

Concours :

CAPET INTERNE

Section :

BIOTECHNOLOGIES

Option :

BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE

Session 2017

Rapport de jury présenté par : Mme Isabelle FALLER
Présidente de jury

**Les rapports des jurys des concours sont établis sous la responsabilité
des présidents de jury**

Sommaire

1. Renseignements statistiques	Page 3
2. Epreuve d'admissibilité	Page 4
3. Epreuve d'admission	Page 5
Conclusion générale	Page 7
Annexe : sujet d'admission	Page 8

1. RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES :

Concours : CAPET interne

Nombre de candidats inscrits	99
Nombre de candidats présents et non éliminés	30 (30,30% des inscrits)
Nombre de candidats admissibles	7 (23,33% des présents)
Nombre de candidats présents à l'épreuve orale d'admission	6
Nombre de candidats proposés pour l'admission	3
Rappel : Nombre de postes	3

Epreuve d'admissibilité

- Note la plus élevée	16,00/20
- Moyenne des notes des candidats admissibles	13,43 /20
- Barre d'admissibilité	11,00/20

Epreuve d'admission

- Note la plus élevée	17,00/20
- Moyenne des notes des candidats admis	13,67/20

Concours : CAER (concours d'accès à l'échelle de rémunération des professeurs certifiés)

Nombre de candidats inscrits	35
Nombre de candidats présents et non éliminés	19 (54,29% des inscrits)
Nombre de candidats admissibles	7 (36,84% des présents)
Nombre de candidats présents à l'épreuve orale d'admission	6
Nombre de candidats proposés pour l'admission	3
Rappel : Nombre de postes	3

Epreuve d'admissibilité

- Note la meilleure	16,00/20
- Moyenne des notes des candidats admissibles	13,71/20
- Barre d'admissibilité	11,00/20

Epreuve d'admission

- Note la meilleure	18,00/20
- Moyenne des notes des candidats admis	13,67/20

2. ÉPREUVE D'ADMISSIBILITE : RAPPORT DE L'ÉPREUVE

2.1. Attendus de l'épreuve

Le jury rappelle que les épreuves du concours interne du CAPET ont été définies dans l'arrêté du 28 décembre 2009 fixant les sections et les modalités d'organisation des concours du certificat d'aptitude au professorat de l'enseignement technologique (paru au journal officiel du 6 janvier 2010) et complété par l'arrêté du 27 avril 2011.

Par ailleurs, afin de préciser aux candidats les limites de la maîtrise disciplinaire attendue à ce niveau, il est rappelé que le programme, identique à celui du CAPET externe, est consultable dans le Bulletin Officiel de l'Education nationale spécial n° 7 du 8 juillet 2010.

Les deux pages de présentation du parcours

La présentation doit donner une vision globale de la formation initiale du candidat et de son expérience professionnelle. Le candidat présentera son parcours de manière synthétique avec les principales dates et durées de ses différentes expériences professionnelles en lien avec le concours présenté.

De plus, certains éléments choisis dans le parcours doivent montrer l'adéquation entre l'expérience acquise et la construction des compétences indispensables, d'une part à l'exercice du métier d'enseignant, et d'autre part aux spécificités de l'enseignement technologique en biotechnologies option biochimie génie biologique.

Les six pages : « Construction / Réalisation / Analyse / Projection »

La situation d'apprentissage développée doit être en cohérence avec la discipline du concours et doit inclure la dimension technologique.

Le choix de la situation d'enseignement est déterminant pour faire valoir des compétences didactiques et pédagogiques au travers d'une situation authentique réellement vécue par le candidat, et pour permettre une analyse personnelle.

En effet la situation choisie doit permettre de montrer la capacité du candidat à mettre en œuvre une démarche technologique avec ses élèves. Le candidat sera amené à expliquer ses choix *a priori*, à vérifier leur pertinence après la mise en situation par une analyse *a posteriori* et une proposition d'actions de remédiation.

2.2. Observations du jury

Cette année à nouveau, le jury a pu constater une hétérogénéité importante des rapports.

Il a pu valoriser la capacité à construire un rapport structuré de manière claire et cohérente, permettant une lecture fluide par les membres du jury.

Les rapports les plus pertinents présentent :

- une séance judicieusement choisie dans une séquence pédagogique,
- une réflexion didactique et pédagogique sans se limiter à la seule description du déroulé de la séance,
- une prise en compte de l'hétérogénéité des élèves,
- une proposition argumentée de l'évaluation des travaux réalisés par les élèves,
- une analyse réflexive *a posteriori* de la séance,
- une communication écrite de qualité et des documents en annexe judicieusement choisis.

Les futurs candidats sont invités à tenir compte des observations ci-dessus et à consulter les rapports de jury des sessions précédentes. Le jury encourage les candidats non admis à faire évoluer leur RAEP.

3. ÉPREUVE D'ADMISSION : RAPPORT DE L'ÉPREUVE

3.1. Caractéristiques de l'épreuve

Les candidats ont travaillé sur un même sujet portant sur le programme de biotechnologies de la classe de terminale STL. Il avait pour contexte le contrôle qualité dans l'industrie alimentaire.

Tout au long de l'épreuve, les candidats disposent, en plus du sujet, une clé USB individuelle contenant le sujet et différentes ressources numériques : le programme de l'enseignement de biotechnologies au niveau visé, des fiches techniques en lien avec le sujet, des fiches de données de sécurité, le site 3RB (réseau ressources risques biologiques : www.esst-inrs.fr/3rb/), des logiciels de bureautique (libre office®) nécessaires à l'exploitation des résultats et à la présentation de l'exposé.

Des ouvrages dont la liste figure en annexe 2 en page 62 du rapport du jury de la session 2013 du concours, sont également à disposition.

- L'épreuve débute par cinq heures de préparation en laboratoire de biotechnologies.

