

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR**  
**QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES**  
**ET LES BIO-INDUSTRIES**

**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 9/11 et 10/11.

Ce sujet comporte 11 pages numérotées de 1 à 11.  
Assurez-vous qu'il est complet dès que le sujet vous est remis.

# BTS QUALITÉ DES LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

SESSION 2007

U52 – Techniques d'analyses et de contrôles

## CONTRÔLE DE QUALITÉ DU VIN

Le vin est, selon sa définition légale, « le produit de la fermentation du raisin frais ou du jus de raisin frais ». Il s'agit d'un produit biologique issu d'une fermentation alcoolique menée par des levures, suivie d'une fermentation malolactique bactérienne.

PREMIER JOUR (4 heures30)

### BIOCHIMIE (25 points)

L'acidité est une des caractéristiques essentielles du vin. Elle résulte de nombreux facteurs, en particulier la présence de gaz dissous (dioxyde de carbone et dioxyde de soufre) et de nombreux acides organiques.

Ces acides organiques peuvent être naturellement présents dans le raisin. Une fois la fermentation alcoolique terminée, le vin présente un excès d'acidité dû à ces différents acides : acide tartrique (biologiquement stable), acide malique, acide citrique.

Lors de la fermentation malolactique, l'acide malique (diacide) est transformé en acide lactique (monoacide). L'acidité diminue et le vin devient plus moelleux.

En parallèle de la fermentation malolactique, beaucoup de bactéries lactiques transforment l'acide citrique en acide éthanoïque ce qui augmente l'acidité volatile du vin.

Accidentellement, l'acide tartrique peut être attaqué par certaines bactéries lactiques qui le décomposent en acide lactique avec augmentation de l'acidité volatile : c'est la maladie de la « tourne ».

#### 1. DOSAGE DE L'ACIDE CITRIQUE

La concentration en acide citrique des vins est variable. Elle est généralement comprise entre 0 à 0,5 g.L<sup>-1</sup>.

L'acide citrique est parfois ajouté à certains vins pour :

- remonter l'acidité fixe (surtout pour les vins blancs secs) et ainsi améliorer l'acidité gustative du vin ;
- fixer le fer ferrique dans un complexe afin de traiter la « casse ferrique ».

## 1.1. Principe

### 1.1.1. Préparation de l'échantillon de vin à doser

Le dosage sera réalisé sur un échantillon de distillat obtenu selon le mode opératoire suivant :  
E = 25 mL de vin sont déposés sur une résine échangeuse d'anions.

L'acide citrique est élué sélectivement par une solution d'hydroxyde de sodium à 2 mol.L<sup>-1</sup>.

Il est alors transformé par oxydation ménagée en acétone et en éthanal ; une mole d'acide citrique donne une mole d'éthanal et une mole d'acétone.

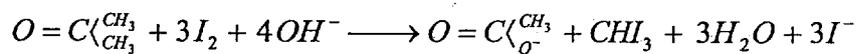
Acétone et éthanal sont séparés par distillation ; on obtient un distillat appelé « D ».

L'acétone du distillat est dosé par iodométrie.

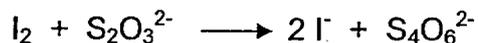
### 1.1.2. Principe du dosage iodométrique

Il s'agit d'un dosage en retour.

En milieu basique, l'acétone est oxydée par un excès de diiode selon l'équation :



Le diiode n'ayant pas réagi est dosé par une solution de thiosulfate selon l'équation :



## 1.2. Matériel et réactifs

Distillat à doser « D » présenté en flacon étanche

Solution d'hydroxyde de sodium à 5 mol.L<sup>-1</sup> notée « NaOH »

Solution de diiode à environ 0,01 mol.L<sup>-1</sup> notée « diiode »

Solution d'acide sulfurique au 1/5 notée « H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1/5 »

Solution de thiosulfate à environ 0,03 mol.L<sup>-1</sup> notée « thiosulfate »

« thiodène » ou « empois d'amidon »

Eprouvette de 10 mL

Fiole d'Erlenmeyer

Pipette jaugée de 25 mL

Burette

## 1.3. Mode opératoire

### 1.3.1. Essais

Deux essais seront réalisés.

Introduire dans une fiole d'Erlenmeyer bouchant émeri contenant 10 mL du distillat « D » :

- 5 mL d'hydroxyde de sodium,

- 25 mL de solution de diiode.

Laisser en contact 20 minutes à l'obscurité.

Ajouter 8 mL d'acide sulfurique et titrer l'excès de diiode par une solution de thiosulfate . La visualisation à l'approche du virage peut être facilitée par addition de thiodène ou d'empois d'amidon.

Soient V<sub>1</sub> et V<sub>2</sub> les volumes de thiosulfate versés.

Ajouter 8 mL d'acide sulfurique et titrer l'excès de diode par une solution de thiosulfate . La visualisation à l'approche du virage peut être facilitée par addition de thiodène ou d'empois d'amidon.

