

## Sujet zéro



### Inspection de l'Enseignement Agricole

**Diplôme:**

Baccalauréat Professionnel

Spécialité : Laboratoire et Contrôle de la Qualité

**Epreuve :**

E5 - Techniques professionnelles

### Définition de l'épreuve

**(référence : Arrêté de diplôme et Note de service DGER**

L'épreuve E5 valide les capacités **C8 « Situer les activités d'analyse et de contrôle dans leur contexte »** et **C9 « Raisonner le choix des méthodes et des appareillages »** du référentiel de certification.

Elle est affectée du coefficient 2. Elle prend la forme d'une épreuve ponctuelle terminale écrite d'une durée de 3 heures, identique pour les candidats en CCF ou hors CCF.

Le sujet s'appuie sur des documents techniques récents : diagrammes de fabrication, textes réglementaires, description de produits, bulletins d'analyse, étiquettes, protocole d'analyse, articles de presse....

Les secteurs concernés par les activités de laboratoire support de l'épreuve sont ceux dans lesquels les stages en milieu professionnel peuvent se dérouler et qui sont étudiés dans le module MP3.

Il s'agit des secteurs de la production agricole (animale et végétale), de l'alimentation (restauration collective, cuisine centrale) et de l'industrie alimentaire, de l'environnement, de la santé (animale ou humaine), des industries cosmétiques et pharmaceutiques, des industries chimiques.

L'épreuve permet de vérifier que le candidat sait justifier des contrôles et raisonner le choix d'une méthode à partir d'éléments fournis. L'analyse des documents joints au sujet permet de valider les capacités C8 et C9 pour le secteur choisi comme support de l'épreuve.

L'épreuve est corrigée à l'aide d'une grille critériée, par un enseignant de physique chimie et un enseignant de biochimie-microbiologie ou un enseignant de biologie.

# SUJET 1

## Libellé du sujet

1. Une entreprise de transformation alimentaire élabore des produits de charcuterie tels que des saucissons, des pâtés, etc. Ces produits sont soumis à de nombreux contrôles physiques, chimiques, microbiologiques, sensoriels. (2 points)

- 1-1. Nommer et définir le secteur auquel appartient cette entreprise.
- 1-2. Citer deux autres filières associées à ce secteur.
- 1-3. Nommer les contraintes réglementaires auxquelles sont soumises les filières de ce secteur.

2. Le document 1 présente le diagramme de fabrication du saucisson sec avec les contrôles associés à chaque étape. (1,5 points)

- 2-1. Identifier les trois grands types de contrôles, en fonction des objets de l'analyse, que l'on retrouve dans le diagramme de fabrication.
- 2-2. Justifier les contrôles de température qui doivent être réalisés au cours de la fabrication.

3. Le document 2 présente une étiquette de saucisson sec et un résultat d'analyse microbiologique relatif à ce produit. (3 points)

- 3-1. Montrer que le saucisson sec peut être un milieu de développement naturel pour les micro-organismes.
- 3-2. Citer un des facteurs limitant la croissance des micro-organismes dans ce milieu.
- 3-3. Classer les micro-organismes mentionnés dans le résultat d'analyse en deux catégories en fonction du but de l'analyse.

4. La méthode officielle pour la recherche des salmonelles est décrite dans le document 3. Des méthodes alternatives à cette recherche sont présentées dans le document 4. (6,5 points)

- 4-1. Expliquer la différence entre pré enrichissement et enrichissement sélectif.
- 4-2. Préciser l'aspect des colonies de salmonelles sur le milieu Hektoen dont la composition est donnée sur le document 5.
- 4-3. Définir un milieu chromogène.
- 4-4. Expliquer à l'aide d'un schéma simple le principe d'un test immuno enzymatique.
- 4-5. Comparer les méthodes décrites dans les documents 3 et 4 grâce aux critères d'évaluation évoqués.

5. Dans le cadre d'un contrôle interne, on recherche le taux de sel dans le saucisson. Le sel augmente le pouvoir de rétention d'eau. La concentration en sel (NaCl) dans une préparation à base de viande est en général de 4 %. L'entreprise s'est fixée cette valeur afin de satisfaire le consommateur. La détermination du taux de sel est réalisée au niveau de l'embossage par la méthode de Charpentier Volhard (document 6). (7 points)

- 5-1. Citer l'ion recherché lors de ce dosage et justifier l'importance de ce contrôle pour l'entreprise.
- 5-2. Choisir parmi les méthodes suivantes celles qui correspondent au dosage du document 6 :
  - méthode volumétrique
  - méthode potentiométrique
  - méthode séparative
  - méthode spectrale
- 5-3. Écrire l'équation de la réaction entre l'ion chlorure et le nitrate d'argent ( $\text{Ag}^+ + \text{NO}_3^-$ ) dans l'erenmeyer, nommer le composé obtenu et donner sa caractéristique.
- 5-4. Écrire l'équation du dosage de l'excès de nitrate d'argent par le thiocyanate de potassium ( $\text{K}^+ + \text{SCN}^-$ ) et justifier le rôle de l'alun ferrique.
- 5-5. Il existe d'autres méthodes comme le chloruremètre pour déterminer le taux de sel (document 7). À l'aide des documents 6 et 7, choisir la technique qui semble la plus judicieuse à employer dans cette entreprise. Réaliser un tableau de comparaison de ces deux méthodes en utilisant les critères d'évaluation fournis.

