

## BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR AGRICOLE E7-1 ANALYSES ET CONTRÔLES

Option : ANABIOTEC

*Durée : 180 minutes*

---

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Calculatrice**

---

Le sujet comporte **9** pages

---

### SUJET

#### SALADIÈRE DE THON ALLÉGÉE EN SEL

L'évolution des modes de vie favorise actuellement la consommation de plats préparés. De plus, l'attrait pour des plats légers et diététiques pousse les entreprises agroalimentaires à innover et à se diversifier vers la préparation de nouvelles recettes.

L'entreprise FISH commercialise des plats préparés à base de poisson. Elle envisage d'élargir sa gamme de produits avec une saladière de thon allégée en sel.

Une saladière est composée de thon, de légumes, d'épices, de sel, de vinaigre et d'huile, conditionnée en boîte d'aluminium. Les différentes étapes de fabrication de ce nouveau produit sont données dans le **document 1**.

Avant de lancer la production industrielle, l'entreprise doit utiliser la méthode HACCP pour assurer la sécurité sanitaire de la fabrication et mettre en place son plan de contrôle définitif.

#### **PARTIE 1 : Qualité des matières premières (10 points)**

Dans le cadre de cette démarche, deux points critiques (CCP) ont été identifiés : la qualité des matières premières pour les dangers physiques et microbiologiques et l'étape d'appertisation pour les dangers microbiologiques. Le plan de contrôle est en cours de validation, vous y participez en tant que technicien(ne) de laboratoire en lien avec le responsable qualité.

**1.1** Préciser l'intérêt d'une démarche HACCP et justifier le choix des CCP.

**1.2** Identifier, à partir du diagramme de fabrication du **document 1**, l'ensemble des contrôles à réaliser dans le cadre d'un suivi de la fabrication et les techniques qui leurs sont associées.

L'entreprise, sur les conseils du laboratoire départemental, a retenu pour vérifier la qualité de la matière première d'origine animale, le dénombrement des germes aérobies à 30°C et des coliformes thermo-tolérants.

Vous réalisez le dénombrement de ces groupes microbiens en boîte de Petri en gélose profonde (en masse) sur un lot de thon.

**1.3** Interpréter les résultats ci-dessous en vous aidant du **document 2**.

Échantillons à analyser	Unité formant colonie (UFC/g) Germes aérobies 30°C	Unité formant colonie (UFC/g) Coliformes thermo-tolérants
1	8 220	24
2	875	8
3	1 229	40
4	950	6
5	820	7

**1.4** Justifier l'intérêt du traitement thermique par appertisation à partir de ces résultats.

Un des risques sanitaires est la présence d'histamine. L'histamine est responsable d'intoxications alimentaires. C'est une amine biogène produite après la mort du poisson sous l'action de certaines bactéries, notamment les coliformes. Ces dernières transforment l'histidine (acide aminé présent en très grande quantité dans le thon) en histamine, molécule thermostable, résistante à l'appertisation. La recherche et le dosage de l'histamine dans cette matière première est réalisée en complément des analyses microbiologiques.

Au laboratoire, l'histamine est dosée par une méthode ELISA sur plaque coatée par des anticorps anti-histamine.

**1.5** Présenter, sous forme de schéma à partir du protocole donné en **document 3**, le principe des différentes étapes de la technique ELISA.

**1.6** Expliquer la décision que doit prendre l'entreprise en cas de résultat positif pour la teneur en histamine.

## **PARTIE 2 : Contrôle du produit fini (5 points)**

L'objectif de l'entreprise est de réduire de 25 % la teneur en sel des saladières par rapport à un produit non allégé dont la concentration massique en sel est 1,2 g pour 100 grammes. Afin d'assurer les contrôles réglementaires, l'entreprise envisage donc un suivi de la teneur en sel sur la chaîne de fabrication et parallèlement une vérification de ces résultats dans son laboratoire.

En agro-alimentaire, les méthodes pouvant être utilisées pour doser le taux de sel sont basées sur la détermination de la concentration massique en ions chlorure : méthode volumétrique par précipitation (méthode de Charpentier-Volhard), méthode conductimétrique (Salinomètre, Chloruremètre).