Soient  $V_1$  et  $V_2$  les volumes de thiosulfate versés.

### 1.3.2. Témoin

Réaliser 1 témoin :

Faire dans les mêmes conditions un dosage à blanc en remplaçant le volume de distillat par 10 mL d'eau désionisée.

Soit  $V_t$  le volume de thiosulfate versé.

## 1.4. Résultats

Compléter l'annexe 1 (à rendre avec la copie).

Établir, à partir du témoin, la formule littérale de la concentration molaire de la solution de diode utilisée.

Etablir la formule littérale donnant la concentration massique en acide citrique du vin étudié. Effectuer l'application numérique.

Calculer la concentration massique en acide citrique du vin testé.

Données :

la concentration exacte de la solution de thiosulfate sera fournie par le centre.

$M_{\text{acide citrique}} = 192,12 \text{ g.mol}^{-1}$

$CV = 2 \%$  ou  $s = 0,003 \text{ g.L}^{-1}$

Conclure par rapport aux concentrations d'acide citrique généralement retrouvées dans les vins.

## 2. DOSAGE DU FER

Le vin contient toujours du fer en faibles concentrations (2 à 5  $\text{mg.L}^{-1}$ ). Dans les vins maintenus à l'abri de l'air, le milieu étant réducteur, le fer est entièrement à l'état ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Dans les vins renfermant du dioxygène dissous à la suite d'une aération, le fer s'oxyde et passe à l'état ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) qui est capable de précipiter la matière colorante « casse bleue » ou l'acide phosphorique « casse blanche ». Ces deux phénomènes forment la casse ferrique pouvant apparaître lorsque la teneur en fer atteint 10 à 20  $\text{mg.L}^{-1}$ .

La méthode de référence du dosage du fer est la spectrophotométrie d'absorption atomique. Il existe par ailleurs une méthode usuelle de dosage qui consiste, après minéralisation du vin par le peroxyde d'hydrogène, à doser le fer par colorimétrie en présence d'orthophénantroline.

### 2.1. Préparation de l'échantillon de vin à doser

Le dosage sera réalisé sur un échantillon de minéralisat de vin obtenu selon le mode opératoire suivant :

E = 50 mL de vin a été minéralisé en présence de peroxyde d'hydrogène, d'acide chlorhydrique et d'hydroxyde d'ammonium. La totalité du minéralisat obtenu a été transférée dans une fiole jaugée de volume U = 10 mL et complétée à U mL.

Ce minéralisat est appelé « M ».

## 2.2. Dosage du fer du minéralisat de vin

### 2.2.1. Matériel et réactifs

Minéralisat de vin noté « M »

Solution étalon de fer à  $0.200 \text{ g.L}^{-1}$  notée « Fer à  $0.200 \text{ g/L}$  »

Solution d'hydroquinone à  $2 \text{ g.L}^{-1}$  notée « Hydroquinone »

Solution d'orthophénantroline à  $5 \text{ g.L}^{-1}$  notée « Orthophénantroline »

Fiole jaugée de 100 mL

Pipette jaugée de 5 mL

Semi-microcuvettes visibles + portoir

Pipette jaugée de 1 mL

Pipette automatique P1000 + cônes bleus

### 2.2.2. Mode opératoire

Colorimétrie : Dans chaque cuve, introduire :

X mL de la solution de fer (étalon ou solution à doser)

eau désionisée qsp 1 mL

0,2 mL de solution d'hydroquinone

Agiter et laisser reposer 10 minutes.

0,4 mL de réactif à l'orthophénantroline

Agiter et laisser reposer 20 minutes.

Gamme d'étalonnage :

- à partir de la solution de fer à  $0.200 \text{ g.L}^{-1}$ , préparer une solution étalon à  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$  ;

- avec cette solution à  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , réaliser une gamme d'étalonnage (6 cuvettes) contenant de 0 à  $10 \mu\text{g}$  de fer par cuvette.

Essais :

Réaliser deux essais sur le minéralisat « M » selon le même protocole.

Introduire 1 mL de minéralisat dans la cuvette.

### 2.2.3. Compte-rendu

Expliquer la préparation de la solution à  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Compléter le tableau de colorimétrie de l'annexe 1.

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

Déterminer la concentration massique en fer dans le minéralisat étudié en  $\text{mg.L}^{-1}$ .

Données : CV = 3 % ou s =  $0,12 \text{ mg.L}^{-1}$

Déterminer la concentration massique en fer dans le vin analysé en  $\text{mg.L}^{-1}$ .

## 3. CONCLUSION GÉNÉRALE

Au vu des résultats obtenus, proposer la mesure qui devrait être prise afin d'améliorer la qualité du vin testé.

## **IMMUNOLOGIE (10 points)**

Lors du procédé de fabrication du vin, une étape de soutirage par filtration permettant l'élimination des levures est nécessaire afin d'assurer la stabilité microbiologique du vin.