## DOCUMENT 1

Opérations annexes	Opérations de transformation	Contrôles
	1. Réception des pièces de viande	Masse, température (< 5 °C), teneur en lipides, contrôle visuel
	2. Stockage au froid positif	
	3. Découpe primaire et secondaire	Température ambiante (5 °C)
Ajout des ingrédients et additifs (sucre, ferments et nitrate de potassium)	4. Broyage	Vitesse de rotation des couteaux, température du broyat (<15 °C)
	5. Malaxage	
	6. Embossage	Chlorures
	7. Pulvérisation de surface (Penicillium)	
	8. Etuvage	Température ambiante (15 °C)
	9. Séchage	
	10. Étiquetage	Masse, qualité bactériologique et organoleptique, composition (nitrate de potassium)

**Diagramme de fabrication du saucisson sec**

## DOCUMENT 2



Résultats d'analyse du saucisson sec :

**RESULTATS :**

DENOMINATIONS	ANALYSES SELON NORMES / METHODES	CRITERES(1)	RESULTATS	QUALITE(1)
Coliformes thermotolérants à 44°C	/g V08-060 01/96*	100	<100	satisfaisant
Bactéries sulfito-réductrices	/g V08-061 10/96*	50	<5	satisfaisant
Staphylococcus aureus	/g V08-057-1 11/94*	500	<100	satisfaisant
Recherche de Salmonella	/25g V08-052 05/97*	Absence	Absence	satisfaisant
Dénombrement de Listeria monocytogen	/g P.C.R.	100	<2	satisfaisant

Les critères et la qualité du paramètre analysé sont précisés par rapport à la catégorie du produit.

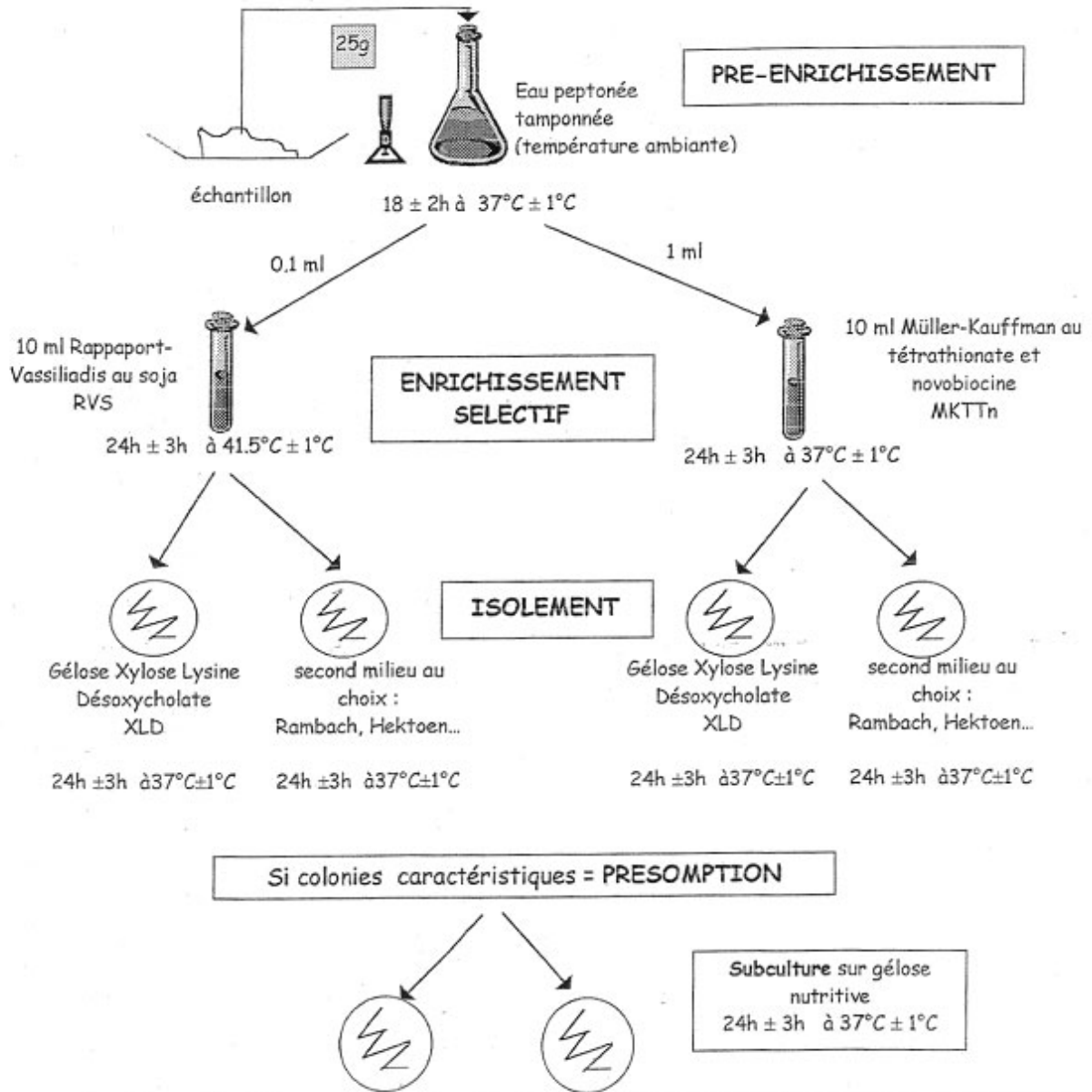
(1) : non couvert par l'accréditation.

**Interprétation (1) : Qualité bactériologique Satisfaisante, pour les paramètres analysés.**

DOCUMENT 3

PROTOCOLE DE RECHERCHE DE *SALMONELLA*

Norme ISO 6579 - NF 08-013 - décembre 2002



Pour la **confirmation**, prélever, à partir des milieux sélectifs (XLD et autre), au moins une colonie considérée comme caractéristique ou suspecte.

Si la colonie se révèle ne pas réagir positivement à la confirmation, il faut prélever quatre autres colonies (pas forcément caractéristiques) et les soumettre à la **CONFIRMATION**.