Au cours des quatre premières heures, les candidats s'approprient le sujet, réalisent plusieurs manipulations en vue de l'exposé à présenter au jury. Ils préparent une séquence de formation en lien avec les travaux pratiques, dont une séance sera détaillée.

Une heure et demie après le démarrage de l'épreuve, les candidats effectuent une démonstration technique de leur choix devant les examinateurs. D'une durée de 15 minutes, cette démonstration se décompose en une phase de réalisation commentée tel qu'ils le feraient avec des élèves, puis une phase d'interaction avec le jury.

La dernière heure de préparation permet de finaliser la présentation de l'exposé.

- La partie orale, d'une durée d'une heure face aux membres du jury, est composée d'un exposé et d'un entretien, dans une salle équipée d'un tableau et d'un dispositif de vidéo-projection.

L'exposé de 30 minutes a pour objectifs de décrire une séquence de formation, de présenter de façon détaillée une des séances constitutive de la séquence en y incluant les investigations menées lors des manipulations réalisées au laboratoire.

L'entretien avec le jury permet au candidat de préciser certains points de sa présentation et de mettre en avant ses qualités pédagogiques, didactiques et sa maîtrise des contenus, notamment les aspects technologiques.

Comme précisé dans l'arrêté du 27 avril 2011, un temps d'entretien maximum 10 minutes est réservé à un échange sur le dossier de RAEP.

3.2. Observations du jury

Pour cette épreuve, le jury évalue les qualités pédagogiques et didactiques, les connaissances scientifiques et technologiques relatives aux techniques mises en œuvre, ainsi que les savoir-faire et attitudes des candidats attendues dans le métier d'enseignant.

Préparation au laboratoire de biotechnologies

Pendant cette première phase, le jury a apprécié pour les meilleurs candidats :

- le respect du nombre minimal de manipulations à réaliser,
- la bonne organisation dans le temps et l'espace et l'adaptabilité face au matériel à utiliser,

Globalement les candidats ont utilisé de façon satisfaisante les outils informatiques.

Des difficultés demeurent pour certains candidats, dans la réalisation de calculs ainsi que la manipulation de certains matériels usuels (ex : fiole jaugée, pipettes semi-automatiques, les ensemencés ...).

Certains candidats ont montré des difficultés dans l'organisation de la démonstration en direction du jury (gestion du temps, organisation paillasse ...) ainsi qu'une maîtrise insuffisante des gestes techniques associés. Cette présentation n'était pas toujours convenablement centrée sur la demande du sujet : il devait s'agir d'une démonstration à destination d'un public élève.

La démarche de prévention des risques n'est pas appliquée de façon spontanée par les candidats.

Compte tenu de ces constats, les membres du jury conseillent aux futurs candidats :

- de prendre un temps de lecture du sujet suffisant permettant d'établir un plan d'organisation tenant compte des temps d'attente pour optimiser la gestion des manipulations choisies et pour pouvoir se consacrer également à la préparation de l'exposé ;
- de se préparer à l'appropriation de documents techniques et à des manipulations que le candidat n'a pas l'habitude de mettre en œuvre, quitte à observer ce type de séance chez un collègue ; d'anticiper et de préparer la démonstration commentée en cherchant à faire apparaître le ou les points critiques de la manipulation ;
- de prendre en compte les attentes de l'enseignement de mesures et instrumentation (exemple : fondamentaux technologiques et métrologie ...).

Partie orale : exposé et entretien

Le jury rappelle que la définition de l'épreuve impose le réinvestissement des investigations menées au laboratoire, notamment les points critiques et résultats, réalisées dans la transposition pédagogique. Il doit nécessairement faire partie de l'exposé.

Pour certains candidats, le jury a apprécié :

- une utilisation adaptée des auxiliaires pédagogiques (ex : tableau, outils numériques) ;
- une bonne maîtrise du temps d'exposé ;
- une posture d'enseignant notamment dans la qualité d'écoute et de réactivité ;
- une présentation de séquence qui a montré des éléments de créativité et prenant réellement en compte l'activité de l'élève ;
- une maîtrise des éléments avancés dans le dossier RAEP ;
- une bonne utilisation du temps d'exposé.

Des difficultés demeurent cependant à différents niveaux.

La séquence et la séance pédagogiques ne doivent pas se limiter à une simple suite des manipulations non reliées. Une prise de recul est nécessaire concernant la partie manipulative afin de dégager un sens pédagogique et didactique. Les activités technologiques doivent être choisies en lien avec les objectifs de formation du programme officiel et doivent permettre de développer des compétences.

Lorsqu'ils sont mal intégrés, les concepts sont difficiles à exprimer et à exposer avec rigueur et précision ; il en est de même pour les savoirs fondamentaux scientifiques et technologiques qui parfois ne sont pas suffisamment maîtrisés.

L'évaluation a été évoquée, souvent de façon très théorique et ses modalités ont rarement été développées.

Les concepts liés à métrologie dans l'exploitation et la restitution des résultats sont en général mal maîtrisés.

Le jury conseille aux candidats :

- de s'approprier les référentiels et les programmes des enseignements technologiques du domaine des biotechnologies génie biologique ;
- d'être en capacité de montrer une certaine prise de recul ou analyse réflexive sur des éléments avancés pour donner du sens aux concepts pédagogiques ou autres évoqués ;
- de maîtriser les démarches liées aux enseignements technologiques, notamment la démarche d'analyses de risques, l'exploitation et la validation de résultats conformément aux règles de métrologie ;
- de réfléchir à une transposition des documents et protocoles du sujet, adaptée à la séance proposée en énonçant des objectifs de formation cohérents et concrets ;
- d'être attentif à la posture adoptée qui doit être celle d'un enseignant ;
- de relire les anciens sujets et rapports de jury pour s'exercer à construire des séquences et séances cohérentes.