Afin de faciliter cette étape, certains producteurs réalisent préalablement une étape appelée collage. Il s'agit d'éliminer des débris cellulaires et des protéines en ajoutant au vin une quantité importante de protéines comme l'albumine (addition de blanc d'œuf) ou du gluten (addition d'un hydrolysate enzymatique du gluten obtenu à partir de farine). Ces protéines réagissent avec les colloïdes et les tanins pour former des floculats qui sédimentent au fond des cuves et qui seront éliminés lors du passage du vin sur des presses.

Le vin peut être ensuite plus aisément filtré.

La présence résiduelle de ces protéines utilisées pour le collage du vin doit être étudiée et quantifiée afin d'évaluer le risque que présente le produit pour les personnes allergiques (albumine de l'œuf) ou intolérantes (gluten).

### **1. MATÉRIEL ET RÉACTIFS**

Boîte de gel d'agarose à 1%

Echantillons de vin à analyser notés « V<sub>1</sub> » et « V<sub>2</sub> »

Sérum anti gluten noté « Ac anti gluten »

Sérum anti albumine de poule noté « Ac anti albumine »

Emporte pièce pour creuser les puits

Pipette automatique P20 ou P50 + cônes jaunes

### **2. MODE OPÉRATOIRE**

#### **2.1. Préparation des puits**

Creuser les puits à l'aide d'un emporte pièce selon le gabarit fourni en annexe 2.

#### **2.2. Répartition des réactifs**

Déposer 5 µL par puits.

Choisir une disposition permettant de vérifier la présence des différentes protéines utilisables pour le collage dans le vin à tester.

#### **2.3. Diffusion**

Mettre en chambre humide à température ambiante pendant 24-48 heures.

### **3. COMPTE-RENDU**

3.1. Donner le nom de la technique utilisée.

3.2. Compléter le gabarit (Annexe 2) en identifiant clairement la nature et la localisation des différents dépôts.

## **MICROBIOLOGIE (25 points)**

Les levures et les bactéries sont responsables des étapes de transformation conduisant au vin. Parmi celles-ci, on trouve des bactéries lactiques (bactéries à Gram positif) et des bactéries acétiques (bactéries à Gram négatif).

L'analyse microbiologique des vins et des moûts correspond à la détection, la différenciation et le dénombrement des micro-organismes. Quelques unes de ces analyses sont abordées dans le sujet.

### **1. DÉNOMBREMENT DES LEVURES VIVANTES D'UN VIN BLANC**

#### **1.1. Matériel**

1 tube de 5 mL de « vin blanc + n° » dans la glace  
1 tube contenant 0,5 mL de « bleu de Funk »  
6 tubes de 9 mL d'eau physiologique stérile  
6 géloses Sabouraud-chloramphénicol en grande boîte de Pétri notées « Sabouraud »  
1 hématimètre de Malassez  
1 compte globules  
6 pipettes stériles de 1 mL ou équivalent  
billes de verre stériles ou râteau stérile  
pipettes Pasteur stériles

#### **1.2. Numération en hématimètre de Malassez**

A partir du tube noté « vin blanc + n° », réaliser une dilution au  $\frac{1}{2}$  en bleu de méthylène de Funk. Attendre 5 minutes.

Dénombrer les levures vivantes de cette dilution en hématimètre de Malassez (Annexe 3).

Préciser dans le compte-rendu l'aspect des cellules vivantes.

Montrer à un examinateur :

- la mise en hématimètre,
- un champ microscopique mis au point ainsi que la valeur du nombre de levures vivantes dénombrées dans ce champ.

Déterminer le nombre de levures vivantes par mL de vin blanc.

#### **1.3. Dénombrement en milieu solide**

En fonction des résultats de la numération précédente, déterminer les trois dilutions à ensemercer pour dénombrer les levures vivantes du vin blanc, en milieu solide par une technique en surface et en double essai.

Justifier sur le compte-rendu le choix des dilutions à ensemercer.

Montrer à un examinateur la réalisation d'une dilution.

Réaliser ce dénombrement et incubé les boîtes pendant 48 heures à 30°C.

## **2. OBSERVATION DES MICRO-ORGANISMES PRESENTS DANS UN VIN BLANC**

Un essai de tenue à l'air est réalisé à partir d'un vin blanc. Il s'agit de placer un échantillon de vin dans une fiole d'Erlenmeyer stérile bouché par un coton et de le laisser trois jours à température ambiante.

### **2.1. Matériel et réactifs**

1 tube de l'échantillon de vin noté « V + n° » dans la glace  
lame de verre  
pipettes Pasteur stériles  
colorants pour la coloration de Gram.

### **2.2. Manipulation et compte-rendu**

Décrire l'aspect du tube noté « V+n° ».  
Réaliser une coloration de Gram.  
Montrer un champ microscopique après rédaction du compte-rendu à un examinateur.  
Proposer une orientation pour chacun des micro-organismes observés.  
Conclure sur une contamination éventuelle du vin blanc analysé.

