



Secrétariat Général

Direction générale des  
ressources humaines

Sous-direction du recrutement

MINISTÈRE  
DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE

---

## Concours du second degré – Rapport de jury

Session 2013

### CERTIFICAT D'APTITUDE AU PROFESSORAT DE L'ENSEIGNEMENT TECHNIQUE (CAPET)

CONCOURS INTERNE ET CAER

SECTION : BIOTECHNOLOGIES

Option : BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE

Rapport de jury présenté par Monsieur François MATRINGE  
Président du jury

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

## SOMMAIRE

<b>Composition du jury .....</b>	<b>Page 3</b>
<b>Renseignements statistiques CAPET.....</b>	<b>Page 4</b>
<b>CAER .....</b>	<b>Page 5</b>
<b>Epreuve d'admissibilité</b>	
<b>Reconnaissance des acquis de l'expérience professionnelle</b>	
<b>Rapport .....</b>	<b>Page 7</b>
<b>Epreuve d'admission</b>	
<b>Leçon portant sur les programmes des lycées et des classes post-baccalauréat</b>	
<b>Sujet N°1 .....</b>	<b>Page 11</b>
<b>Sujet N°2 .....</b>	<b>Page 40</b>
<b>Rapport .....</b>	<b>Page 63</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>Page 67</b>
<b>Extraits de l'arrêté 19 avril 2013 fixant les modalités d'organisation des concours du certificat d'aptitude au professorat de l'enseignement technique .....</b>	<b>Page 69</b>

## COMPOSITION DU JURY

### **Président du jury**

François MATRINGE - Inspecteur d'Académie/Inspecteur Pédagogique Régional - Rectorat de Toulouse

### **Vice-présidents**

Joël CNOKAERT - Inspecteur d'Académie/Inspecteur Pédagogique Régional - Rectorat d'Aix-Marseille

### **Secrétaire général**

Fabrice MARTIN - Professeur Agrégé - Lycée technologique Marie Curie à MARSEILLE

Adjointe au Secrétaire Général

Anne LAURENT - Professeure certifiée - Lycée technologique Marie Curie Marseille

### **Membres**

Sébastien BLANCHET - Professeur Agrégé - Lycée technologique Marie Curie à MARSEILLE

Caroline BONNEFOY - Inspecteur d'Académie/Inspecteur Pédagogique Régional - Rectorat de VERSAILLES

Christine CHEVALIER - Professeur Certifié - Lycée général et technologique René Char à AVIGNON

Pascal CHILLET - Professeur Agrégé - Lycée Polyvalent Jean Mermoz à MONTPELLIER

Laurent DESFARGES - Professeur Agrégé - Lycée technologique St Louis à BORDEAUX

Christophe DOUCET - Professeur Agrégé - Lycée technologique St Louis à BORDEAUX

Isabelle FALLER \_ Inspecteur d'Académie /Inspecteur Pédagogique Régional – Rectorat de Strasbourg

Jean-Luc LESTRA – Inspecteur d'Académie/Inspecteur Pédagogique Régional - Rectorat de GRENOBLE

Pascal FRAPERIE - Professeur Agrégé - Lycée technologique St Louis à BORDEAUX

Emmanuelle GAY - Professeur Agrégé - Lycée général et technologique Privé Notre Dame à TOULON

Christine MONTIXI - Professeur Agrégé - Lycée technologique Marie Curie à MARSEILLE

Jean-François TRUCCHI - Professeur Agrégé - Lycée technologique Marie Curie à MARSEILLE

### **Membre représentant de l'enseignement privé**

Emmanuelle GAY - Professeur Agrégé - Lycée général et technologique privé Notre Dame à TOULON

## RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

### CAPET INTERNE

<b>Nombre de postes .....</b>	<b>5</b>
<b>Candidats inscrits .....</b>	<b>119</b>
<b>Candidats présents à l'épreuve d'admissibilité .....</b>	<b>30</b>
<b>Candidats admissibles .....</b>	<b>14</b>
<b>Candidats présents aux épreuves d'admission .....</b>	<b>14</b>
<b>Candidats proposés pour l'admission .....</b>	<b>5</b>
<b><u>Epreuve d'admissibilité</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents .....</b>	<b>8,46</b>
<b>Moyenne des candidats admissibles .....</b>	<b>11,62</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admissible .....</b>	<b>10,00</b>
<b>Note maximale .....</b>	<b>13,00</b>
<b><u>Epreuve d'admission</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents .....</b>	<b>8,91</b>
<b>Moyenne des candidats admis .....</b>	<b>12,64</b>
<b>Note maximale .....</b>	<b>16,40</b>
<b><u>Ensemble du concours</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents .....</b>	<b>9,82</b>
<b>Moyenne la plus élevée .....</b>	<b>15,27</b>
<b>Moyenne des candidats admis .....</b>	<b>12,40</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admis .....</b>	<b>10,23</b>

## RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

### CAER

<b>Nombre de postes.....</b>	<b>6</b>
<b>Candidats inscrits.....</b>	<b>48</b>
<b>Candidats présents à l'épreuve d'admissibilité.....</b>	<b>17</b>
<b>Candidats admissibles.....</b>	<b>10</b>
<b>Candidats présents aux épreuves d'admission.....</b>	<b>8</b>
<b>Candidats proposés pour l'admission.....</b>	<b>4</b>
<b><u>Epreuve d'admissibilité</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents.....</b>	<b>19,80</b>
<b>Moyenne des candidats admissibles.....</b>	<b>10,85</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admissible.....</b>	<b>9,00</b>
<b>Note maximale.....</b>	<b>12,00</b>
<b><u>Epreuve d'admission</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents.....</b>	<b>9,75</b>
<b>Moyenne des candidats admis.....</b>	<b>12,10</b>
<b>Note maximale.....</b>	<b>13,80</b>
<b><u>Ensemble du concours</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents.....</b>	<b>10,09</b>
<b>Moyenne la plus élevée.....</b>	<b>13,07</b>
<b>Moyenne des candidats admis.....</b>	<b>11,87</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admis.....</b>	<b>10,90</b>