## DOCUMENT 4

### Une offre complète pour la détection des salmonelles :

Techniques	Délai de screening	Cadence	Concurrents	Remarques
SMS, milieu chromogène	48 h maximum	50 analyses = 144 min de manipulation	Biomérieux, laboratoires Humeau, Solabia, Oxoïd...	Ces milieux, sans besoin d'investissement, se démarquent par leur faible coût et leur simplicité de mise en oeuvre
Bioline ELISA test Selecta, tests immuno-enzymatique	25h30 – 35h30	250 analyses par jour avec automate a prime (validation AFNOR V03-100)	Biotrace, Diffchamb, Biomérieux, Foss, Biorad, Biocontrol, Tec ra...	Son intérêt est de réduire les coûts en réactifs et en temps technicien
Chemunex, cytométrie de flux	20 h	Bactiflow : < 50 analyses/jour D-Count : > 50 analyses/jour	Métis biotechnologies	Une sensibilité qui se traduit par des temps de réponse très court, compris entre 8 et 22 heures
Genevision, PCR en temps réel	20 – 26h	45 analyses par plaques	Genesystem, Biorad	

D'après PROCESS, décembre 2004 – N° 1210 et RIA décembre 2004 – N° 652

## DOCUMENT 5

Composition de la gélose Hektoen :

Composants	Masse en g pour 1 L
Protéose-peptone	12,0
Extrait de levure	3,0
Lactose	12,0
Saccharose	12,0
Salicine	2,0
Citrate de fer III et d'ammonium	1,5
Sels biliaires	9,0
Fuchsine acide	0,1
Bleu de bromothymol	0,0 65
Chlorure de sodium	5,0
Thiosulfate de sodium	5,0
Agar	13,0

## DOCUMENT 6

### METHODE DE CHARPENTIER VOLHARD

#### 1- décantation – extraction

- dans un erlen peser exactement 10g de produit
- ajouter 100 mL d'éthanol à 70%, boucher,
- chauffer 15 min au bain marie bouillant en remuant de temps en temps,
- laisser refroidir à température ambiante
- ajouter 2 mL de ferrocyanure de potassium
- agiter
- ajouter 2 mL d'acétate de zinc
- agiter
- laisser reposer 30 min à température ambiante
- transvaser quantitativement dans une fiole de 200 mL, ajuster,
- agiter, filtrer,

#### 2- dosage de l'échantillon par la méthode de Charpentier Volhard

- prélever 100 mL de filtrat
- ajouter 1 mL d'acide nitrique
- 2 mL d'alun ferrique
- 5 mL de nitrate d'argent de concentration connue mis en excès
- doser l'excès de nitrate d'argent par le thiocyanate de potassium (KSCN) de concentration connue jusqu'à l'obtention de la coloration rouge-orangé,

## DOCUMENT 7



### Chloruremètre 926 Sherwood

La référence "CORNING".

Idéal pour l'industrie agro-alimentaire (laiteries salaisons, etc...) ou milieu hospitalier (test à la sueur, etc ...).

Mesures des ions chlorures.

Simple d'utilisation.

Sortie RS232.

Livré complet, prêt à l'emploi avec électrodes d'argent et réactifs.

Code	C92611000	C92611005
Modèle	926	926S
Version	Industrie	Clinique
Gamme	10 à 999 mg Cl/l ou 2 à 165 mg de sel	10 à 299 mmol Cl/l
Linéarité	± 1%	± 1%
Reproductibilité	< 1,5 % Déterminé sur 20 titrages consécutifs d'un échantillon à 200 mg/l	< 1,5 % Déterminé sur 20 titrages consécutifs d'un échantillon à 100 mmol/l
Volume d'échantillon	500 µl	20 µl
Durée analyse	35 sec à 200 mg/l	35 sec à 100 mmol Cl/l
Alimentation électrique (V / Hz)	230 / 50	230 / 50
Poids (Kg)	3,8	3,8

## Grille d'évaluation – Indications de correction

Questions	CAPACITES VISEES	INDICATEURS	Barème	CORRECTEURS
1 – 1	<b>C.8.1.</b>	Alimentaire Mots clefs : Produit d'origine agricole, transformation, consommation alimentaire humaine et animale	/1 point	Physique chimie ou microbiologie biologie
1 – 2	<b>C 8.1.</b>	Filière lait, filière céréale,...	/0,5 point	Physique chimie ou microbiologie biologie
1 – 3	<b>C 8.2.</b>	Paquet hygiène, plan de maîtrise sanitaire, traçabilité	/0,5 point	Physique chimie ou microbiologie biologie
2 – 1	<b>C 8.2.</b>	Contrôles réglementaires (masse, bactério, composition), qualité du produit fini (organoleptique) et technologiques	/0,5 point	Physique chimie ou microbiologie biologie
2 – 2	<b>C 8.3.</b>	(1) Rôle hygiénique et réglementaires (2) Rôle hygiénique et technologique (3) Rôle hygiénique et technologique (4) Rôle technologique	/1 point	Physique chimie ou microbiologie biologie
3 – 1	<b>C9.1.</b>	Satisfaction des besoins élémentaires des microorganismes : Source de carbone et énergie (lactose, saccharose, dextrose), d'azote (viande de porc), eau, sels minéraux.	/1,5 points	Microbiologie ou biologie
3 – 2	<b>C9.1.</b>	Activité de l'eau (Taux de sel ou humidité acceptés) conservateurs	/,5 point	Microbiologie ou biologie
3 – 3	<b>C 9.1.</b>	Microorganismes indicateurs de contamination fécale : Coliformes et ASR Microorganismes pathogènes : <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella</i> et <i>Listeria monocytogenes</i>	/1 point	Microbiologie ou biologie
4 – 1	<b>C 9.2.</b>	Notions de milieu enrichis et d'agents sélectifs.	/0,5 point	Microbiologie ou biologie
4 – 2	<b>C 9.2.</b>	Sélectivité du milieu et réaction biochimique ( fermentation et production d'H <sub>2</sub> S)	/1,5 points	Microbiologie ou biologie
4 – 3	<b>C 9.2.</b>	Mots clefs : Détection d'une enzyme caractéristique et révélation par changement de couleur de son substrat.	/1 point	Microbiologie ou biologie
4 – 4	<b>C9.2.</b>	Présence d'un schéma Eléments du schéma attendu : Antigène Anticorps Anticorps conjugué et substrat.	/1,5 points	
4 – 5	<b>C 9.4.</b> <b>C 9.5.</b>	Au moins 4 critères attendus : Délai de réponse, nombre d'échantillon testé en une analyse, validation AFNOR, coût, sensibilité  Présence d'un tableau à double entrée avec les critères d'évaluation et les 5 méthodes	/2 points	Microbiologie ou biologie