CONCLUSION GENERALE

La session 2017 des concours CAPET/CAER interne a admis 6 candidats pour les 6 postes offerts par le Ministère de l'Education nationale : 3 postes dans l'enseignement privé, 3 postes dans l'enseignement public.

L'ensemble du jury tient à féliciter les lauréats. Leur succès au concours de recrutement d'enseignants conduit, dès la rentrée scolaire, à leur nomination en qualité de stagiaire.

Pour l'épreuve d'admissibilité, la plupart des dossiers de RAEP respectait la définition d'épreuve, notamment en termes de forme. Le jury a apprécié les dossiers de RAEP dont la structuration et les contenus personnalisés mettent en valeur les compétences professionnelles développées au cours des années d'exercice des candidats.

La veille de l'épreuve d'admission, les candidats ont été accueillis par la présidente et la secrétaire générale. L'objectif était de préciser aux candidats, les caractéristiques de l'épreuve, son organisation dans le temps, la configuration des locaux mobilisés pendant l'épreuve.

Les candidats admis ont révélé des compétences attendues de la part d'un enseignant : analyse et exploitation efficace des documents, maîtrise des techniques de laboratoire, présentation synthétique, rigoureuse et convaincante des argumentations, maîtrise des contenus, analyse réflexive et enfin qualités d'écoute et de communication certaines.

Si ce concours ne peut être exclusivement réservé aux candidats ayant une expérience d'enseignement en biochimie génie biologique, il est cependant indispensable que les candidats aient pris connaissance de la diversité des enseignements et niveaux de formation auxquels ils seront confrontés en adéquation avec la définition des épreuves.

La diversité des parcours des lauréats montre que ce concours est accessible à des candidats qui savent mettre en valeur leurs acquis et qui ont su élargir leur champ de compétences pour répondre aux différentes dimensions, technologique, pédagogique et didactique attendues au concours.

Pour répondre aux objectifs de l'épreuve d'admission, le candidat doit avoir une réelle maîtrise des notions fondamentales caractéristiques du champ disciplinaire visé par le concours du CAPET CAER de biotechnologies, option biochimie génie biologique. Les supports documentaires de l'épreuve d'admission peuvent aussi bien s'adosser aux programmes des sections technologiques préparant aux baccalauréats scientifiques et technologiques, qu'aux référentiels des sections de technicien supérieur de la filière.

L'expérience d'enseignement se doit d'être doublée d'une préparation sérieuse et rigoureuse pour conduire les candidats à la réussite. Les observations des jurys figurant dans ce rapport ainsi que les rapports précédents, ont vocation à guider les candidats en ce sens.

Le jury tient à remercier, monsieur le Proviseur, madame la directrice déléguée aux enseignements technologiques et l'ensemble des personnels du lycée Jean Rostand de Strasbourg pour l'accueil et l'aide efficace apportés afin que ce concours se déroule dans de bonnes conditions.

SESSION 2017

**CAPET INTERNE
ET CAER**

**Section : BIOTECHNOLOGIES
Option : BIOCHIMIE – GENIE BIOLOGIQUE**

Épreuve pratique d'admission :
Leçon portant sur les programmes des lycées
et des classes post-baccalauréat

**Durée : 6 heures
Coefficient : 2**

*Travaux pratiques : 4 heures
Préparation de l'exposé : 1 heure
Exposé : 30 minutes
Entretien : 30 minutes*

Le sujet comporte 14 pages.

Le candidat doit s'assurer de disposer d'un exemplaire complet dès le début de l'épreuve.

Extrait de la définition de l'épreuve

NOR : MENH1310121A

Épreuve pratique d'admission

Leçon portant sur les programmes des lycées et des classes post-baccalauréat.

L'épreuve a pour but d'évaluer, dans l'option choisie, l'aptitude du candidat à concevoir et organiser une séquence de formation pour un objectif pédagogique imposé et un niveau de classe donné.

Elle prend appui sur les investigations et les analyses effectuées au préalable par le candidat au cours de travaux pratiques à partir d'un ou plusieurs protocoles et comporte un exposé suivi d'un entretien avec les membres du jury.

La séquence de formation s'inscrit dans les programmes de lycée ou de classes post-baccalauréat du lycée dans la discipline considérée.

Le candidat est amené au cours de sa présentation orale à expliciter sa démarche méthodologique, à mettre en évidence les informations, données et résultats, issus des investigations conduites au cours des travaux pratiques qui lui ont permis de construire sa séquence de formation, à décrire la séquence de formation qu'il a élaborée, à présenter de manière détaillée une des séances de formation constitutives de la séquence.

Au cours de l'entretien avec le jury, le candidat est conduit plus particulièrement à préciser certains points de sa présentation ainsi qu'à expliquer et justifier les choix de nature didactique et pédagogique qu'il a opérés dans la construction de la séquence de formation présentée. [...]

Conseils du jury :

Le candidat effectue un choix raisonné des compétences à développer chez les élèves ou étudiants, en veillant à la cohérence globale de la séquence bâtie et de la séance détaillée. Les objectifs pédagogiques de la séance seront développés.

Les investigations s'appuieront sur trois protocoles mis en œuvre, par le candidat, au laboratoire. Un de ces protocoles au moins conduira à l'exploitation de résultats quantitatifs, qui sera développée lors de la présentation orale.

L'exposé et l'entretien avec le jury permettront au candidat de présenter ses investigations, d'argumenter les choix effectués et d'explicitier sa démarche pédagogique.

La séquence et la séance détaillée à construire, concernent **l'enseignement de biotechnologies** en classe de **terminale STL, spécialité biotechnologies**.

Dans le contexte du **contrôle qualité dans l'industrie alimentaire**, les activités technologiques proposées doivent permettre de développer des compétences du programme.