*Epreuve d'admissibilité : Reconnaissance des acquis de  
l'expérience professionnelle  
(RAEP)*

## RAPPORT SUR L'ÉPREUVE DE RECONNAISSANCE DES ACQUIS DE L'EXPERIENCE PROFESSIONNELLE

Coefficient : 1

Rapport établi par : M. BLANCHET, Mme BONNEFOY, Mme CHEVALIER, M. CHILLET, M. CNOKAERT, M. DESFARGES, M. DOUCET, Mme FALLER, M. FRAPERIE, Mme GAY, M. LESTRA, M. TRUCCHI ;

Résultats :

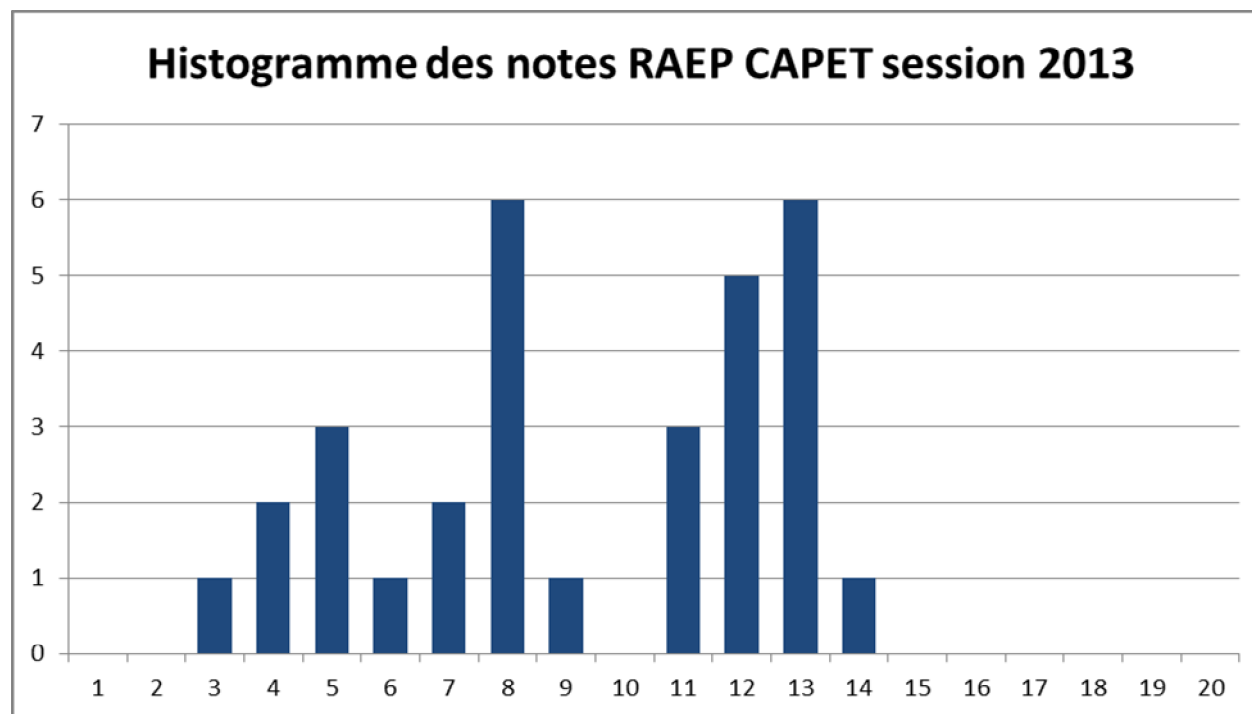
### CAPET interne

Moyenne générale : 8,46

Répartition des notes :

<1..... 0	≥ 6 et < 7 ..... 2	≥ 12 et < 13 ..... 5
≥ 1 et < 2..... 0	≥ 7 et < 8 ..... 6	≥ 13 et < 14 ..... 1
≥ 2 et < 3 ..... 1	≥ 8 et < 9 ..... 1	≥ 14 et < 15 ..... 0
≥ 3 et < 4 ..... 2	≥ 9 et < 10 ..... 0	≥ 15 et < 16 ..... 0
≥ 4 et < 5 ..... 3	≥ 10 et < 11 ..... 3	≥ 16 et < 17 ..... 0
≥ 5 et < 6 ..... 1	≥ 11 et < 12 ..... 5	≥ 17 et < 18 ..... 0