5 – 1	<b>C 9.1.</b>	Ion chlorure, satisfaction du consommateur( organoleptique et nutritionnel)	/0,5 point	Physique chimie
5 – 2	<b>C 9.3.</b>	Méthode volumétrique et méthode séparative	/1 point	Physique chimie
5 – 3	<b>C 9.3.</b>	Équation chlorure d'argent, précipité blanc qui noircit à la lumière	/2 points	Physique chimie
5 – 4	<b>C 9.3.</b>	Dosage de l'excès de nitrate d'argent par le thiocyanate indicateur de fin de réaction	/1,5 point	Physique chimie
5 - 5	<b>C 9.4.</b> <b>C 9.5.</b>	Tableau avec deux entrées méthode doc 6( différents critères) méthode doc 7(différents critères) choix justifié, rapidité, rentabilité, précision	/2 points	Physique chimie
<b>TOTAL</b>			<b>/20 points</b>	

# SUJET 2

## Libellé du sujet

### La qualité de l'eau

Dans la société actuelle, l'eau est largement utilisée dans de nombreux secteurs professionnels. Elle est également mise à disposition des consommateurs pour leurs besoins quotidiens. Cette utilisation de l'eau nécessite des installations complexes, régulièrement contrôlées afin d'éviter que cette eau soit source de contaminations physico-chimiques et microbiologiques.

#### 1. Contexte des activités d'analyse (4 points)

La journée mondiale de l'eau, célébrée le 22 mars 2010 a pour objectif de sensibiliser aux conséquences de la dégradation de la qualité de l'eau des rivières, fleuves, lacs et nappes souterraines qui a des répercussions directes sur les écosystèmes et la santé des êtres humains.

- 1.1. En vous aidant du document 1 et en vous référant aux activités présentées, citer quatre exemples de secteurs professionnels utilisant l'eau.
- 1.2. Décrire brièvement l'utilisation de l'eau dans le monde agricole.

Les effluents des stations d'épuration subissant des traitements complémentaires influencent le cycle domestique de l'eau du fait de leur recyclage vers différents usages, ce qui soulage d'autant les ressources traditionnelles.

- 1.3 Expliquer l'intérêt des contrôles n°1 et n°2 lors du cycle domestique de l'eau (document 2). Nommer les 4 types d'analyses correspondant aux contrôles (A, B, C, D, E) du document 4.
- 1.4 En vous aidant du document 3, lister les éléments polluants traités lors des trois premières grandes étapes en station d'épuration.

Les ions nitrites font partie des éléments contrôlés en station d'épuration.

- 1.5 D'après le document 5, expliquer pourquoi certaines pratiques du monde agricole peuvent être une source de pollution en nitrates et nitrites.
- 1.6 Citer deux autres exemples de pollution chimique provenant d'effluents industriels.

#### 2. Méthodes d'analyses physiques et chimiques (8 points)

Dans les différents points de contrôle du circuit de l'eau, diverses analyses sont effectuées dont la détermination de la teneur en ions nitrites.

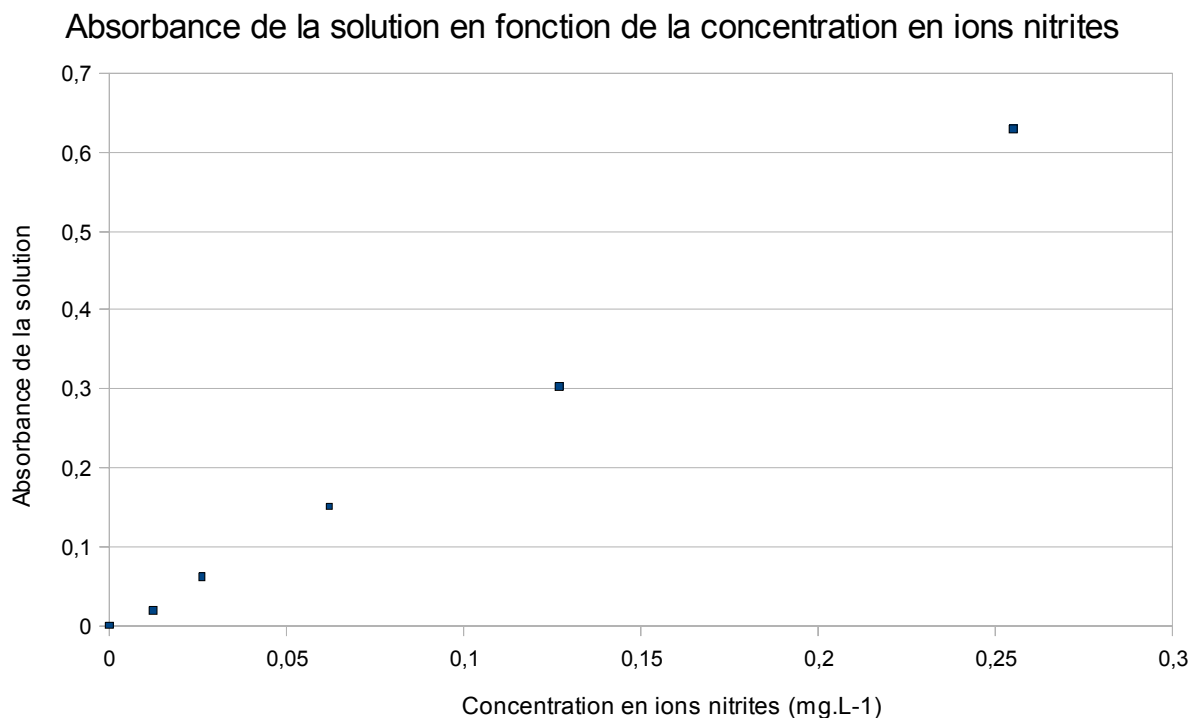
- 2.1 D'après le document 5, justifier l'intérêt de contrôler la teneur en ions nitrites dans une eau destinée à la consommation humaine.
- 2.2 Le document 6 décrit différentes techniques d'analyse des nitrites. Recenser sous forme d'un tableau les avantages et inconvénients de chaque méthode.