**ANNEXE 1**

**À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE**

**FEUILLE DE RÉSULTATS BIOCHIMIE**

Candidat n°

Dosage de l'acide citrique

Essai 1		Essai 2		Témoin	
$V_1 =$	mL	$V_2 =$	mL	$V_T =$	mL

Dosage du fer

Tube								
V solution étalon à $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (mL)								
V minéralisat « M » (mL)								
V eau désionisée (mL)								
V hydroquinone (mL)								
V orthophénantroline (mL)								
Masse de fer ( $\mu\text{g}$ )								
Absorbance à 490 nm								

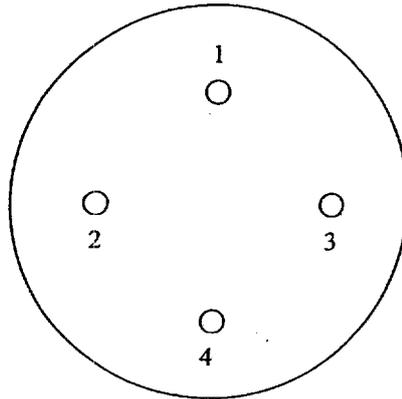
ANNEXE 2

À COMPLÉTER ET À RENDRE AVEC LA COPIE

Candidat n°

Etude des résidus de protéines

Gabarit :



Nature des dépôts :

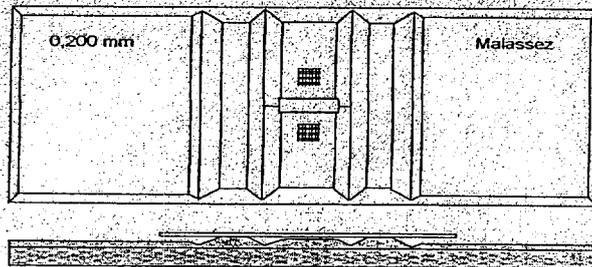
1 :

2 :

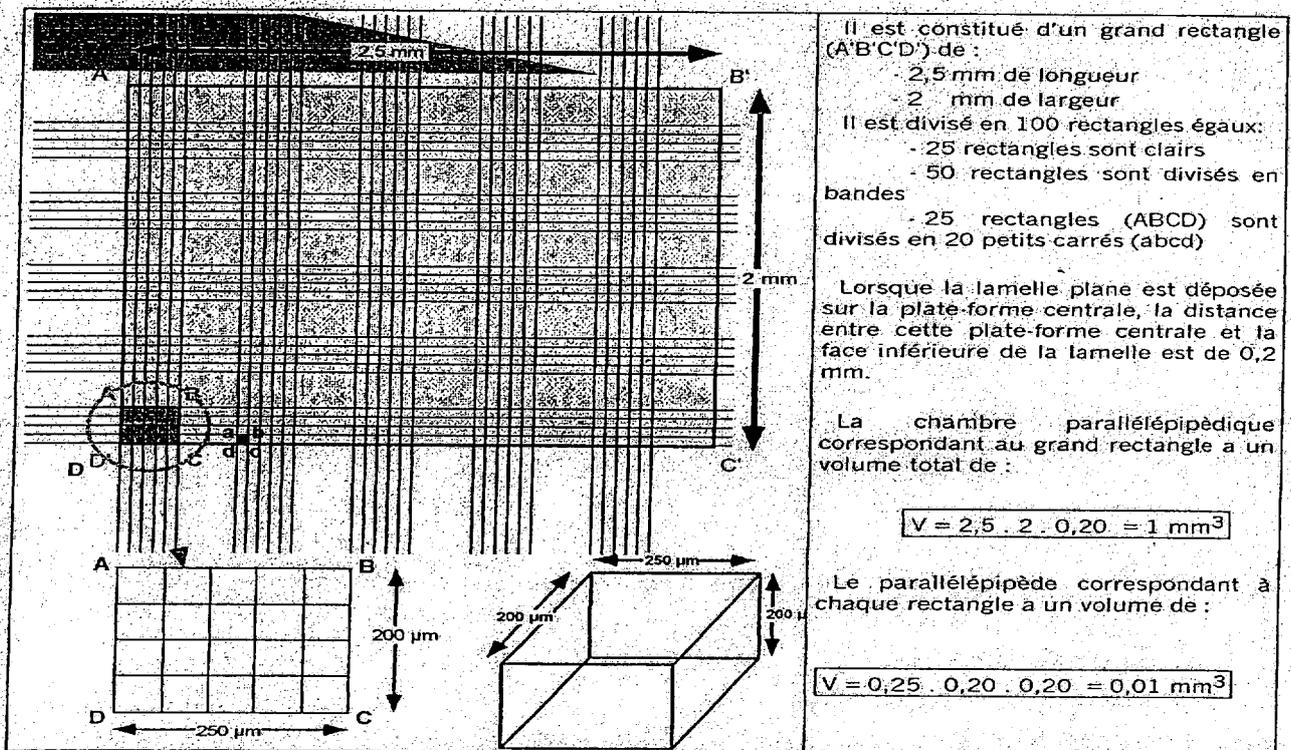
3 :