### HISTOGRAMME



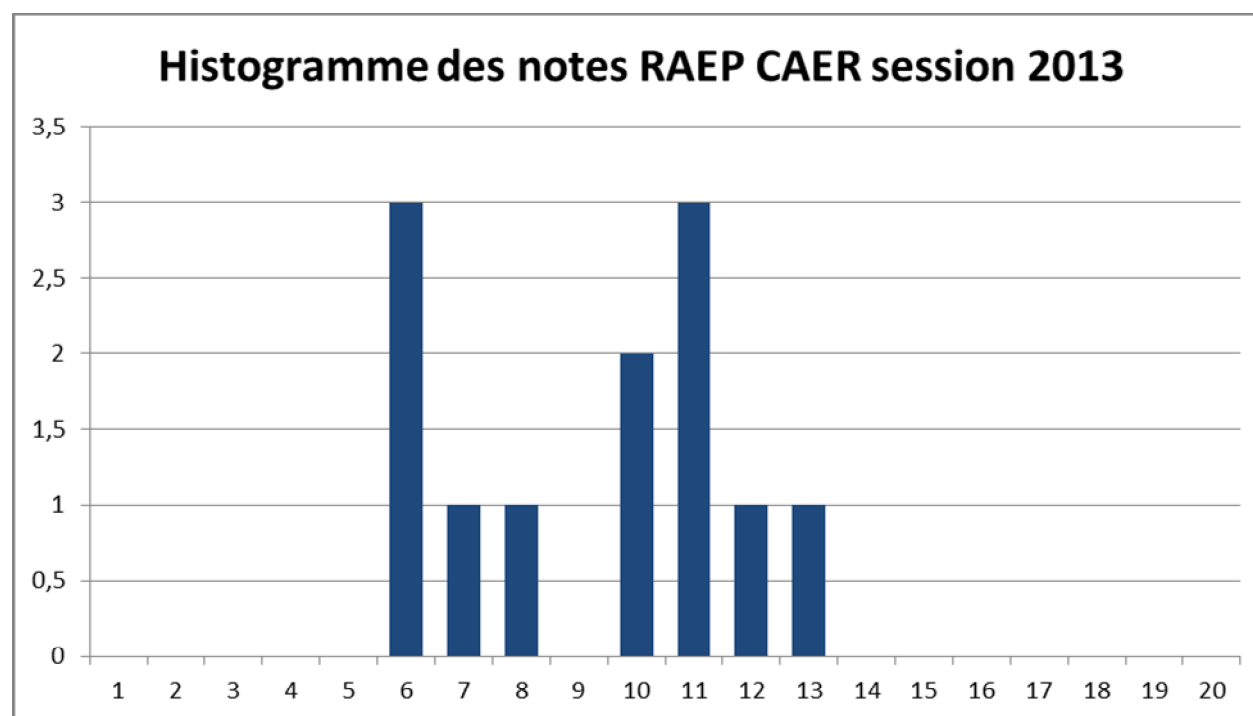
## CAER

Moyenne générale : 9,80

Répartition des notes :

<1..... 0	≥ 6 et < 7 ..... 1	≥ 12 et < 13 ..... 1
≥ 1 et < 2..... 0	≥ 7 et < 8 ..... 1	≥ 13 et < 14 ..... 0
≥ 2 et < 3 ..... 0	≥ 8 et < 9 ..... 0	≥ 14 et < 15 ..... 0
≥ 3 et < 4 ..... 0	≥ 9 et < 10 ..... 2	≥ 15 et < 16 ..... 0
≥ 4 et < 5 ..... 0	≥ 10 et < 11 ..... 3	≥ 16 et < 17 ..... 0
≥ 5 et < 6 ..... 3	≥ 11 et < 12 ..... 1	≥ 17 et < 18 ..... 0

### HISTOGRAMME



### Commentaires :

Les candidats confrontés à cette épreuve créée l'an dernier disposaient pour préparer cette session du rapport de la session 2012 du concours.

Nous invitons le lecteur à se référer à ce document, les critères d'évaluation n'ayant naturellement pas évolué. Rappelons toutefois que les dossiers des candidats n'ayant pas respecté le cahier des charges clairement indiqué par les textes, non conformes, ont été réglementairement écartés.

Il n'est donc pas inutile de rappeler ce cahier des charges :  
Les candidats élaborent un dossier comportant deux parties :



- dans la première partie (2 pages dactylographiées maximum), le candidat décrit les responsabilités qui lui ont été confiées durant son parcours professionnel dans le domaine de l'enseignement ;
- dans la seconde partie (6 pages dactylographiées maximum), le candidat choisit parmi ses réalisations pédagogiques une situation d'apprentissage mise en œuvre en responsabilité **dans la discipline concernée par le concours** à un niveau de classe défini. L'analyse développée doit mettre en évidence les apprentissages, les objectifs, les progressions et les résultats de la réalisation que le candidat a choisi de présenter.

A la lumière de la première expérience de cette épreuve, la Direction Générale des Ressources Humaines a organisé une réunion des présidents de jury des concours concernés qui a permis d'échanger sur les pratiques et d'affiner la grille d'évaluation des compétences recherchées. La nouvelle grille respecte naturellement l'ensemble des textes réglementaires et les conseils donnés précédemment restent valables. La modification a, tout au plus, provoqué un resserrement de l'éventail des notes d'admissibilité. Les candidats admissibles non admis lors de la session précédente qui présentaient cette année un dossier très peu modifié, voire identique, ne doivent donc pas être surpris par la différence de notation.

Lors de la session 2013, le jury a appliqué cette nouvelle grille à tous les candidats pour leur assurer l'égalité de traitement.

Le jury observe que, comme l'année précédente, certains candidats ont présenté leur dossier à plusieurs concours CAPET, CAER, CAPLP internes dans des spécialités connexes : Biotechnologies Santé environnement, Biotechnologie Biochimie Génie Biologique, SVT... A une seule exception près, les candidats ont cherché à adapter le contenu du dossier, mais les spécificités du concours n'ont pas toujours été prises en compte.

Les meilleurs candidats ont su mettre en valeur leurs et expériences professionnelles particulièrement dans le domaine des biotechnologies. Dans leur cas, **l'analyse d'une situation d'apprentissage** a permis d'explicitier **en quoi les compétences professionnelles revendiquées étaient mobilisables dans les enseignements de biotechnologies** diplômés. C'est tout particulièrement vrai pour les candidats exploitant des séquences pédagogiques dans d'autres disciplines.

Le jury rappelle à nouveau que l'étendue, la justesse, la précision et l'actualisation des connaissances scientifiques et technologiques « dans la discipline concernée par le concours » sont indispensables à l'exercice du métier donc à la présentation de ce concours. Malgré la modification de la forme et des objectifs de l'épreuve d'admissibilité, le programme de ce concours est resté inchangé et fixe les connaissances attendues des candidats. Ni le contenu, ni la forme des dossiers de RAEP, déclaratifs et de caractère personnel invérifiable, ne permettent de détecter d'éventuelles lacunes. Les candidats doivent en avoir une claire conscience et se préparer en conséquence pour présenter les épreuves d'admission. Bien que 'agissant d'un concours interne où, par définition, tous les candidats ont déjà exercé déjà une activité éducative, les niveaux et voies d'enseignement pratiquées, comme les disciplines enseignées, ne couvrent pas nécessairement l'ensemble des champs cognitifs nécessaires pour exercer le métier de professeur de Biotechnologies.

Comme lors de la dernière session, le jury a apprécié les candidats qui ont montré une culture scientifique large et interdisciplinaire, correspondant bien à l'esprit général de cette épreuve. Dans ce concours, les savoirs explorés doivent en effet chercher à s'inscrire dans une interdisciplinarité correspondant à l'esprit de la réforme du lycée en cours.