**2.1** Citer une autre méthode que celles mentionnées ci-dessus pour mesurer le taux de sel.

**2.2** Votre laboratoire a retenu la méthode de Charpentier-Volhard, et la méthode par conductimétrie (salinomètre).

**2.2.1** A partir du **document 4**, dégager les avantages et les inconvénients de chaque méthode retenue sous forme de tableau, en s'appuyant sur les critères pratiques principalement.

**2.2.2** Proposer les étapes nécessaires pour réaliser l'étalonnage du salinomètre avant son utilisation.

Afin d'assurer les contrôles réglementaires, l'entreprise envisage donc un suivi de la teneur en sel sur la chaîne de fabrication et parallèlement une vérification de ces résultats dans son laboratoire.

**2.3** Choisir la technique à utiliser parmi les deux méthodes retenues sur la chaîne de production. Justifier ce choix

### **PARTIE 3 : Comparaison de deux méthodes (5 points)**

Pour valider le choix de la méthode retenue sur la chaîne de production, vous devez comparer les résultats obtenus par les deux méthodes, sur toute la gamme des produits fabriqués par l'entreprise.

Les résultats de concentration massique de sel sur 15 conserves, exprimés en g pour 100 g de produit, sont donnés dans le tableau ci-dessous :

<b>Conserve</b>	<b>Méthode utilisée au laboratoire</b>	<b>Méthode utilisée sur la chaîne de production</b>
1	0,90	0,85
2	1,52	1,48
3	0,92	0,92
4	1,31	1,25
5	0,58	0,49
6	1,68	1,75
7	0,93	0,90
8	2,10	2,18
9	1,25	1,18
10	0,80	0,85
11	1,32	1,40
12	1,26	1,29
13	2,50	2,50
14	0,98	0,96
15	0,30	0,41
<b>Moyenne arrondie à <math>10^{-4}</math>.</b>	<b>1,2233</b>	<b>1,2273</b>

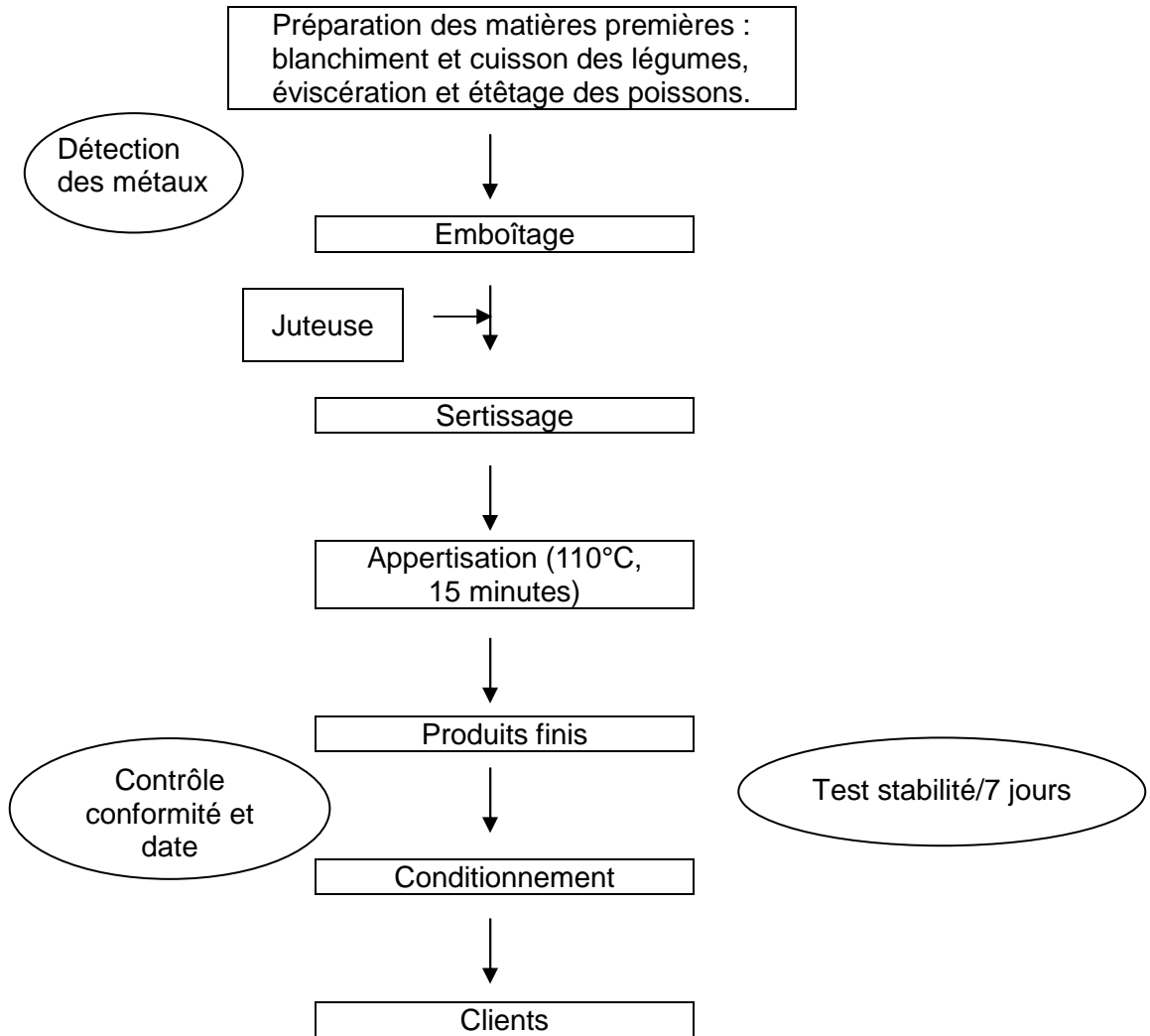
On suppose que ces mesures de concentration en sel sont normalement distribuées.