2.3 Expliquer pourquoi la méthode de Griess est la seule qui soit appropriée dans le cas d'une eau de consommation.

2.4 La méthode de Griess fait intervenir un spectrophotomètre.

A partir du schéma du document 7, et après avoir nommé les éléments 1 et 2, expliquer le fonctionnement du spectrophotomètre.

On obtient expérimentalement les points représentés ci dessous:



2.5 Expliquer brièvement comment ces points ont été obtenus à partir d'une solution mère d'ions nitrites.

2.6 Expliquer le rôle d'un « blanc » dans une analyse spectrophotométrique.

2.7 Sachant que l'absorbance mesurée pour l'échantillon d'eau est de 0,18, trouver, en justifiant votre démarche, la teneur en ions nitrites dans cet échantillon.

2.8 Nommer la loi qui met en relation la concentration en ions nitrites et l'absorbance de la solution.

2.9 Citer 2 conditions de validité de cette loi.

### 3 Méthodes d'analyses microbiologiques (8 points)

Le contrôle microbiologique de la qualité de l'eau en sortie de station de potabilisation (Contrôle n°2 du document 2) nécessite le dénombrement de la flore mésophile aérobie revivable (FMAR) et des coliformes fécaux en utilisant la méthode de filtration sur membrane.

3.1 Préciser les intérêts de la recherche et du dénombrement de la FMAR et des coliformes fécaux en sortie de station de potabilisation.

3.2 Expliquer le principe de la méthode de filtration sur membrane à l'aide d'un schéma légendé retraçant les

étapes de la manipulation en asepsie, du prélèvement de l'échantillon à l'incubation

3.3 Les boîtes de Petriensemencées de FMAR sont incubées à 30°C pendant 72 h et les boîtes de coliformes fécaux à 44°C pendant 18 à 24h. Justifier ces conditions d'incubation.

3.4 Les critères microbiologiques retenus pour l'eau potable sont :

- FMAR : 300 UFC . L<sup>-1</sup>
- Coliformes fécaux : absence dans 100mL

Dans le protocole expérimental à mettre en place, quelle quantité d'eau doit-on filtrer sur la membrane pour chacune des deux analyses afin d'obtenir un résultat interprétable ?

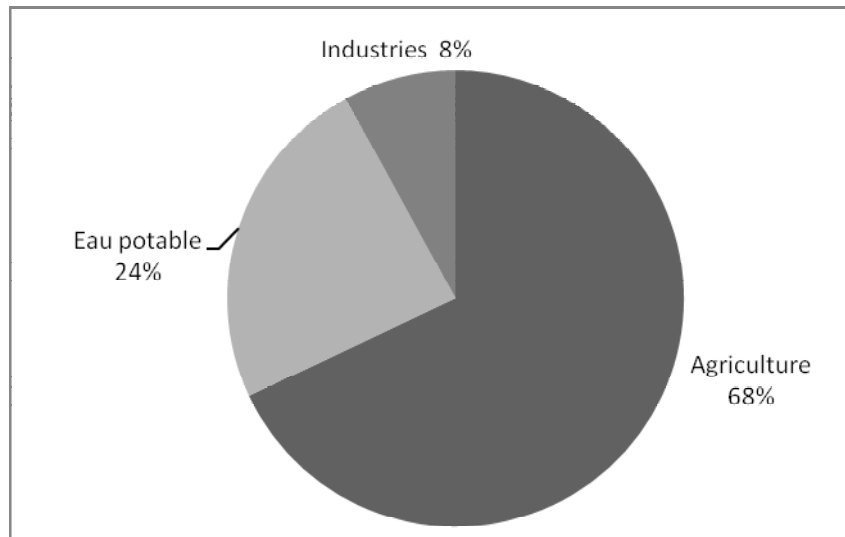
3.5 Présenter une autre méthode de dénombrement des coliformes fécaux sur milieu solide.

3.6 Comparer les deux méthodes de dénombrement (rampe de filtration et dilution / ensemencement sur milieu solide) en présentant leurs avantages et inconvénients respectifs.

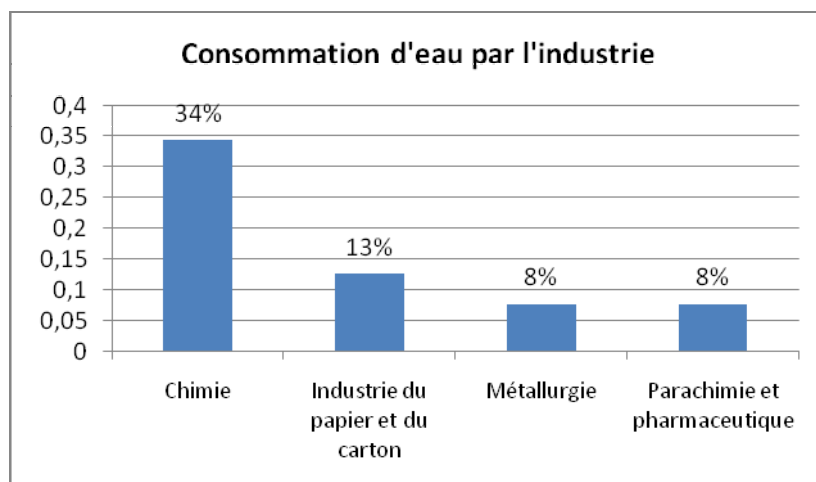
3.7 Lors de la lecture macroscopique des boîtes, il y a des doutes sur certaines colonies de coliformes fécaux dont l'aspect n'est pas vraiment caractéristique. Proposer une démarche argumentée pour confirmer ou infirmer la présence de colonies de coliformes fécaux.

