g) |         | $m_1 =$  | $m_2 =$  |
| Volume de thiosulfate (en mL)    | $V_0 =$ | $V_1 =$  | $V_2 =$  |

### 2. Détermination de la teneur en acide éthanoïque dans la mayonnaise

| Absorbance à 340 nm      | Blanc       | Solution « S » | Contrôle « C » |
|--------------------------|-------------|----------------|----------------|
| $A_0$                    |             |                |                |
| $A_1$                    |             |                |                |
| $A_2$                    |             |                |                |
| $\Delta A = (A_2 - A_0)$ |             |                |                |
| $\Delta A' (A_1 - A_0)$  |             |                |                |
| $\Delta A_E$             | <del></del> |                |                |

## ANNEXE 2

### DOSAGE ENZYMATIQUE DE L'ACIDE ACÉTIQUE

(d'après Enzytech)

#### RÉACTIF :

Solution 1 : tampon triethanolamine, pH = 8,4, acide malique, sulfate de magnésium (stabilisant)

Solution 2 : ATP, CoA, NAD

Solution 3 : L-malate deshydrogénase ; citrate synthétase ; sulfate d'ammonium

Solution 4 : acétyl CoA synthétase

#### CONDITIONS DE MESURE :

Longueur d'onde : 340 nm

Trajet optique : 1 cm

Température : 20 à 25°C

Lire contre l'eau désionisée ou l'air.

#### RÉALISATION DU TEST :

| Introduire dans les cuves  | Blanc    | Essai    |
|--|----------|----------|
| Solution 1   | 1,000 mL | 1,000 mL |
| Solution 2   | 0,200 mL | 0,200 mL |
| Echantillon à analyser   | 0 mL     | 0,100 mL |
| Eau désionisée   | 2,000 mL | 1,900 mL |
| Mélanger. Lire l'absorbance $A_0$ .                                  |          |          |
| Ajouter :  |          |          |
| Solution 3   | 0,010 mL | 0,010 mL |
| Mélanger. Lire l'absorbance $A_1$ après 3 minutes minimum d'attente. |          |          |
| Ajouter :  |          |          |
| Solution 4   | 0,020 mL | 0,020 mL |
| Mélanger.  |          |          |
| Attendre 15 minutes puis lire l'absorbance $A_2$ .                   |          |          |

## ANNEXE 3

### TEST COAGULASE

Introduire 0.5 mL du bouillon « T+n° » dans le tube à hémolyse contenant 0.5 mL de plasma de lapin noté « PL ».

Incuber le tube 2 h à 37°C.

Lire le résultat :

- en inclinant le tube, la présence d'un coagulum révèle le caractère coagulase+ de la souche analysée ;
- en inclinant le tube, l'absence d'un coagulum révèle le caractère coagulase- de la souche analysée.

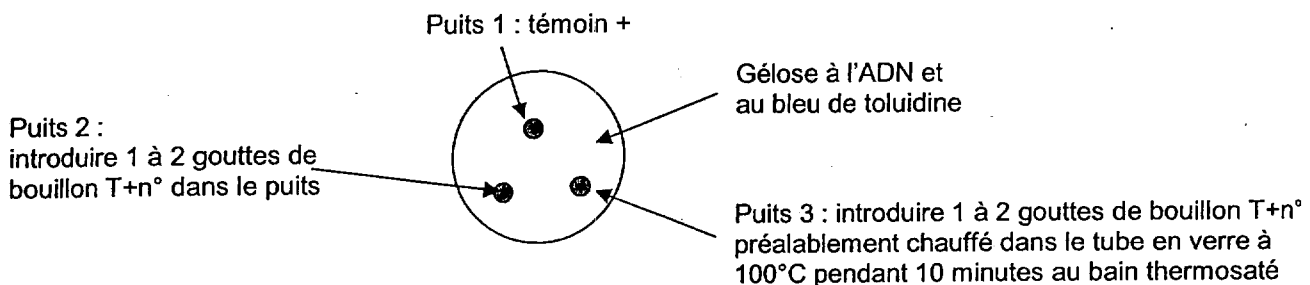
## ANNEXE 4

### TEST THERMONUCLEASE

Couler le milieu à l'ADN et au bleu de toluidine dans la petite boîte de Pétri.

Après solidification, réaliser 3 puits en utilisant un emporte-pièce fourni par le centre.

Ensemencer les puits selon le schéma ci-dessous :



Incuber 24h à 37°C (sans retourner la boîte).

Lire le résultat :

- la présence d'un halo rose autour du puits montre la dégradation de l'ADN et révèle le caractère nucléase+ de la souche analysée ;
- l'absence d'un halo rose autour du puits révèle le caractère nucléase- de la souche analysée.

## ANNEXE 5

### À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE DOCUMENT MICROBIOLOGIE

Numéro du poste :

Numéro de la souche :

Observation microscopique :

Résultat du ou des tests enzymatiques :

Orientation proposée :

Milieux nécessaires à l'identification :