## *Epreuve d'admission*

### LEÇON PORTANT SUR LES PROGRAMMES DES LYCEES ET DES CLASSES POST-BACCALAUREAT

*Durée de l'épreuve : 6 heures*  
*Travaux pratiques : 4 heures*  
*Préparation exposé : 1 heure*  
*Exposé : 30 minutes*  
*Entretien : 30 minutes*

Coefficient 2



SESSION 2013

**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 28 pages.

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

**Objectif de l'épreuve :**

Concevoir et organiser une séquence de formation destinée à une classe de terminale Sciences et Technologies de Laboratoire Spécialité Biotechnologies. Présenter une séance détaillée choisie au sein de cette séquence.

Le projet technologique est l'outil pédagogique privilégié pour l'enseignement de spécialité "biotechnologies". Les activités technologiques doivent être contextualisées et gagnent sur le plan pédagogique à être intégrées dans une démarche de projet. Le programme de la série STL biotechnologies propose une liste non exhaustive de thématiques de projets que les professeurs peuvent choisir d'exploiter.

La thématique de projet choisie pour cette épreuve de concours est :  
Domaine des biotechnologies appliquées aux bio-industries : secteur agro-alimentaire.

**« Contrôle de production industrielle d'un jus de fruits et d'un cidre »**

La formation des élèves permet l'acquisition de compétences transversales et technologiques, compétences évaluées au baccalauréat aussi bien lors de l'épreuve écrite Biotechnologies qu'à l'occasion de l'épreuve pratique d'évaluation des compétences expérimentales.

A l'aide des documents proposés ci-après, le candidat conçoit une séquence pédagogique s'inscrivant dans la thématique proposée.

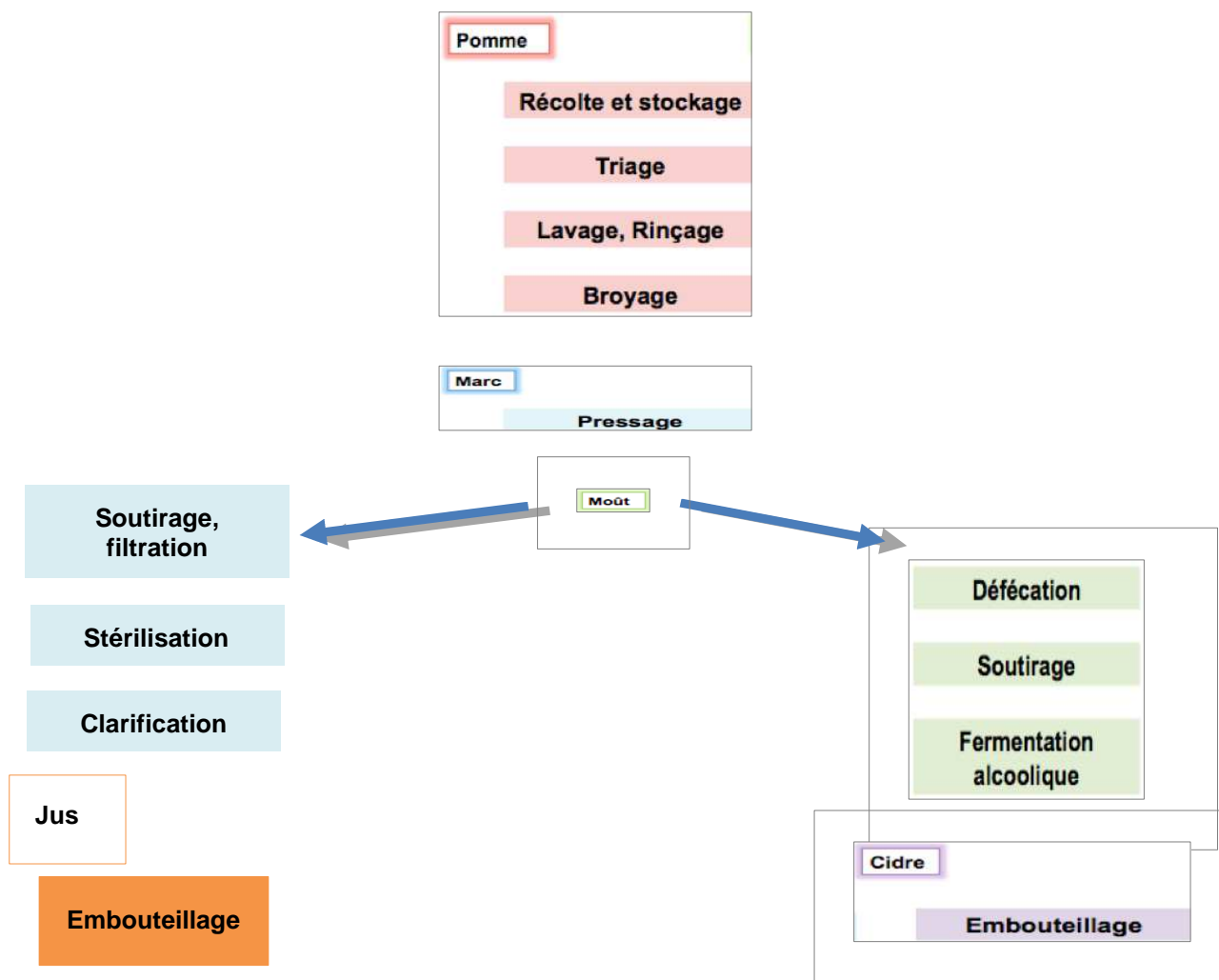
Au cours de son exposé, le candidat présente cette séquence et les objectifs pédagogiques visés. Il justifie le choix des manipulations qu'il a réalisées pour bâtir la séance détaillée et exploite les résultats qu'il a obtenus.

Les documents mis à disposition sont de deux ordres :

- étude bibliographique de la thématique de projet ;
- protocoles opératoires permettant d'obtenir des résultats expérimentaux.