## DOCUMENT 1

### Répartition de la consommation d'eau par activités *Source: Ifen 2002*

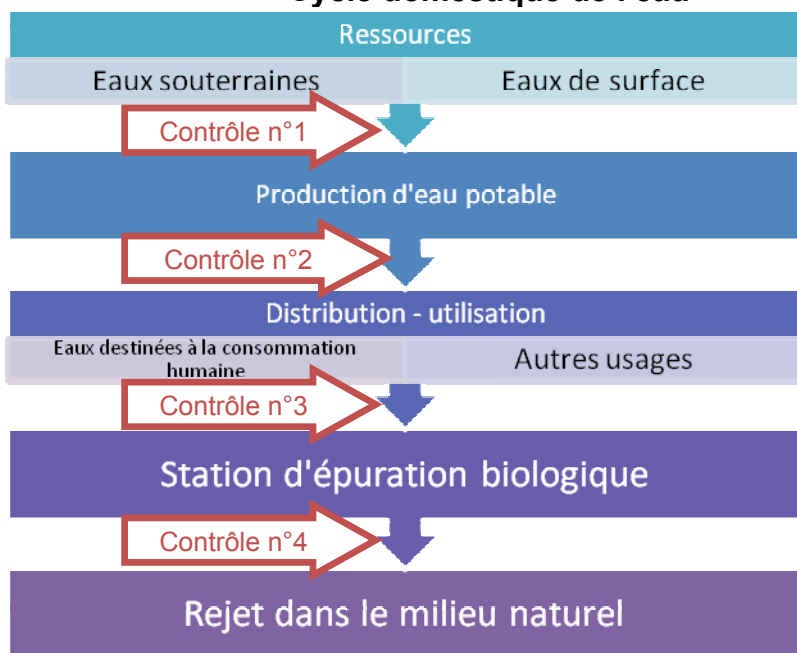


### Consommation d'eau par l'industrie *Source: MEDD-CNRS*



## DOCUMENT 2

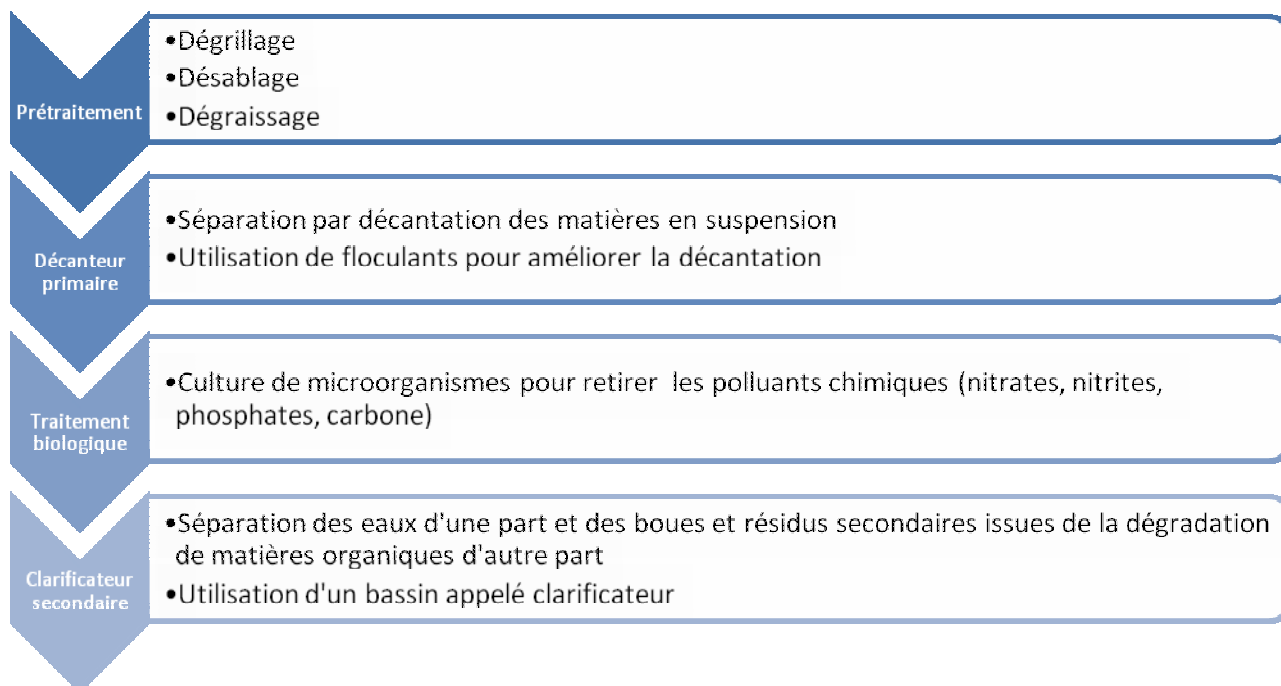
### Cycle domestique de l'eau



## DOCUMENT 3

Le traitement des eaux en station d'épuration se déroulent en 4 grandes étapes mentionnées ci-dessous :

### Traitement des eaux en station d'épuration



## DOCUMENT 4

### LES PRINCIPAUX PARAMÈTRES DE QUALITÉ DES EAUX (extrait du Décret 2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exception des eaux minérales naturelles)

Paramètres	Unités	Eau destinée à la consommation		Ressource (limites de qualité)		
		Limites de qualité	Références de qualité	Eaux de surface		Eaux souterraines
				Valeur guide	Valeur limite	
<b>A</b>						
Couleur (échelle Platine/Cobalt)	mg/l		Acceptable	50	200	
Turbidité (unité Jackson)	U.J.	1-2	0,5-2	-	-	
Odeur	Tx Dilut.		Acceptable	20	-	
Saveur	Tx Dilut.		Acceptable	-	-	-
<b>B</b>						
Température	°C	-	25	22	25	
pH		-	-	5,5 - 9		
<b>C</b>						
Chlorure Cl <sup>-</sup>	mg/l		250	200		
Sulfates SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	mg/l		250	150		
Nitrates NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/l	50				
Nitrites NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg/l	0,1				
Ammonium NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg/l		0,1		2	4
Phosphore P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	mg/l					
<b>D</b>						
Arsenic As	µg/l	10		50	100	100
Cyanure CN	µg/l	50			50	50
Mercure Hg	µg/l	1		0,5	1	1
Plomb Pb	µg/l	10				50
<b>E</b>						
Coliformes totaux	N/100 ml			50 000		
Escherichia coli	N/100 ml	0		20 000		20 000
Entérocoques	N/100 ml	0		10 000		10 000