4 :

# Hématimètre de Malassez



- C'est une épaisse lame de verre, creusée de rigoles qui délimitent des plates-formes :
- deux plates-formes latérales élevées qui supporteront une lamelle épaisse et plane
  - une plate-forme centrale légèrement abaissée, sur laquelle est gravé un quadrillage (ou deux quadrillages)
- Le quadrillage de l'hématimètre de Malassez est conçu de la façon suivante :



<p><b>BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR</b></p> <p><b>QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES</b></p> <p><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

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 »

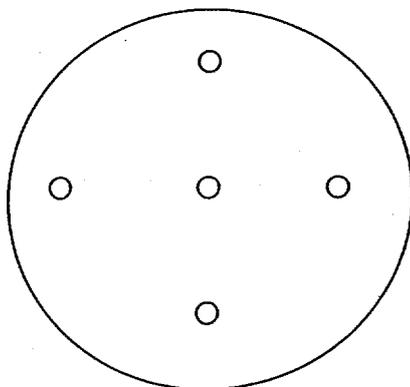
aflatoxines B1 noté « AflaB1 »

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 ( $\text{AgNO}_3$ ) à 4,0 mmol.L <sup>-1</sup>	(50 mL)
thiocyanate d'ammonium ( $\text{KSCN}$ ) à 1,0 mmol.L <sup>-1</sup>	(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 :

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

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

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<sup>-1</sup>

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<sup>-1</sup>.

### 3.2.3 Mode opératoire

#### Gamme d'étalonnage

À partir de la solution de glucose à 0,01 mol.L<sup>-1</sup>, 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 :

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

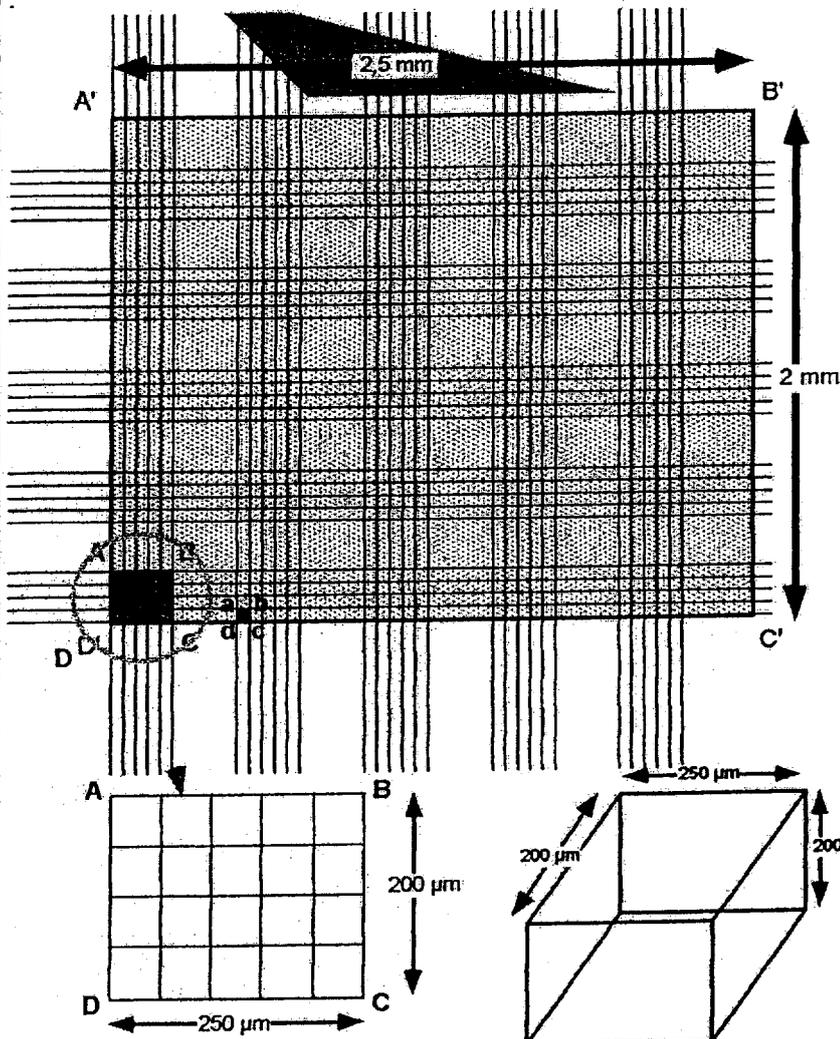
$$M(\text{maltose}) = 342 \text{ g.mol}^{-1}$$

$$\text{CV de la méthode} = 2\%$$

# 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 <sup>-1</sup> (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 :

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

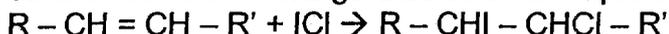
L'huile de tournesol est un mélange composé à 95% de triglycérides et 5% d'acide gras libres, de stérols, de cires et de diverses impuretés.