Lors de la mise sur le marché d'une nouvelle variété de cidre ou de jus de pommes, les laboratoires sont amenés à réaliser des analyses permettant le contrôle de certains paramètres des produits finis. Dans le cadre de la nouvelle réglementation européenne, on cherche également à évaluer selon la méthode HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) dans le cadre d'un PMS (Plan de Maîtrise Sanitaire), les points critiques de la chaîne de production.

Les chaînes de production d'un jus de pommes et d'un cidre sont schématisées ci-dessous.



Des points critiques de ces chaînes ont été identifiés comme notamment :

- *Le stockage des pommes, propice à la contamination par certaines moisissures dont certaines sont toxigènes.*
- *Le lavage, qui doit être assuré à l'aide d'une eau de qualité sanitaire conforme à celle de l'eau potable.*

*Pour le cidre :*

- *La fermentation alcoolique au cours de laquelle les qualités organoleptiques du cidre peuvent être altérées à cause de levures contaminantes.*

*Pour les jus et nectar de pomme :*

- *La stérilisation, qui, si elle est incomplète ou trop tardive, peut donner lieu à une fermentation alcoolique indésirable dans le jus de pommes.*

Conformément à la législation, les produits finis type « jus » ou « nectars » comportent l'étiquetage des teneurs en sucres. Ces produits doivent être exempts d'alcool. Ces paramètres doivent être vérifiés par l'industriel avant commercialisation.

## Ressources documentaires proposées

### Documents d'aide à la contextualisation :

<b>Fiche documentaire 1</b> : Quelques notions sur la fabrication des cidres et jus de pommes.....	5
<b>Fiche documentaire 2</b> : Extraits du guide pratique de la réglementation des produits cidricoles.....	6
<b>Fiche documentaire 3</b> : Caractéristiques de la pomme et composition du jus de pomme et du cidre.....	8
<b>Fiche documentaire 4</b> : Extraits du guide de recommandation pour limiter les altérations organoleptiques d'origine microbiologiques.....	9
<b>Fiche documentaire 5</b> : Critères importants pour le « design » d'amorces en vue d'une réaction de PCR...	10

### Fiches techniques et modes opératoires :

<b>Document 1</b> : Dénombrement en surface des levures .....	11
<b>Document 2</b> : Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> dans une eau par filtration.....	12
<b>Document 3</b> : Détection immunochromatographique de moisissures .....	15
<b>Document 4</b> : Observation et identification d'une moisissure .....	16
<b>Document 5</b> : Recherche immunoenzymatique d'une mycotoxine.....	17
<b>Document 6</b> : Identification d'une levure par microscopie à épifluorescence.....	18
<b>Document 7</b> : Optimisation d'amorces en vue de leur utilisation dans une réaction de PCR.....	19
<b>Document 8</b> : Analyse des glucides par chromatographie sur couche mince.....	20
<b>Document 9</b> : Dosage spectrophotométrique des sucres réducteurs par la méthode au 3,5 DNS.....	21
<b>Document 10</b> : Dosage du saccharose / D-glucose / D-fructose par voie enzymatique.....	22
<b>Document 11</b> : Dosage de l'éthanol par voie enzymatique.....	24
<b>Document 12</b> : Dosage potentiométrique des acides organiques d'un jus de pomme.....	25
<b>Document 13</b> : Logigrammes de traitement des résultats.....	26

### Annexes:

<b>Annexe 1</b> : Contenu du dossier numérique.....	27
<b>Annexe 2</b> : Liste des ouvrages scientifiques et technologiques disponibles.....	28

## ECHANTILLONS MIS A DISPOSITION :

- Suspension issue d'un broyat de pommes destinées à la fabrication d'un cidre noté « BPC ».
- Eau de rinçage des pommes.
- Ecouvillon (noté « ec-BPJ ») préalablement trempé dans une suspension de broyat de pommes.
- Isolement sur gélose Sabouraud-Chloramphénicol, noté « is-BPJ ».
- Suspension issue d'un broyat de pommes destinées à la fabrication d'un jus noté « BPJ ».
- Echantillon d'un moût prêt à être lancé en fermentation, destiné à la fabrication d'un cidre, noté « MC ».
  
- Jus de pommes prêt à embouteillage pour commercialisation.

**FICHE DOCUMENTAIRE 1 : Quelques notions sur la fabrication des cidres et jus de pommes : extraits d'un diaporama à destination des élèves de terminale STL (Octobre 2008 – Lycée La Venise Verte, Niort)**

**I.-Récolte et stockage des pommes**

La récolte se fait entre le 15 septembre et le 30 novembre. Plus de 1000 variétés de pommes à cidre existent. Un bon cidre est issu d'un assemblage de plusieurs variétés de pommes.

**II.-Le triage**

Cette étape de fabrication d'un jus ou d'un cidre vise à éliminer les pommes « moisies », qui peuvent altérer les qualités organoleptiques du produit fini et y introduire des substances dangereuses comme **la patuline** (mycotoxine produite par diverses souches de *Penicillium*, *Aspergillus*... provoquant des lésions pulmonaires, rénales ou spléniques à doses modérées, et des lésions neurologiques à doses plus fortes).

**III.-Lavage et rinçage**

Cette opération est nécessaire à l'élimination des « souillures » (terre, feuilles, brindilles), qui introduiraient lors du broyage des fruits, des microorganismes indésirables, vecteurs de maladies ou d'agents d'altération.  
../.

Ces trois premières grandes étapes, suivies du **pressage, défécation et soutirage** sont équivalentes dans la fabrication des cidres et des jus de pommes.

La **fermentation alcoolique** permettra la transformation du jus en cidre.

Traditionnellement, la production de cidre est effectuée **sans ajout de levure**. Celles qui sont naturellement présentes sur le fruit offrent une grande variété d'espèces. On y trouve des levures des genres **Candida, Pichia, Torulopsis**, qui sont majoritaires. **Saccharomyces uvarum**, bien que minoritaire, joue quant à elle un rôle majeur dans la production du cidre. Lorsque le niveau d'éthanol atteint 2 à 4°, les premières levures meurent et sont remplacées par *Saccharomyces uvarum*. Cette souche termine la fermentation jusqu'à consommer la majorité des sucres présents dans le moût, tout en produisant les arômes principaux du cidre.