Ressources documentaires proposées dans le sujet

Documents d'aide à la contextualisation

- Fiche documentaire 1 : Article de l'Usine Nouvelle sur le lancement de Danio ®
Fiche documentaire 2 : Principales méthodes de dosage des protéines mises en œuvre au laboratoire d'enseignement
Fiche documentaire 3 : Détermination de la teneur en protéines par mesure de l'azote total par la méthode de Kjeldahl
Fiche documentaire 4 : Recherche et dénombrement de coliformes dans les produits laitiers

Fiches techniques et modes opératoires

- Protocole 1 : Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Folin-Lowry
Protocole 2 : Détermination de la teneur en protéines par mesure de l'azote total par la méthode de Kjeldahl
Protocole 3 : Recherche et dénombrement de coliformes par ensemencement dans la masse en double couche
Protocole 4 : Orientation en vue de l'identification d'un contaminant par l'étude des caractères morphologiques et enzymatiques
Protocole 5 : Dosage du gluten par technique ELISA

Aide-mémoire de métrologie

Echantillons mis à disposition

- Suspension de Danio ® , **notée P** pour le dosage des protéines par la méthode de Folin-Lowry
Minéralisat de Danio ® , **noté M** pour la mesure de l'azote total par la méthode de Kjeldahl
Suspension de Danio ® , **notée D** pour le dénombrement de coliformes
Isolement sur gélose EMB à partir de Danio ® , **noté EMB**, en vue de l'identification d'un contaminant
Extrait protéique obtenu à partir du Danio ® , **noté EX** pour le dosage du gluten par technique ELISA

Ressources sur support numérique

Fiches et documents techniques

- Fiches techniques de composition des milieux de culture
- Fiches de données de sécurité
- Démarche dichotomique d'orientation en vue de l'identification d'une bactérie
- Protocole d'utilisation du distillateur semi-automatique Gerhardt – Vapodest

Logiciels : suite bureautique libre office, régressi

Programmes du cycle terminal de STL biotechnologies : MI, CBSV, Biotechnologies, ETLV.

Site 3RB : site du réseau ressources risques biologiques

Ressources documentaires à disposition dans le laboratoire

Prévention des risques chimiques : Mention de Danger et Conseils de Prudence

Liste des ouvrages scientifiques et technologiques disponibles

Précis de biochimie. Harper

Dictionnaire des techniques de microbiologie. CRDP

Les produits laitiers (2° Éd.). TEC et DOC

Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. LAVOISIER

Science des aliments : Biochimie - Microbiologie - Procédés - Produits. (Volume 1 + Volume 2). LAVOISIER

Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire. FLAMMARION

Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques. EDUCAGRI

Aliments et boissons - Filières et produits. CRDP

Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. CRDP

Microbiologie alimentaire. Les fermentations alimentaires. TEC et DOC

Microbiologie. DUNOD (initiation à la ..)

Microbiologie. PRESCOTT

Danone lance les yaourts grecs en France mais ne peut les appeler ni "yaourt", ni "grec"

Par Adrien Cahuzac - Publié le 02 octobre 2013, à 14h00

► Produits alimentaires, Danone



© Danone

Le groupe laitier Danone va proposer en France, début 2014, une préparation laitière hyperprotéinée baptisée Danio. Il tente ainsi de reproduire l'immense succès des "yaourts grecs" aux Etats-Unis.

C'était murmuré depuis plusieurs mois. Danone lance en France une offre d'encas hyperprotéinés à l'image des yaourts grecs qui font actuellement fureur aux Etats-Unis. Baptisés Danio, ils arriveront dans les rayons des magasins français en janvier 2014. "C'est un nouveau segment qui n'existe pas encore en France, mais qui répond à une réelle attente des consommateurs en matière de snacking", explique Olivier Delamea, le directeur général de Danone Produits Frais. Selon lui, "les Français consomment de plus en plus en dehors des trois repas

principaux. 80 % d'entre eux snackent au cours de la journée".

12% DE PROTÉINES ET 0 % DE MATIÈRE GRASSE

Dix-huit mois ont été nécessaires à Danone pour mettre au point sa nouvelle recette et lancer Danio, déjà expérimentée avec succès en Grande-Bretagne depuis début 2013. "Elle est issue d'une base de yaourt qui contient trois fois plus de protéines qu'un yaourt classique. Il faut 3 litres de lait pour faire un kilo de Danio contre 1 litre de lait pour un kilo de yaourt classique", détaille Olivier Delamea. Pour des raisons réglementaires, Danio ne pourra pas revendiquer l'appellation "yaourt" ni "grec", comme c'est le cas aux Etats-Unis. En France, la définition officielle impose que le terme "yaourt" soit utilisé uniquement pour un lait fermenté par le développement des bactéries lactiques thermophiles *Lactobacillus* et *Streptococcus thermophilus* devant êtreensemencées simultanément. Quant à l'appellation de "grec", la justice britannique a fait condamner début 2013 la marque américaine Chobani à enlever ce terme de ses produits, expliquant qu'un yaourt grec ne pouvait être fabriqué qu'en Grèce.

Danio se présentera sous la forme de pots coniques de 150 grammes, contenant 12 % de protéines, déclinés sous plusieurs recettes : 0 % ou 2,4 % de matière grasse, accompagnées de 6 coulis de fruits au choix.

FABRICATION EN NORMANDIE

Pour lancer sa nouvelle offre, le groupe français a investi "plusieurs millions d'euros", dans une nouvelle ligne de production dédiée, située dans son usine du Pays de Bray, à Ferrières-en-Bray (Seine-Maritime). L'investissement concerne à la fois le process de cette préparation, qui utilise une technologie spécifique de séparation et concentration, à la manière des fromages blancs, et le conditionnement en pots individuels coniques.

Pour commercialiser Danio, Danone va s'essayer à de nouveaux circuits de distribution. Outre les grandes surfaces classiques, il entend s'implanter également dans les stations-services, les cinémas et les salles de sport, pour mieux cibler la clientèle des "25 à 40 ans", à qui se destine en priorité cette offre d'encas.