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

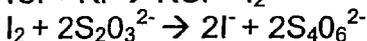
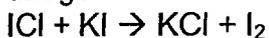
On se propose de vérifier l'indice d'iode d'une huile fraîchement réceptionnée.

##### 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 $E_0$

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.

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

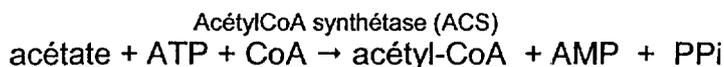
CV de la méthode = 2,5 %

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

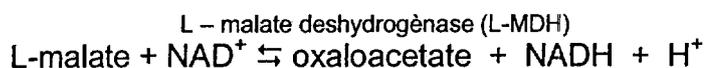
La mayonnaise contient environ 4% de vinaigre à 8% (V/V). Le vinaigre joue un rôle dans la valeur gustative du produit fini. Sa teneur en acide éthanoïque assure également une certaine "propreté microbiologique".

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 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.

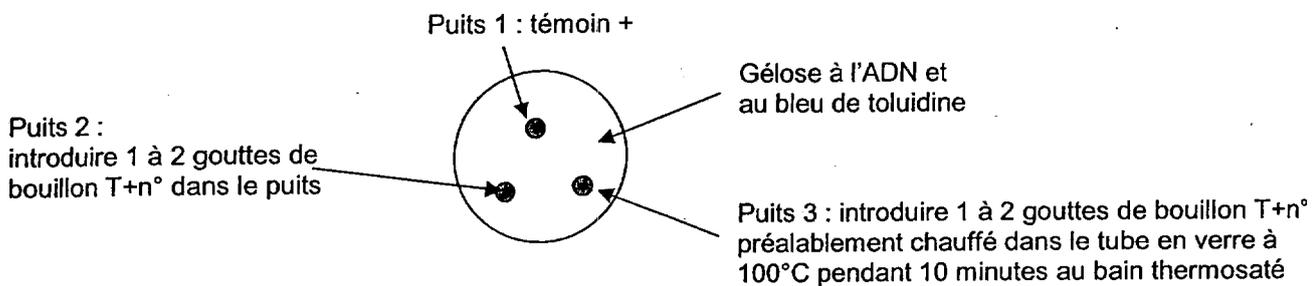
## ANNEXE 4

### 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 :

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

**U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES**

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

**DEUXIÈME JOUR**

**Durée : 1 heure 30**

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

Tout autre document est interdit

Ce sujet comporte 5 pages numérotées de 1 à 5.  
Assurez-vous qu'il est complet dès qu'il vous est remis.

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

**U52 – TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE CONTRÔLE**

**CONTRÔLE QUALITÉ EN BOULANGERIE**

**DEUXIÈME JOUR (1 heure 30)**

**1. CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES**

**1.1. Dénombrement en surface du levain**

Compter le nombre de colonies par boîte.

Rassembler les résultats dans un tableau.

Calculer le nombre de levures /mL de levain à l'aide de la formule Afnor (**Annexe 1**).

Conclure.

Rappel :

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.

**1.2. Identification d'une souche productrice d'aflatoxines**

Cette souche a été isolée du site de stockage du blé et est présentée sur gélose Sabouraud/chloramphénicol notée **S+N°**.

Réaliser les études macroscopique et microscopique de cette souche.

Montrer un champ microscopique à l'examineur.

Conclure quant à l'identité de la souche, à l'aide de l'**Annexe 2**.

## 2. CONTRÔLES IMMUNOLOGIQUES DE LA FARINE

La chaîne de distribution s'est imposée de n'utiliser que la farine exempte totalement d'aflatoxines B1.

Analyser les résultats obtenus et conclure .

Rappel : **Réservoir central :**  
anti-aflatoxine

**Réservoirs périphériques :**

- 1- aflatoxine
- 2- F1
- 3- ochratoxine
- 4- F2

## ANNEXE 1

### Formule de la norme AFNOR

$$N = \frac{\Sigma C}{V (n_1 + 0,1 n_2) d}$$

$\Sigma C$  est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives dont au moins une contient au minimum 15 colonies et au maximum 300.

$n_1$  est le nombre de boîtes retenues à la première dilution.

$n_2$  est le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.

$d$  est la dilution correspondant à la première dilution retenue.