Une fermentation démarre correctement si la **quantité moyenne de levures par gramme de fruit** est de l'ordre de **5.10<sup>4</sup> cellules**.

**FICHE DOCUMENTAIRE 2: Guide pratique de la réglementation des produits cidricoles. Extraits de différents textes réglementaires (source : « lareglementationcidricole.com »)**

**Ce guide a été élaboré le 29 novembre 1994 et a été révisé le 11 août 2008 par la DGCCRF. Il s'appuie notamment sur les textes réglementaires suivants :**

- Pour l'hygiène de fabrication : *Décret du 26 avril 1991 : hygiène des denrées végétales et boissons. Arrêté du 28 mai 1997 relatif aux règles d'hygiène applicables à certains aliments et préparations alimentaires destinés à la consommation humaine.*

../..

**2) Conseils pratiques en matière d'hygiène de fabrication**

- => Ramasser les pommes dans des récipients propres n'ayant pas contenu de produits chimiques ou d'engrais ;
- => Utiliser de l'eau potable pour le nettoyage des pommes ;
- => Eliminer les fruits pourris avant brassage ;
- => Avoir des locaux suffisamment grands, en bon état d'entretien, et permettant le nettoyage et une désinfection correcte ;
- => Nettoyer, désinfecter, aussi souvent que nécessaire, les cuves, tonneaux, tuyauteries, emplisseuses, pompes, presses et tout le matériel en contact avec le moût ou le cidre ;
- => Ne pas stocker de produits chimiques dangereux ou toxiques dans le local de fabrication ;
- => Eviter le contact du cidre avec le fer ;
- => Eviter toute contamination fécale et tellurique (terre, débris végétaux...) ;
- => Utiliser des bouteilles correctement lavées et rincées ;
- => Utiliser des bondes aseptiques pendant la fermentation.

../..

\* On considèrera une eau de nettoyage comme potable, comme une eau destinée à la consommation humaine. A ce titre, dans le cadre d'un plan de maîtrise sanitaire (PMS), certains paramètres microbiologiques peuvent être testés en fonction de l'extrait d'arrêté présenté ci-dessous

PARAMÈTRES	LIMITES DE QUALITÉ	UNITÉ
<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ).....	0	/100 mL
Entérocoques.....	0	/100 mL



- Pour la présence de substances toxiques : *Règlement (CE) n° 1425/2003 et recommandation de la commission du 11 août 2003 parue au JO de l'Union européenne du 12 août 2003*

../..

**PATULINE**

La patuline est une mycotoxine synthétisée par les moisissures. Sa présence est révélatrice de la présence de fruits pourris ou abîmés. Le règlement CEE modifié n° 466-2001, portant fixation des teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires, prévoit une valeur maximale en patuline de 50 µg / kg pour les cidres et autres boissons fermentées à base de pomme produites à partir de pommes ou contenant du jus de pomme. Il est interdit de commercialiser un produit dont la teneur en patuline est dépassée. Un code d'usage pour la prévention et la réduction de la contamination par la patuline du jus de pomme et du jus de pomme utilisé comme ingrédient, a été publié également. (cf. recommandation de la commission du 11 août 2003 – 2003/598/CE)

../..

### **FICHE DOCUMENTAIRE 3 : Caractéristiques de la pomme et composition du jus de pommes**

#### **Principales caractéristiques de la pomme** (extrait d'une fiche de synthèse éditée par l'APRIFEL)

**Modérément énergétique**, la pomme apporte 54 kcalories (226 kJoules) aux 100 g.

Ses **glucides** - 9 à 15 g aux 100 g - fournissent l'essentiel de ses calories. Il s'agit en majorité de fructose (il représente environ la moitié des glucides totaux), ainsi que de saccharose et de glucose (respectivement 22 % et 18 % des glucides totaux). On y trouve aussi un peu de sucres moins courants, comme les pentosanes et les hexosanes (5 à 6 % du total glucidique), et enfin en moindre quantité (4 à 5 % des glucides totaux) du sorbitol, un sucre-alcool qui dérive du glucose.

Ce sont ces glucides qui donnent à la pomme sa saveur sucrée, une saveur équilibrée par la touche acidulée apportée par des **acides organiques**. Ceux-ci sont présents dans le fruit à raison de 0,4 à 0,9 g aux 100 g. Ils sont constitués en presque totalité par l'acide malique, l'acide organique caractéristique de la pomme. L'acide citrique, abondant dans beaucoup d'autres fruits (en particulier dans les agrumes) ne constitue que 4 à 5 % des acides organiques totaux.

La pomme renferme plus de 84 % d'**eau**, dans laquelle sont dissous de très nombreux **minéraux** et **oligo-éléments** (au total, environ 320 mg aux 100 g). ../..

*Créée en 1981, APRIFEL, l'Agence Pour la Recherche et l'Information en Fruits et Légumes frais, a pour mission de proposer au consommateur une connaissance approfondie et actualisée des fruits et légumes en terme de plaisir, de forme et de santé.*

---

#### **Compositions comparées du jus de pommes et du cidre** (extraits du répertoire général des aliments, CNEVA, INRA, TEC & DOC, Paris, 1995)

<b>Composition pour 100g</b>	<b>Jus de pomme</b>	<b>Cidre</b>
Protéines (g)	0,1	Traces
Lipides (g)	Traces	Traces
Glucides (g)	11	2,5
Alcool (g)	Absence*	3,1

*\* Dans le cas des jus de raisin et de pomme, la teneur en alcool doit être inférieure à 0,1 % pour être considéré comme jus et non comme boisson alcoolisée.*

## FICHE DOCUMENTAIRE 4 : *Brettanomyces* et altérations organoleptiques du cidre

Ce guide a été élaboré en 2007 par l'Institut Français des Productions Cidricoles (IFPC)



### GUIDE DE RECOMMANDATIONS POUR LIMITER LES ALTERATIONS ORGANOLEPTIQUES D'ORIGINE MICROBIOLOGIQUE



#### Préambule

Ce document est le résultat d'un travail réalisé sur une période de 3 ans (2004-2006). L'ensemble de l'étude a été menée en partenariat entre :

- L'IFPC
- L'INRA Unité de Recherches Cidricoles
- Un groupe « pilote » de 10 cidriers adhérents du SCB (Syndicat des Cidriers Bretons)
- Conseiller cidricole de la Chambre d'Agriculture des Côtes d'Armor.