Le groupe reste prudent en matière d'ambition commerciale. Olivier Delamea ne parle que "d'un objectif pour Danone de 10 à 13 % à terme", sur le marché du snacking.

Lancé aux Etats-Unis en 2007, à l'initiative d'un immigré d'origine turque, Hamdi Ulukaya et sa marque Chobani, le segment des yaourts hyperprotéinés connaît un succès sans précédent. La catégorie pèse aujourd'hui plus de 40 % d'un marché américain du yaourt estimé à 7,3 milliards de dollars en 2012, selon l'institut Packages Facts. Depuis, la catégorie a essaimé en Grande-Bretagne fin de 2012, avec le lancement des yaourts Chobani puis Danio. En France, seule la PME Michel et Augustin a lancé au début de l'année 2013 un yaourt hyperprotéiné, mais de manière plus confidentielle.

Adrien Cahuzac

Source : **CAHUZAC ADRIEN, PRODUITS ALIMENTAIRES DANONE**, 2013, Disponible sur : www.usinenouvelle.com, consulté le 10 / 04 / 2017

Fiche documentaire 2 : Principales méthodes de dosage des protéines mises en œuvre au laboratoire d'enseignement

Les protéines peuvent être dosées :

- Indirectement par **détermination de la concentration massique en azote (méthode de Kjeldahl)** et utilisation d'un coefficient de conversion tenant compte de la teneur en azote des acides aminés constitutifs des protéines de l'échantillon. Cette méthode est la **méthode officielle de référence**.
- Directement par spectrophotométrie et/ou autres méthodes.

Les méthodes spectrophotométriques reposent sur la formation d'un complexe coloré entre le réactif utilisé et les protéines. Quelques exemples sont présentés ci-dessous.

- La méthode du **biuret** repose sur la formation d'un complexe coloré violet entre les liaisons peptidiques et les ions cuivre II (Cu^{2+}), en milieu alcalin, du réactif de Gornall. Cette méthode est peu spécifique et présente une limite de quantification inférieure comprise entre 1 et 20 mg. La mesure de l'absorbance s'effectue à 540 nm.
- La méthode de **Lowry** repose sur la formation d'un complexe coloré bleu entre les protéines et le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique). La réaction colorée est précédée d'une action de sels de cuivre, en milieu basique, sur la liaison peptidique. Cette méthode est peu spécifique et présente une limite de quantification inférieure comprise entre 5 et 10 μg . La mesure de l'absorbance s'effectue de 600 à 750 nm. Elle ne suit pas rigoureusement la relation de Beer-Lambert, la linéarité de la réponse n'est obtenue que pour des concentrations inférieures à 10 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$.
- La méthode de **Bradford** repose sur la formation, en milieu acide, d'un complexe coloré bleu avec le bleu de Coomassie. Cette méthode est relativement spécifique et présente une limite de quantification inférieure comprise entre 2 et 5 μg . La mesure de l'absorbance s'effectue à 595 nm.

Autres méthodes applicables au dosage des protéines :

- Méthode de **Christian-Warburg** : La plupart des protéines renfermant de la tyrosine (λ_{max} voisin de 280 nm), la mesure de l'absorption à 280 nm constitue une méthode extrêmement rapide pour estimer la concentration protéique d'une solution. Cette technique présente l'avantage de ne pas détruire les protéines, elle est notamment utilisée pour repérer ou doser les protéines en sortie de colonne lors d'un fractionnement par chromatographie.
- Méthode opacimétrique : Cette méthode repose sur la mesure de la lumière transmise à travers une solution protéique.
- Méthodes immunologiques : immunodiffusion, immunoprécipitation et immunoenzymologie.

Fiche documentaire 3 : Détermination de la teneur en protéines par mesure de l'azote total par la méthode de Kjeldahl

Cette méthode comprend trois étapes essentielles :

- minéralisation des matières organiques,
- distillation de l'ammoniac formé,
- dosage de l'ammoniac distillé.

1. Principe

L'azote à doser est transformé en sulfate d'ammonium par minéralisation en milieu acide et oxydant (acide sulfurique concentré), à chaud, en présence de catalyseur.

Le minéralisat est alcalinisé pour déplacer l'ammoniac (NH_3) que l'on distille.

A la sortie de l'appareil à distiller, l'ammoniac est piégé dans une solution d'acide borique en excès.

Le sel formé (dihydrogénoborate d'ammonium) est décomposé par un acide fort, en présence d'un indicateur coloré tel le réactif de Groak. Ce dernier associe une solution d'acide borique au réactif de Tashiro qui est un indicateur de pH, violet en milieu acide et vert en milieu basique.

2. Equations

2.1. Minéralisation



2.2. Déplacement de l'ammoniac



2.3. Fixation de l'ammoniac par l'acide borique



2.4. Dosage de l'ammoniac par un acide fort



Fiche documentaire 4 : Recherche et dénombrement de coliformes dans les produits laitiers

Parmi les analyses microbiologiques effectuées sur les produits laitiers tels que les yaourts, on retrouve la recherche et le dénombrement des coliformes. En cas de recherche positive, la nature de ces derniers (coliforme totaux, coliformes thermotolérants ou *E. coli*) signe l'origine possible de la contamination et son niveau de gravité.

Dénombrement de micro-organismes en milieu solide

1. Nombre de boîtes de Pétri par dilution

Pour les méthodes de dénombrement en microbiologie des aliments, une boîte par dilution doit être utilisée, pour les laboratoires qui fonctionnent sous assurance qualité selon les principes de l'ISO 17025. Si une seule dilution est réalisée ou si un laboratoire ne fonctionne pas sous assurance qualité, alors deux boîtes par dilution doivent être utilisées selon l'ISO 8199.