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

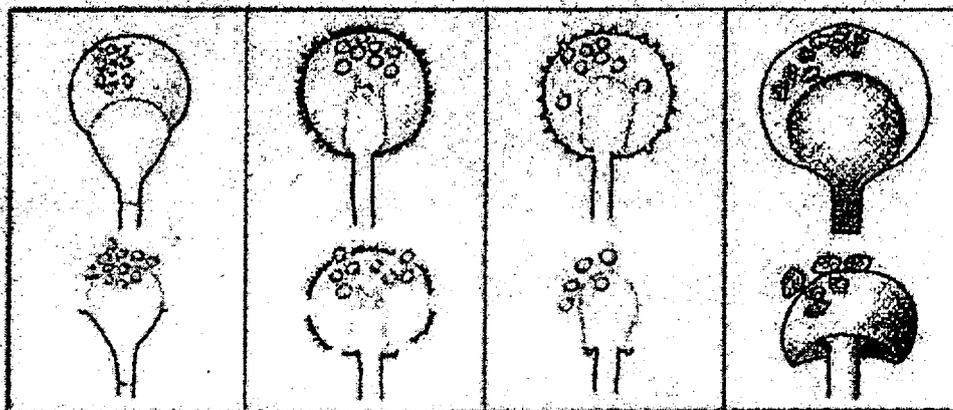
Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs.

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

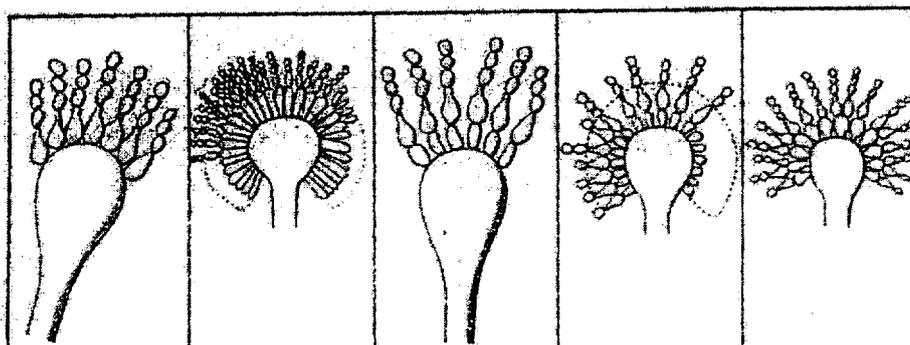
## ANNEXE 2

### DOCUMENT D'IDENTIFICATION DES MOISSISSURES

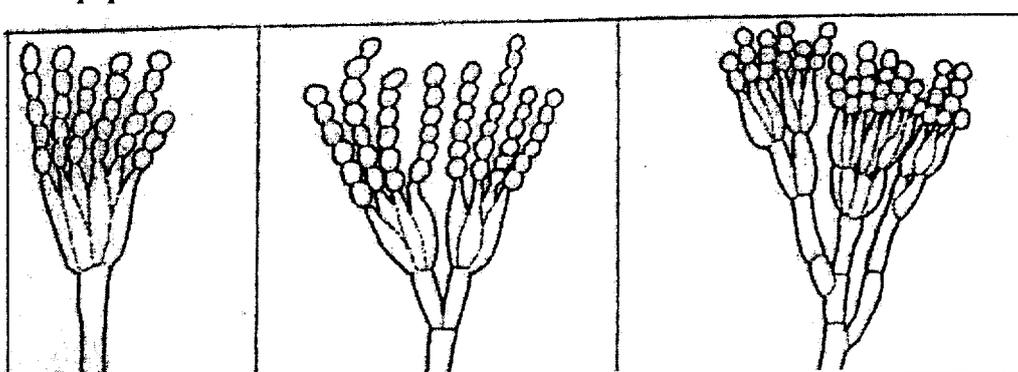
Aspect microscopique de différentes mucorales :



Aspect microscopique de différents *Aspergillus* :



Aspect microscopique de différents *Penicillium* :



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

**U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES**

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

**DEUXIÈME JOUR**

**Durée : 1 heure 30**

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

Tout autre document est interdit

Ce sujet comporte 3 pages, numérotées de 1 à 3.  
Assurez-vous qu'il est complet dès qu'il vous est remis.

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

**SESSION 2007**

**U52 – Techniques d'analyses et de contrôles**

**CONTRÔLE DE QUALITÉ DU VIN**

**DEUXIÈME JOUR (1 heure 30)**

## **IMMUNOLOGIE**

1. Représenter sous la forme d'un schéma les résultats obtenus.
2. Analyser les résultats obtenus.
3. Conclure.

## **MICROBIOLOGIE**

### **DÉNOMBREMENT DES LEVURES VIVANTES D'UN VIN BLANC**

Calculer le nombre de levures vivantes par mL de vin blanc (Annexe 4).  
Exprimer le résultat en tenant compte de la variabilité analytique de la méthode de dénombrement.  
Comparer le résultat obtenu avec le résultat du dénombrement en cellule de Malassez.