Une valeur approchée à  $10^{-4}$  près de l'écart-type de la série des quinze différences de mesures est 0,0605.

- 3.1** Choisir un test statistique permettant de comparer les résultats obtenus avec les deux méthodes. Justifier votre choix (**document 5**).
- 3.2** Mettre en œuvre le test choisi. On prendra un seuil de risque de 5 %, et conclure (**document 6**).
- 3.3** Discuter le choix de la technique mise en œuvre sur la chaîne de production.

## DOCUMENT 1

### Diagramme de fabrication



Sertissage : fermeture définitive de la boîte de conserve.

Appertisation : stérilisation de la conserve par la chaleur sur un temps court.

## DOCUMENT 2

### Critères microbiologiques retenus par l'entreprise pour la matière première thon

Micro-organismes	n	c	Limites (UFC/g)	
			m	M
Germes aérobies 30°C	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
Coliformes à 44°C	5	2	10	100

n = nombre d'unités constituant l'échantillon.

c = nombre maximal de résultats pouvant présenter des valeurs comprises entre m et M pour le nombre d'échantillons n réalisés.

## DOCUMENT 3


### Dosage d'Histamine par technique ELISA

- Vous disposez de barrettes dont les cupules sont coâtées avec des AC anti-histamine et de 5 solutions standard contenant des concentrations croissantes d'histamine (C1, C2, C3, C4, C5).
- Déposer 80 µL de chaque standard et des différents extraits de thon dans les cupules.
- Laisser incuber 15 min à température ambiante. D'un geste rapide, vider la barrette en la renversant horizontalement de manière à éviter le mélange des produits.
- Laver avec 100 µL de tampon PBS.
- Ajouter 80 µL d'Anticorps de Détection (AC1) appelé conjugué (Anticorps anti histamine marqué avec l'enzyme peroxydase).
- Laisser 15 min à température ambiante.
- Vider les puits et laver avec 100 µL de tampon PBS. Répéter encore 2 fois l'opération.
- Ajouter dans les puits 80 µL de TMB (Substrat chromogène de l'enzyme peroxydase).
- Lire immédiatement les absorbances de chaque puits avec le lecteur de plaques à 450 nm.
- Tracer la droite d'étalonnage et déterminer la concentration des échantillons.