## DOCUMENT 5

### Les nitrates et nitrites: des polluants qui menacent la santé et l'environnement

Les nitrites et les nitrates sont des substances chimiques naturelles qui entrent dans le cycle de l'azote. Ce dernier est consommé par les plantes sous forme de nitrates qui correspond au minéral le plus fréquent dans les eaux. Les nitrates sont beaucoup utilisés dans les engrais inorganiques, les explosifs, comme agents de conservation des aliments et comme substances chimiques brutes dans divers procédés industriels. Les nitrites servent d'agents de conservation dans les salaisons de viandes. Ils permettent d'éviter le développement du germe responsable de la toxi-infection alimentaire grave : le botulisme.

Cependant, la présence de ces ions, en excès dans l'environnement est nuisible :

- à la santé humaine : La méthémoglobinémie (ou syndrome du bébé bleu) est un problème de santé associé à l'ingestion des nitrites et nitrates. La présence de ces ions interfère avec la capacité du sang à transporter l'oxygène.

Les nitrites ont la propriété d'oxyder l'hémoglobine sanguine en méthémoglobine qui sous cette forme n'est plus apte à jouer son rôle de transporteur d'oxygène et entraîne donc une hypoxie au niveau des tissus.

Les nitrosamines, formées à partir de nitrites et d'amines, ont un pouvoir cancérigène. Cette formation se produit dans le tube digestif des consommateurs.

- à la qualité des eaux car ils contribuent au phénomène d'eutrophisation.

C'est pourquoi les scientifiques se sont beaucoup intéressés au développement de techniques performantes d'analyse aussi bien au laboratoire que sur le terrain.

## DOCUMENT 6

### La détection des ions nitrites

Du fait de ces problèmes, d'après la législation française, la concentration en ions nitrites dans une eau destinée à la consommation humaine ne doit pas dépasser  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Pour la détection des nitrites, la méthode de Griess est la plus répandue. Cette technique repose sur la réaction de diazotation entre l'ion nitrite acidifié et une amine aromatique. Le produit de la réaction est un complexe hautement coloré. Il présente un maximum d'absorption entre 500 et 600 nm et peut être détecté par un spectrophotomètre visible conventionnel. La limite de détection de cette méthode est de  $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Cette technique est simple et sensible mais non fiable en cas de présence d'antioxydants comme l'acide ascorbique, ou lorsque l'échantillon est fortement coloré. Par ailleurs, cette méthode nécessite une étape préliminaire de réduction chimique. Par conséquent, le temps d'analyse est très long.

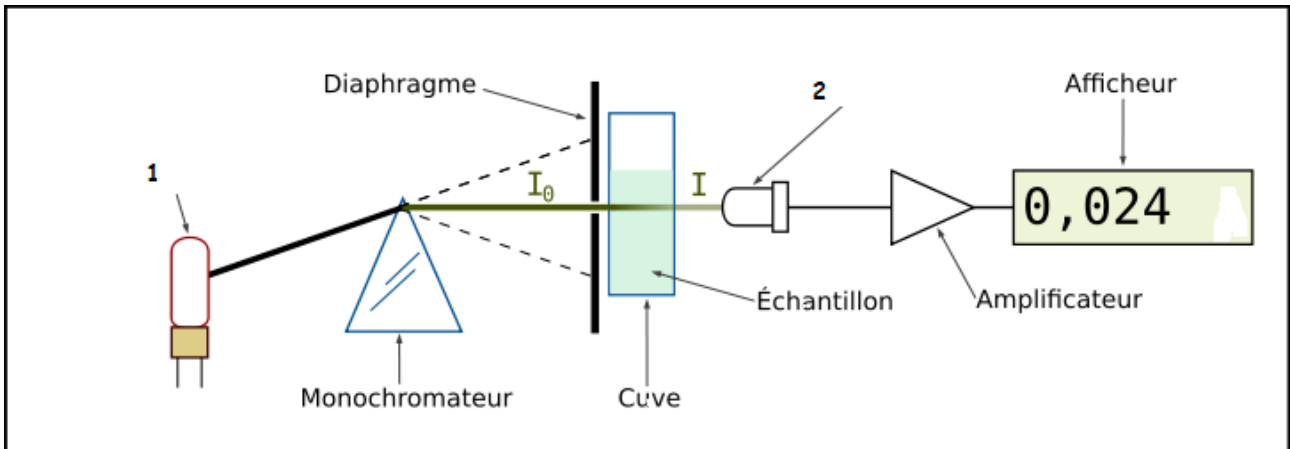
Il existe d'autres méthodes de détermination des nitrites:

- La potentiométrie dont l'approche est la plus attractive à l'aide d'électrodes sélectives car cette technique est robuste, peut être utilisée sur le terrain et nécessite peu d'instrumentation et peu de réactifs. Pour certains prototypes, la limite de détection est parfois insuffisante pour la mesure de faibles concentrations en ions nitrites ( $< 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Avec cette méthode, il y a également un risque d'interférence avec d'autres ions.
- Des méthodes chromatographiques ont été développées : l'HPLC par échange d'anions qui nécessite un investissement de départ élevé. Cette méthode a une limite de détection de  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ . Cette méthode est sensible et rapide.