## ANNEXE 4

### EXTRAIT DE LA NORME NF ISO 7218/A1 DE DÉCEMBRE 2001

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

Pour qu'un résultat soit valable, on estime en général qu'il est nécessaire de compter les colonies sur au moins 1 boîte contenant au minimum 15 colonies [colonies en totalité, colonies caractéristiques ou colonies répondant aux critères d'identification ou de confirmation (9.3.5.3)].

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

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

où

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

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

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

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

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

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

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

Exprimer le résultat comme suit :

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

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

Si les deux boîtes, au niveau de l'échantillon pour essai (produits liquides) ou de la suspension mère (autres produits) ou de la première 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 :

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

où

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

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

$n$  le nombre de boîtes retenues ;

$d$  le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

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

**U52 – TECHNIQUES D'ANALYSES ET DE CONTRÔLES**

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

**DEUXIÈME JOUR**

**Durée : 1 heure 30**

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

Tout autre document est interdit.

Ce sujet comporte 3 pages numérotées de 1 à 3.  
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

### MICROBIOLOGIE

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

Les critères microbiologiques admis sur le produit fini sont les suivants :

Flore mésophile aérobie	$m = 3 \cdot 10^5$ UFC/g
Coliformes totaux	$m = 10^3$ UFC/g
Coliformes thermotolérants	$m = 1$ UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	$m = 10^2$ UFC/g
<i>Salmonella</i>	absence dans 25g
Germes anaérobies sulfite-réducteurs	$m = 10$ UFC/g

##### 1.1. Dénombrement des coliformes totaux

Compter les colonies présentes sur les différentes boîtes et rendre les résultats sous forme de tableau.

Remarque : choisir, si possible, les boîtes qui contiennent entre 10 et 300 colonies.

Calculer le nombre de bactéries par gramme de mayonnaise selon la formule recommandée par la norme AFNOR :

$$N = \frac{\Sigma C}{V (n_1 + 0.1n_2) d}$$

$\Sigma C$  = somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de 2 dilutions successives dont au moins une contient au minimum 15 colonies et au maximum 300 ;

$n_1$  : nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

$n_2$  : nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

$d$  : dilution correspondant à la première dilution retenue ;

$V$  : volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en mL.

Rappel : L'analyse a été réalisée sur une dilution au 1/10 de mayonnaise.

Comparer aux critères microbiologiques. Conclure.

## 1.2. Dénombrement des SPP

Compter les colonies caractéristiques des SPP présentes sur les différentes boîtes et rendre les résultats sous forme de tableau.

Remarque : les colonies caractéristiques des SPP, sur le milieu utilisé, sont des colonies noires, brillantes, convexes, entourées d'un halo d'éclaircissement, à l'intérieur duquel peut apparaître une zone opaque.

Calculer le nombre de bactéries par gramme de mayonnaise selon la formule recommandée par la norme AFNOR.

Rappel : L'analyse a été réalisée sur une dilution au 1/10 de mayonnaise.

Comparer aux critères microbiologiques. Conclure.

## 2. MISE EN ÉVIDENCE DU POUVOIR PATHOGÈNE DES SPP

### 2.1. Test thermonucléase

Lire la boîte (protocole en annexe 4)

Conclure.

### 2.2. Conclusion

Les SPP analysés ont un pouvoir pathogène si les tests enzymatiques réalisés confirment leurs caractères catalase+, coagulase+ et thermonucléase+.

Conclure quant aux SPP analysés.

## 3. ÉTUDE D'UN CONTAMINANT

Réaliser la lecture de la micro-galerie et des milieux ensemencés.

Conclure sur l'identification de la bactérie contaminante.

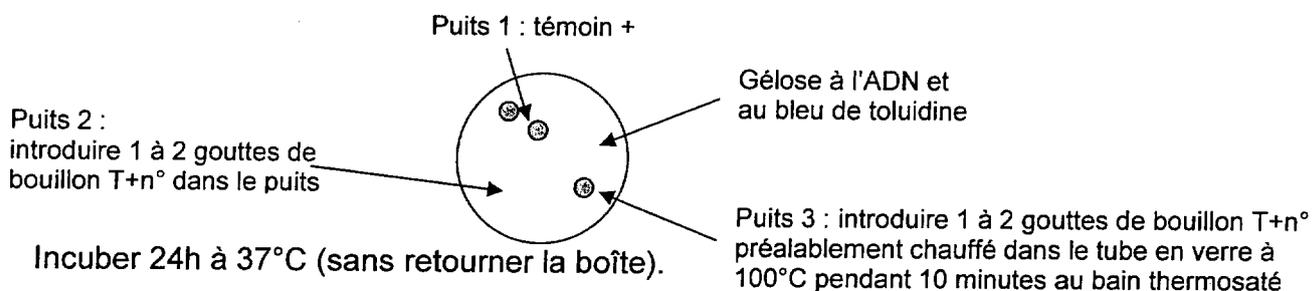
## ANNEXE 4

### 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 :



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.