## DOCUMENT 4


### Détermination de la concentration massique des ions chlorure

#### 1- Méthode conductimétrique : salinomètre



# ThermoContrôle

**Hygromètre, pH mètre, Salinomètre**



#### Salinomètre SSX 210

Caractéristiques techniques	
Etendue de mesure :	0...100
Résolution :	1 chiffre
Précision de mesure à +25°C	1 chiffre
Température d'utilisation	+10°C à +40°C
Indice de protection	IP 54
Intervalle de mesure	Programmable de 1 à 15 sec
Dimensions :	100 x 46 x 25 mm
Boîtier :	ABS
Pile	Longue durée, lithium 3V CR2477
Sonde	Sonde à 2 conducteurs avec électrodes dorées
Câble	Silicone
Poids	Env. 200 g
Certificat	Constat de vérification en option

**Principe de fonctionnement :** Mesure de la salinité par un conductimètre à sonde (avec utilisation d'un abaque) par mesure directe dans le produit ou via une mise en solution. La valeur affichée est une valeur arbitraire sur une échelle de 0 à 100, sans compensation de température. La réalisation préalable d'un abaque prenant en compte les variations dues à la température de mesure, au produit et à sa composition, est nécessaire pour l'obtention d'un résultat en g NaCl %g.

**Salinité et conductivité :** La conductivité d'une solution est la mesure de sa capacité à conduire un courant électrique, elle dépend de la concentration ionique, de la nature des ions en solution et de la température. La conductivité d'une solution s'exprime aussi en salinité, elle correspond à la concentration en NaCl d'une solution hypothétique qui aurait la même conductivité. Les mesures de conductivité ou de salinité requièrent une compensation en température.

Source : d'après le catalogue Sopac - Thermo Contrôle- consultation le 9/12/16

## **DOCUMENT 4 (suite)**

### **2- Méthode de Charpentier-Volhard**

#### **2.1 Principe**

On fait réagir, sur les ions chlorure, un volume connu et en excès de nitrate d'argent. L'excès de nitrate d'argent est ensuite dosé par le thiocyanate d'ammonium. Comme indicateur de fin de réaction, on utilise l'alun ferrique ammoniacal. La première goutte de thiocyanate d'ammonium en excès se combine avec l'alun ferrique pour donner un complexe orangé.

#### **2.2 Mode opératoire**

##### **2.2.1 Préparation échantillon**

Après avoir pesé une masse précise de saladière et broyé avec un stomacher dans un volume d'eau chaude adéquat, réaliser une défécation des protéines avec de l'hexa-cyanoferrate de potassium et acétate de zinc.

Récupérer le filtrat après filtration.

##### **2.2.2 Dosage des chlorures**

Introduire dans un erlenmeyer, une quantité de filtrat à analyser, du nitrate d'argent et de l'acide nitrique.  
*Remarque : Il est important de se placer en milieu acide pour éviter les réactions parasites.*

Agglomérer le précipité obtenu en agitant quelques instants, ajouter de l'alun ferrique ammoniacal.  
Doser par le thiocyanate d'ammonium jusqu'au virage au rouge-orangé.

Document élaboré pour les besoins de l'épreuve.

## DOCUMENT 5

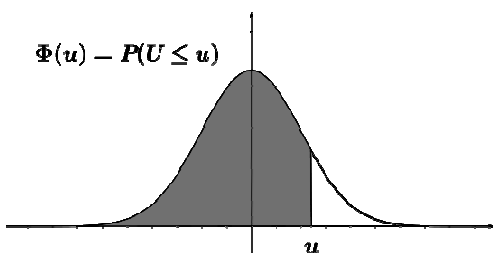
### Tests de comparaison de 2 moyennes de 2 populations (Échantillons de petites tailles)