2. Calcul et expression des résultats

Le calcul du nombre d'UFC par mL ou par g de produit, consiste à faire la moyenne pondérée du nombre de colonies obtenues sur deux dilutions successives dont l'une, au moins, présente un minimum de 10 colonies. Ce calcul est valable dans le cas où le rapport du nombre de colonies entre les deux dilutions est cohérent avec le facteur de dilution.

Le dénombrement des colonies est réalisé sur des boîtes présentant :

- moins de 300 UFC pour un milieu non sélectif,
- moins de 150 UFC pour un milieu sélectif.

Il convient de retenir deux boîtesensemencées à l'aide de dilutions successives dont l'une des deux présente au moins 10 UFC.

Equation aux grandeurs :

$$N = \frac{\sum C}{V \cdot d \cdot 1,1}$$

Avec :

N = concentration en UFC par mL

$\sum C$ = somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues

V = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en mL

d = dilution correspondant à la première boîte retenue (inoculum le moins dilué).

Exprimer le résultat en écriture scientifique, avec deux chiffres significatifs.

Rapporter le résultat comme la concentration en micro-organismes par millilitre (produits liquides) ou par gramme (autres produits).

Source : d'après **AFNOR, NORME NF EN ISO 7218**, Octobre 2007
Disponible sur sagaweb.afnor.org, consulté le 10 / 04 / 2017

Protocole 1 : Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Folin-Lowry

1. Matériels spécifiques, réactifs et gestion des déchets

- Suspension de Danio ® , **notée P** préparée comme suit : pesée exacte de 1,50 g de Danio ® introduite dans une fiole jaugée de 500 mL complétée avec de l'eau physiologique
- Solution étalon de sérum albumine bovine à 5,00 g.L⁻¹, **notée Etalon SAB**
- Etalon de contrôle de protéines à 0,300 g.L⁻¹, **notée EC**
- Eau physiologique

- Solution de Lowry (contenant une solution alcaline de sulfate de cuivre)	 SGH09	Attention	H410	P273
- Réactif de Folin dilué au 1/2	 SGH05	Danger	H314	P280, P305 +P351 + P338, P310

- Les réactifs non contaminés seront récupérés dans les récipients d'origine, pour une utilisation ultérieure.
- Les effluents du dosage seront récupérés dans un bidon approprié, étiqueté en blanc « déchets divers ».

2. Pratique opératoire

Préparation de la solution étalon

A partir d'une solution de SAB à 5,00 g.L⁻¹ de protéine, préparer une solution étalon de SAB à 0,25 g.L⁻¹ de protéine.

Réalisation de la gamme d'étalonnage

	Témoin réactif	1	2	3	4	5
Volume de solution de SAB à 0,25 g.L ⁻¹ de protéine (mL)	0,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Volume d'eau physiologique (mL)	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0,0
Volume de solution de Lowry (mL)	5,0					
Mélanger le contenu des tubes Laisser au repos pendant 10 min						
Volume de réactif de Folin dilué au 1/2 (mL)	0,5					
Attendre 30 min Lire l'absorbance à 650 nm						

Réalisation de l'ensemble des tubes dans les mêmes conditions

- Etalon de contrôle
- Suspension de Danio ® , **notée P** : réaliser le dosage sur une prise d'essai de 0,5 mL.

Réaliser, si besoin, un témoin échantillon permettant d'éliminer la possible opalescence de la suspension de Danio ® .

Données : Intervalle d'acceptabilité pour l'étalon de contrôle : [0,280 ; 0,320] g.L⁻¹

$s_r = 0,25$ g pour 100 g de Danio ®
 $u_c = 0,40$ g pour 100 g de Danio ®

Protocole 2 : Détermination de la teneur en protéines par mesure de l'azote total par la méthode de Kjeldahl

1. Matériels spécifiques, réactifs et gestion des déchets

- Distillateur semi-automatique Gerhardt – Vapodest (Protocole d'utilisation fourni dans le dossier numérique et à disposition à côté de l'appareil)
- Matras de minéralisation
- Fiole d'Erlenmeyer de 250 mL

- Hydroxyde de sodium, solution concentrée exempte de carbonates, $d = 1,33$	 SGH05	Danger	H290-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
- Solution d'acide chlorhydrique à $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$	 SGH05	Attention	H290	
- Réactif de Groak	 SGH02	Danger	H225	P210
- Minéralisat de Danio ® , noté M	 SGH05	Danger	H314	P280-P305 + P351 + P338-P310

- Les réactifs non contaminés seront récupérés dans les récipients d'origine, pour une utilisation ultérieure.
- Les effluents du dosage seront neutralisés avant élimination à l'évier.

2. Pratique opératoire

2.1. Minéralisation

La minéralisation a déjà été réalisée en plaçant dans le matras de minéralisation :

- Danio ® 0,600 g
- catalyseur 3 g environ
- H_2SO_4 concentré 10 mL

Le **minéralisat M** est présenté dans le matras de minéralisation.

2.2. Entraînement de l'ammoniac à la vapeur d'eau (→ Avec l'aide d'un examinateur)

- Placer le matras de minéralisation dans l'appareil semi-automatique de distillation
- Placer une fiole d'Erlenmeyer de 250 mL contenant environ 40 mL de réactif de Groak pour recevoir le distillat. Ajouter éventuellement de l'eau distillée pour que l'allonge trempe dans le liquide.
- Programmer un ajout de : 40 mL d'eau distillée
50 mL d'hydroxyde de sodium concentré
- Programmer un temps de distillation de 4 minutes

2.3. Dosage direct de l'ammoniac

Doser l'ammoniac distillé et fixé par le réactif de Groak par la solution d'acide chlorhydrique.