Le choix du groupe « pilote » de cidriers a été motivé par le fait que ce groupe s'insérait dans le cadre de la mise en place de l'HACCP et était intéressé par une extension de la démarche HACCP aux risques d'altération du produit.

../..

#### 1.2.2. Apparition de phénols volatils.

##### Le phénomène :

Cette altération peut se manifester en cuve ou en bouteille. Elle se traduit par l'apparition d'odeurs dites « animales » caractérisé par les descripteurs « cuir », « écurie », « encre ». Cette altération est due à la présence d'une quantité excessive d'éthyl-phénols malodorants (4-éthyl-phénol et 4-éthyl-guaiacol) et de vinyl-phénols.

Les phénols volatils résultent de l'activité séquentielle de 2 enzymes :

- ① La cinnamate décarboxylase transforme une certaine classe de polyphénols (les acides hydroxycinnamiques) en vinyl-phénols responsables d'odeurs épicées (clou de girofle).
- ② la vinyl-phénol réductase qui transforme (réaction de réduction) les vinyl-phénols en dérivés éthyles (odeurs d'écurie).

La production de ces composés mal-odorants est associée aux levures du genre *Brettanomyces*. Parmi les sept espèces existantes, on trouve principalement dans le cidre : *Brettanomyces anomalus*. Cette levure est très connue comme agent d'altération dans les bières et le vin. Dans l'état actuel des connaissances il est certain que *Brettanomyces* possède l'enzyme ② mais a priori pas l'enzyme ①. Néanmoins l'enzyme ① est présente chez de nombreux micro-organismes dont certaines moisissures de pommes, il existe donc quasiment toujours dans les moûts des précurseurs de phénols volatils. La production de phénols volatils varie selon les quantités d'acides phénols disponibles (précurseurs), mais reste essentiellement proportionnel à la présence de *Brettanomyces*. Cette production, qui a lieu pendant la phase exponentielle de croissance et au début de la phase stationnaire, devient rapidement très importante quand la population dépasse  $10^5$  UFC/ml.

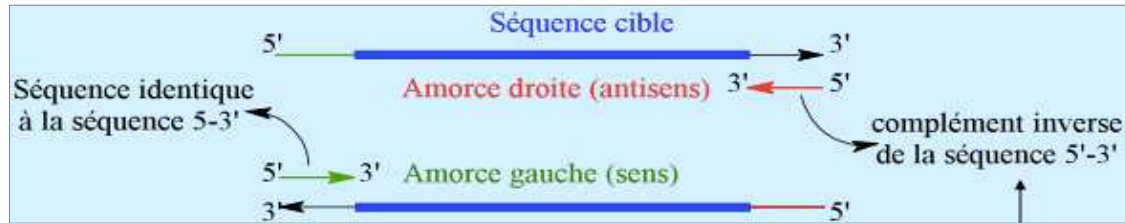
../..

D'après L. Barnavon, H. Tessonière, L. Massini (laboratoire Inter Rhône, 84100 Orange) et F. Remize (laboratoire de recherche en vigne et vin, 21000 Dijon), les levures du genre *Brettanomyces* peuvent être **identifiées et quantifiées par une technique rapide de microscopie à épifluorescence**, dont la rapidité d'exécution peut convenir en fonction du temps et du besoin en sensibilité.

**FICHE DOCUMENTAIRE 5 : Quelques critères importants pour le « design » d'amorces en vue d'une réaction de PCR (D'après M. KRIAT, [www.biomultimedia.info](http://www.biomultimedia.info))**

Pour réussir une PCR, les amorces choisies doivent être **spécifiques, stables et compatibles**.

Les amorces sont désignées comme « gauche » et « droite », en fonction du brin d'ADN sur lequel elles vont s'apparier, tel que schématisé ci-dessous



La **longueur d'une amorce** influe sur sa **température de fusion (Tm)** et d'**hybridation (Ta)**, qui dépendent l'une de l'autre. La longueur idéale d'une amorce **est comprise entre 18 et 30 nucléotides**.

La méthode « des plus proches voisins » (*nearest neighbor*) est la plus précise quant à la détermination de la Tm. Une formule complexe tenant compte des forces d'empilement en plus du GC% permet de la calculer. Pour optimiser les chances de réussite de PCR, on évitera donc les couples d'amorces dont **la différence de Tm est supérieure ou égale à 5°C**.

On évitera les amorces dont les extrémités sont trop riches en GC. En effet, ce type d'amorce peut générer, à cause de nombre de liaisons hydrogènes formées, des hybridations non spécifiques, les « *CG clamp* », comme le montre le schéma ci-dessous.



Enfin, de bonnes amorces doivent éviter de former des structures indésirables telles qu'une auto-hybridation (*self dimers*), inter-hybridation (*dimers*), ou bien une épingle à cheveux (*hairpin*).

Des sites internet spécialisés dans l'optimisation des amorces tels que *Primer3*, peuvent prédire et proposer des couples d'amorce adaptés à une séquence que l'on veut amplifier.

De même de petits utilitaires utilisables en « local » tels que *Sequence Manipulation Suite 2 (SMS2)* ou encore *Oligo Analyzer*, permettent d'obtenir des informations intéressantes quant à l'utilisation adéquate de couples d'amorces.

## **DOCUMENT 1 : Dénombrement en surface des levures**

*Après dépôt d'un volume connu d'une suspension de microorganismes ou de ses dilutions sur une gélose adaptée, on déterminera le nombre d'UFC présentes après culture.*

### **1. Échantillon**

- Suspension issue d'un broyat de pommes destinées à la fabrication d'un cidre noté « BPC », de concentration estimée à  $10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> de fruit.