Échantillons appariés	Normalité	$T = \frac{\overline{D}}{\frac{S_D}{\sqrt{n-1}}}$ <p><math>T</math> suit la loi de Student à <math>n - 1</math> ddl</p>
	Non normalité	<p><math>X</math>: variable aléatoire qui associe le nombre de différences positives ou négatives</p> <p><math>X</math> suit la loi binomiale <math>B(n; \frac{1}{2})</math></p> $P(X = k) = \binom{n}{k} \left(\frac{1}{2}\right)^n$
Échantillons indépendants	Variances des populations connues	$U = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}}$ <p><math>U</math> suit la loi normale centrée réduite <math>N(0; 1)</math></p>
	Variances des populations inconnues mais supposées égales	$T = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$ avec $S^2 = \frac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$ <p><math>T</math> suit la loi de Student à <math>n_1 + n_2 - 2</math> ddl</p>
	Variances des populations inconnues mais supposées différentes	Test de Mann-Whitney



## DOCUMENT 6

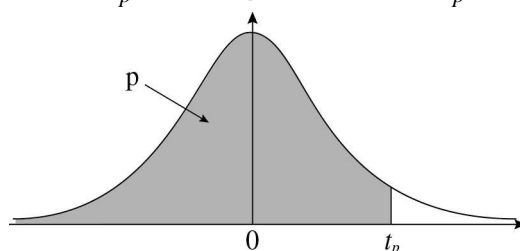
### Fonction de répartition de la variable normale centrée réduite



u	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<b>1,5</b>	0,9332	0,9345	0,9357	0,9370	0,9382	0,9394	0,9406	0,9418	0,9429	0,9441
<b>1,6</b>	0,9452	0,9463	0,9474	0,9484	0,9495	0,9505	0,9515	0,9525	0,9535	0,9545
<b>1,7</b>	0,9554	0,9564	0,9573	0,9582	0,9591	0,9599	0,9608	0,9616	0,9625	0,9633
<b>1,8</b>	0,9641	0,9649	0,9656	0,9664	0,9671	0,9678	0,9686	0,9693	0,9699	0,9706
<b>1,9</b>	0,9713	0,9719	0,9726	0,9732	0,9738	0,9744	0,9750	0,9756	0,9761	0,9767
<b>2,0</b>	0,9772	0,9778	0,9783	0,9788	0,9793	0,9798	0,9803	0,9808	0,9812	0,9817
<b>2,1</b>	0,9821	0,9826	0,9830	0,9834	0,9838	0,9842	0,9846	0,9850	0,9854	0,9857
<b>2,2</b>	0,9861	0,9864	0,9868	0,9871	0,9875	0,9878	0,9881	0,9884	0,9887	0,9890
<b>2,3</b>	0,9893	0,9896	0,9898	0,9901	0,9904	0,9906	0,9909	0,9911	0,9913	0,9916

### Fonction de répartition d'une variable de Student à k degrés de liberté

Valeurs  $t_p$  telles que  $Prob(T \leq t_p) = p$



k \ p	0,90	0,95	0,975	0,99	0,995	0,999	0,9995
<b>4</b>	1,53	2,13	2,78	3,75	4,60	7,17	8,61
<b>5</b>	1,48	2,02	2,57	3,36	4,03	5,89	6,87
<b>6</b>	1,44	1,94	2,45	3,14	3,71	5,21	5,96
<b>7</b>	1,41	1,89	2,36	3,00	3,50	4,79	5,41
<b>8</b>	1,40	1,86	2,31	2,90	3,36	4,50	5,04
<b>9</b>	1,38	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30	4,78
<b>10</b>	1,37	1,81	2,23	2,76	3,17	4,14	4,59
<b>11</b>	1,36	1,80	2,20	2,72	3,11	4,02	4,44
<b>12</b>	1,36	1,78	2,18	2,68	3,05	3,93	4,32
<b>13</b>	1,35	1,77	2,16	2,65	3,01	3,85	4,22
<b>14</b>	1,35	1,76	2,14	2,62	2,98	3,79	4,14
<b>15</b>	1,34	1,75	2,13	2,60	2,95	3,73	4,07
<b>16</b>	1,34	1,75	2,12	2,58	2,92	3,69	4,01
<b>17</b>	1,33	1,74	2,11	2,57	2,90	3,65	3,97