Données :

- L'azote représente environ 16 % en masse des protéines du Danio ® . On négligera l'azote non protéique
- Masse molaire atomique de l'azote = 14 g.mol^{-1}
- $u_c = 0,20 \text{ g}$ d'azote pour 100 g de Danio ®

Protocole 3 : Recherche et dénombrement de coliformes par ensemencement dans la masse en double couche

1. Matériels spécifiques, réactifs

- Pipettes graduées de 1 mL
- Vortex
- 3 boîtes de Pétri stériles de 90 mm de diamètre

- 10 mL de suspension de Danio ®, **notée D**. Cette suspension a été préparée comme suit :
 - Introduire 10 g de Danio ® dans un flacon contenant 90 mL d'eau peptonée
 - Homogénéiser à l'aide de billes de verre stériles préalablement introduites dans le flacon
- 3 tubes de 9 mL d'eau physiologique stérile
- 3 tubes de 12 mL de gélose DCL (fiche technique fournie dans le dossier numérique) en surfusion à 55 °C
- 3 tubes de 5 mL de gélose DCL en surfusion à 55 °C

2. Recherche et dénombrement des coliformes en milieu solide (Normes NF ISO 5541-2)

- Réaliser les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} de la suspension de Danio ® , **notée D**, à l'aide des tubes de 9 mL d'eau physiologique stérile.
- Pour chacune des dilutions, répartir 1 mL de suspension diluée au fond d'une boîte de Petri stérile.
- Verser 12 mL de gélose DCL en surfusion à 55 °C.
- Homogénéiser délicatement.
- Laisser solidifier.
- Verser 5 mL de gélose DCL en surfusion à 55 °C.
- Laisser solidifier.
- Incuber selon les recommandations de la fiche technique DCL fournie dans le dossier numérique.

Donnée :

Critère de qualité : le Danio ® ne doit pas présenter plus de 10 coliformes par gramme

A la demande des candidats, des résultats (boîtes après incubation) peuvent leur être fournis, si la manipulation a été menée jusqu'à l'incubation.

Protocole 4 : Orientation en vue de l'identification d'un contaminant par l'étude des caractères morphologiques et enzymatiques

Les analyses microbiologiques quantitatives peuvent être complétées par l'identification des contaminants. Seules les premières étapes de la démarche seront réalisées : la coloration de Gram et le test enzymatique. Elles permettront d'orienter l'identification du contaminant (Démarche dichotomique d'orientation en vue de l'identification d'une bactérie).

1. Matériel et réactifs

Isolement sur gélose EMB (fiche technique fournie dans le dossier numérique) à partir du Danio ®, noté EMB.

2. Description d'une colonie suspecte

- Repérer une colonie suspecte.
- Proposer une orientation.

3. Confirmation de l'orientation

- A partir d'une colonie suspecte, réaliser une coloration de Gram (fiche technique fournie par le centre).
- Réaliser le test enzymatique permettant d'orienter l'identification (fiche technique « Tests enzymatiques » fournie par le centre).

Protocole 5 : Dosage du gluten par technique ELISA

Le dosage de l'allergène est réalisé par technique ELISA grâce à un anticorps monoclonal dirigé contre les gliadines, protéines constitutives du gluten.

1. Matériels spécifiques, réactifs et gestion des déchets

- Barrette sensibilisée avec 100 µL d'anticorps monoclonal dirigé contre les gliadines, **notée T**
- Barrette pour réaliser les dilutions, **notée D**
- Cadre de barrette
- Parafilm
- Ravier pour lavages
- Agitateur de microplaques
- Lecteur de microplaques (**fiche technique fournie par le centre**)

- Tampon PBS + Tween à 0,1 % en pissette, **noté PBS Tween**
- Tampon PBS : 2 mL, **noté PBS**
- Solution étalon de gliadines à 0,200 µg.mL⁻¹ : 300 µL, **notée GLD**
- Anticorps anti-gliadines couplé à une peroxydase, dilué en PBS : 1 mL, **noté Conjugué**

- O-phénylène diamine en tampon citrate et en présence d'H ₂ O ₂ , préparé extemporanément: 2 mL, noté Substrat, à demander à l'examinateur	 SGH06  SGH08  SGH09		H301- H312 + H332- H317- H319- H341- H351- H371- H410	P260-P273-P280- P301 + P310-P305 + P351 + P338-P501
- Solution d'arrêt H ₂ SO ₄ à 2 mol.L ⁻¹ : 1 mL	 SGH05	Danger	H314	P280-P305 + P351 + P338-P310

- Extrait protéique obtenu à partir du Danio ®, **noté EX** : 200 µL
 L'extrait protéique, EX a été obtenu de la façon suivante :
 - pesée de 1,00 g de Danio ®,
 - ajout de 10 mL de solution aqueuse d'éthanol à 40 % (v/v),
 - agitation 4 fois 30 secondes au vortex puis centrifugation 10 minutes à 3 000 g,
 - prélèvement du surnageant,
 - dilution du surnageant au 1/50.

- Les déchets issus des lavages doivent être traités comme des DASRI et versés dans des récipients de collecte adaptés.

2. Pratique opératoire

2.1. Préparation de la gamme d'étalonnage

A partir de la solution étalon de gliadines, préparer une gamme de dilution géométrique de raison $\frac{1}{2}$, allant de 1/1 à 1/64 en tampon PBS :

- Introduire 200 μL de solution étalon de gliadines dans la cupule A1 de la barrette D.
- Introduire 100 μL de tampon PBS dans les cupules A2 à A7 de la barrette D.
- Transférer 100 μL du contenu de la cupule A1 à la cupule A2 de la barrette D.
- Homogénéiser par aspiration – refoulement.
- Transférer 100 μL du contenu de la cupule A2 à la cupule A3 de la barrette D.
- Homogénéiser par aspiration – refoulement.
- Reproduire les deux dernières étapes jusqu'à la cupule A7 de la barrette D.