*D'après Les technologies de laboratoire, n°1 2006*

## DOCUMENT 7

### Schéma d'un spectrophotomètre



## Grille d'évaluation – Indications de correction

N° de question	Critères et indicateurs		Barème	Capacités visées	
<b>1</b>	<b>Contexte</b>		<b>4</b>		
1.1	Agriculture	production agricole, animale et végétale	0,5	C8.1	
	Eau potable	industries agroalimentaires ; environnement ; santé animale et humaine			
	Industries	Industries chimiques, pharmaceutiques et cosmétiques			
1.2	Irrigation, abreuvement, dilution d'engrais et des pesticides		0,5	C8.1	
1.3	Contrôle n°1 : vérifier le degré de pollution de la ressource en eau avant traitement pour le dimensionnement de la station de potabilisation Contrôle n°2 : vérifier le bon fonctionnement de cette station et la conformité de l'eau distribuée Organoleptique, physicochimique, chimique, microbiologique		1	C8.3	
1.4	Corps étrangers (cailloux, plastiques, ...), graisses, sable, matières en suspension, nitrites, nitrates, phosphate, carbone.		1	C8.2	
1.5	Lessivage des engrais=> les polluants sont entraînés dans les nappes phréatiques		0.5	C8.2	
1.6	Hydrocarbures, phosphate des lessives, produits de désinfection, acide lactique...		0.5	C8.2	
<b>2.</b>	<b>Physique - chimie</b>		<b>8</b>		
2.1	Problème de santé humaine (méthémoglobinémie et nitrosamines)		1	C9-1	
2.2	Méthodes	++	1,5	C9-4	
	Griess	Limite de détection faible, simple et sensible			Non fiable en présence d'antioxydants ou si solution trop colorée, temps d'analyse long
	Potentio	Robuste, peu d'instruments ou de réactifs, faisable sur le terrain			Limite de détection parfois insuffisante, ions interférents
	HPLC	Sensible, rapide			Investissement coûteux, Limite de détection parfois insuffisante
2.3	Limite de détection suffisamment basse par rapport à la norme		0,5	C9-5	
2.4	1: source lumineuse 2: cellule photoélectrique puis principe		1,5	C9-3	
2.5	Dilutions de la solution mère pour fabriquer des étalons que l'on passe au spectrophotomètre		0,5	C9-3	
2.6	Permet de ne pas tenir compte de l'absorbance du solvant ou des réactifs éventuels		0,5	C9-3	
2.7	Tracer de la droite. $[C] = 0,07 \text{ mg.L}^{-1}$ . Eau conforme à la réglementation		1	C9-3	
2.8	Loi de Beer Lambert		0,5	C9-3	
2.9	Concentration suffisamment faible, échantillon homogène et limpide, non fluorescent		1	C9-3	

<b>3.</b>	<b>Microbiologie</b>	<b>8</b>										
<b>3.1</b>	FMAR = indicateur de contamination microbiologique générale de l'eau Coliformes fécaux = indicateur de contamination fécale de l'eau Si ces deux indicateurs ne sont pas conformes = mauvais fonctionnement de la station de potabilisation et risque sanitaire.	0.5	<b>C9.1</b>									
<b>3.2</b>	Manipulation en milieu stérile (bec bunsen) Filtre, porosité 0,45 µm (laisse passer l'eau mais pas les bactéries) FMAR : filtre déposé avec pince sur PCA 30°C, 72h Coliformes fécaux : filtre déposé avec pince sur TTC Tergitol 44°C, 24h	2	<b>C9.2</b>									
<b>3.3</b>	Coliformes fécaux = 24h à 44°C : seuls les coliformes fécaux sont thermotolérants et se multiplient à température supérieure à 37°C FMAR = 72h à 30°C : la flore est mésophile : pour permettre le développement de l'ensemble de la flore bactérienne, on applique une température moyenne de 30°C. on augmente la durée d'incubation car la température étant plus basse, la croissance bactérienne est plus lente, on veut aussi laisser un temps suffisant de multiplication aux microorganismes à croissance lente	1	<b>C9.2</b>									
<b>3.4</b>	FMAR : pour avoir entre 20 et 60 UFC par filtre, le volume doit être compris entre 66 et 200 mL Coliformes fécaux : 100 mL	0,5	<b>C9.5</b>									
<b>3.5</b>	Dilutions en cascade, dépôt 1ml d'inoculum dans VRBL ou tout autre milieu pertinent en surfusion puis ajout 2 <sup>e</sup> couche (pour VRBL). Colonies rouges / roses sur VRBL à cause de l'acidification du milieu qui fait virer le rouge neutre. Pour un autre milieu, justification pertinente.	2	<b>C9.2</b>									
<b>3.6</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Méthode</th> <th>Avantages</th> <th>Inconvénients</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Rampe de filtration</td> <td>Plus simple d'utilisation à l'ensemencement Comptage facilité par le quadrillage du filtre</td> <td>Taille des particules dans l'eau (bouchage des pores du filtre)</td> </tr> <tr> <td>Dilution et ensemencement</td> <td>Applicable à tous types de produits à analyser</td> <td>Calcul des dilutions pour le dénombrement Température de coulage du milieu à maîtriser</td> </tr> </tbody> </table> <p>Autres réponses pertinentes acceptées</p>	Méthode	Avantages	Inconvénients	Rampe de filtration	Plus simple d'utilisation à l'ensemencement Comptage facilité par le quadrillage du filtre	Taille des particules dans l'eau (bouchage des pores du filtre)	Dilution et ensemencement	Applicable à tous types de produits à analyser	Calcul des dilutions pour le dénombrement Température de coulage du milieu à maîtriser	1	<b>C9.4</b> <b>C9.5</b>
Méthode	Avantages	Inconvénients										
Rampe de filtration	Plus simple d'utilisation à l'ensemencement Comptage facilité par le quadrillage du filtre	Taille des particules dans l'eau (bouchage des pores du filtre)										
Dilution et ensemencement	Applicable à tous types de produits à analyser	Calcul des dilutions pour le dénombrement Température de coulage du milieu à maîtriser										
<b>3.6</b>	Vérification d'un ou plusieurs caractères biochimiques suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>• ONPG + (enzyme β-galactosidase)</li> <li>• Indole + (odeur fécale)</li> <li>• Lactose + (sucre)</li> </ul> Les coliformes fécaux poussent à 44°C en BLBVB avec gaz Repiquage sur PCA pour isolement puis GALERIE API Coloration de GRAM Autres réponses pertinentes acceptées	1	<b>C9.2</b>									