2.2. Dosage des gliadines

- Rejeter le contenu des cupules sensibilisées et égoutter les puits sur papier absorbant.
- Laver 3 fois avec 200 μL de tampon PBS –Tween.
- Déposer 50 μL de chacune des cupules de la gamme de dilution préparée pour l'étalonnage dans les puits A1 à A7.
- Déposer 50 μL de tampon PBS dans les puits B1 et B2.
- Déposer 50 μL de l'extrait protéique EX à doser en double exemplaire, dans les puits B3 à B4.
- Incuber 20 minutes à température ambiante sous agitation.
- Rejeter le contenu des cupules et laver 3 fois avec 200 μL de tampon PBS –Tween.
- Déposer 50 μL de conjugué dans chacune des cupules A1 à A7 et B1, B3 et B4.
- Déposer 50 μL de tampon PBS dans B2.
- Incuber 20 minutes à température ambiante sous agitation.
- Rejeter le contenu des cupules et laver 3 fois avec 200 μL de tampon PBS –Tween.
- Déposer 50 μL de substrat dans les cupules A1 à A7 et B1 à B4 et laisser agir 1 min 30 (jusqu'à apparition d'une coloration).
- Ajouter 20 μL de solution d'arrêt H_2SO_4 dans chacune des cupules.
- Lire rapidement les absorbances au lecteur de microplaques à 490 nm (le blanc est réalisé sur l'air).

Données :

- Ecart type de répétabilité (s_r) de la technique ELISA : 0,025 unité d'absorbance
- La concentration massique de gluten dans l'échantillon correspond à 2 fois la concentration massique de gliadines déterminée.
- Un aliment est considéré « sans gluten » pour une proportion de gluten inférieure à 20 μg de gluten par gramme d'aliment.

Aide mémoire de métrologie

On considère que les qualités de justesse et de fidélité des procédures de mesure utilisées ont été étudiées et reconnues.

Vérification de la bonne exécution de la procédure

Lorsqu'un mesurage est effectué, deux types de vérification sont proposés afin de pouvoir accepter les valeurs mesurées obtenues pour des échantillons inconnus.

On effectue, dans la même série de mesurages :

- un essai sur un étalon de contrôle ; la valeur mesurée obtenue est notée y_{EC} .
- un ou deux essais sur chacun des échantillons à doser.

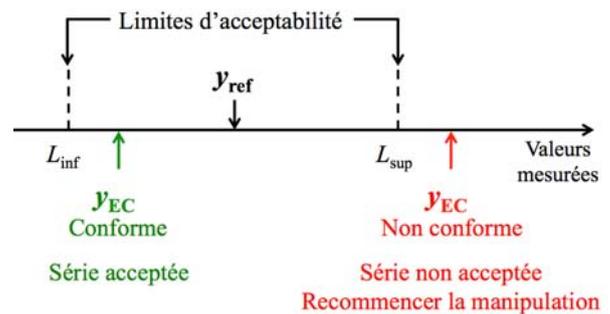
Vérification de l'exactitude de mesure à l'aide d'un étalon de contrôle

On dispose d'un étalon de contrôle avec sa valeur conventionnelle (y_{ref}) ainsi que ses limites d'acceptabilité (L_{inf} et L_{sup}). On recherche si la valeur mesurée (y_{EC}) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit :

$$L_{inf} \leq y_{EC} \leq L_{sup}$$

Si la valeur mesurée y_{EC} appartient à l'intervalle d'acceptabilité :

- la valeur mesurée y_{EC} est **exacte**, donc **conforme** : l'exécution de la procédure de mesure est satisfaisante dans les conditions du jour ;
- en conséquence, les valeurs mesurées obtenues pour les échantillons inconnus dans la même série sont **acceptés**.



Si la valeur mesurée y_{EC} n'appartient pas à l'intervalle d'acceptabilité :

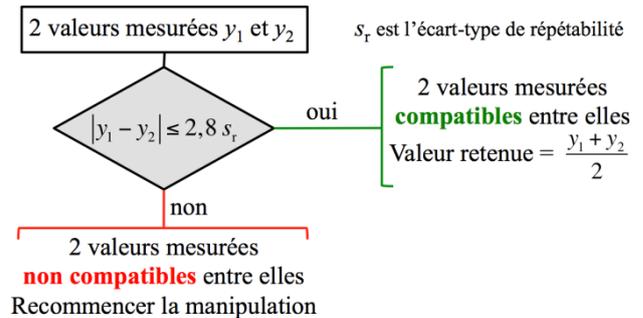
- la valeur mesurée n'est **pas exacte** donc **non conforme** : l'exécution de la procédure de mesure n'est pas satisfaisante dans les conditions du jour ;
- en conséquence, les valeurs mesurées de toute la série **ne sont pas acceptées**; il faut rechercher l'origine de la mauvaise exactitude avant de recommencer la manipulation.

Vérification de la compatibilité métrologique dans le cas de deux essais effectués en répétabilité

Soient deux valeurs mesurées (y_1 et y_2) pour un même échantillon et l'écart-type de répétabilité (s_r) de la procédure de mesure correspondant à cet échantillon. Le logigramme de compatibilité à appliquer est le suivant :

Si les deux valeurs mesurées sont compatibles :
la valeur retenue est la moyenne.

Si les deux valeurs mesurées ne sont pas compatibles : il faut en rechercher la cause et recommencer la manipulation.



Guide pour l'expression du résultat de mesure

L'incertitude élargie (U) est directement donnée avec son niveau de confiance ou calculée en multipliant l'incertitude-type composée (u_c) par le facteur d'élargissement k , par exemple $k = 2$ pour un niveau de confiance de 95 %.

L'incertitude élargie est ensuite arrondie. Selon les cas :

- si le premier chiffre significatif est 1, 2 ou 3 : garder deux chiffres significatifs ;
- si le premier chiffre significatif est 4 ou plus : garder un chiffre significatif.

La valeur retenue du résultat est arrondie de la façon suivante : le dernier chiffre significatif doit être à la même position décimale que le dernier chiffre de l'incertitude élargie.

Expression du résultat de mesure :

Grandeur mesurée (analyte ; système) = (valeur retenue $\pm U$) unité