### **2. Matériel**

- Géloses Sabouraud + chloramphénicol (en surfusion)
- Boîte de Petri de 90 mm de diamètre
- Tubes de 9 mL d'eau physiologique
- Pipettes graduées
- Billes de verre ou râteau

### **3. Mode opératoire**

- Réaliser un dénombrement en surface (0,1 mL de suspension étalés avec billes de verre ou râteau) sur géloses Sabouraud additionnées de chloramphénicol, après avoir effectué des dilutions de la suspension de broyat le cas échéant (on considère qu'un mL de cette suspension correspond à 1 g de fruit).
- Tester 3 dilutions successives à raison de deux boîtes par dilution.

**On comptera entre 10 et 150 colonies par boîte**

## **DOCUMENT 2 : Dénombrement D'Escherichia coli dans une eau par filtration**

*Il s'agit d'une procédure en deux étapes.*

*On recueille dans un premier temps sur un filtre l'ensemble de la population bactérienne présente dans l'eau. Le filtre est déposé sur un milieu de culture adapté et on détermine le nombre d'UFC présentes après culture. Dans un second temps, on réalise une identification de la souche d'intérêt par les techniques biochimiques usuelles.*

### **1. Echantillons et matériel**

- 100 mL d'eau de rinçage des pommes à tester, notés « eau de rinçage des pommes »
- 100 mL d'eau distillée, notés « ED »
- Système de filtration d'eau (godet, support filtre, membrane filtrante 0,45 µm)
- Une gélose TTC / Tergitol 7 notée « TTC »

### **2. Mode opératoire de la filtration**

- L'ensemble du matériel est fourni dans un sachet plastique et a été préalablement autoclavé
- L'ensemble de l'appareillage (cf schéma page suivante) doit être placé entre deux becs, de manière à aménager une zone stérile et à pouvoir stériliser le matériel le cas échéant
- Dévisser le godet. Dégager la membrane de ses 2 feuillets de protection et la poser stérilement à l'aide d'une pince, sur le support filtre, quadrillage vers le haut. Revisser le godet
- Relier la fiole à vide au système à vide du robinet d'eau grâce à une feuille anglaise (tuyau en caoutchouc)
- Déposer environ la moitié du volume d'eau à tester dans le godet. Faire le vide sans brutalité. Laisser d'écouler le liquide, et rincer (en particulier les bords internes du godet) avec environ 50 mL d'eau distillée
- Répéter les opérations du point précédent avec le reste du volume à tester et le reste d'eau distillée
- Sécher la membrane en effectuant plusieurs petits vides.

### **3. Mode opératoire de la mise en culture**

- Dévisser le godet et récupérer délicatement la membrane à l'aide d'une pince métallique.
- La poser délicatement sur le milieu TTC / Tergitol 7 fourni, quadrillage vers le haut, sans faire de bulles.
- Incuber à la température de 44°C durant 24 heures.

### **4. Interprétation des résultats de la filtration**

*Une membrane sur milieu TTC / Tergitol 7 ayant déjà subi les traitements des points 2. et 3. est fournie à ce stade la manipulation.*

- Interpréter les résultats de la filtration

### **5. Démarche d'identification de la souche**

*En plus de la membrane fournie à l'étape 4, sont également disponibles, le cas échéant :*

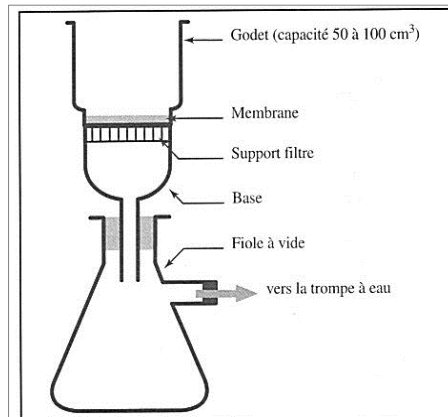
- Une galerie APf<sup>®</sup> 20 E (notice d'utilisation disponible dans la salle)
- Un étalon 0,5 de Mc Farland
- Une gélose EMB et une gélose ordinaire
- Un tube d'eau physiologique noté « eau phy ». Il remplace l' « APf<sup>®</sup> Suspension Medium » de la galerie
- Tubes à hémolyse.
  
- A partir des colonies présentes sur la membrane, réaliser une suspension et procéder à un isolement sur gélose EMB et sur gélose ordinaire
- Ensemencer la galerie miniaturisée
- Incuber à la température adéquate.

*Une galerie ensemencée mais non révélée, ainsi que des isollements (sur EMB et gélose ordinaire) de la souche ayant cultivé sur la membrane sont fournis à ce stade de la manipulation. Sont également fournis :*

- Les réactifs nécessaires à la révélation de la galerie
- Une fiche de décodage de la galerie ainsi qu'un moyen de lecture de celle-ci (catalogue fournisseur)

**DOCUMENT 2 (SUITE) : Documentation utiles aux manipulations précédentes.**

**Schéma d'un montage de filtration (d'après « Microbiologie alimentaire » Christiane et Jean-Noël JOFFIN, CRDP Aquitaine**



**Extraits du catalogue fournisseur concernant la gélose EMB**

**Gélose EMB (LEVINE)**

**DOMAINE D'UTILISATION**

La gélose EMB, préconisée originellement par Levine, est utilisée pour isoler et identifier *Escherichia coli* et *Enterobacter*, ainsi que les bactéries intestinales à Gram négatif dans les produits pharmaceutiques, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. Elle est également employée pour le contrôle des eaux comme milieu d'isolement et d'identification après culture en milieu liquide (test présomptif).

**LECTURE**

L'aspect des colonies est le suivant :

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies violet foncé, bombées, faiblement confluentes, de 2 à 3 mm de diamètre, à centre noir étendu à plus des 3/4 du diamètre et qui présentent un éclat métallique verdâtre en lumière réfléchie	<i>Escherichia coli</i>
Colonies bleuâtres, à centre brun foncé, aplaties, plutôt confluentes, de 4 à 6 mm de diamètre, qui ne présentent qu'occasionnellement un éclat métallique	<i>Enterobacter aerogenes</i>
Colonies violettes à léger reflet métallique	<i>Citrobacter</i>
Colonies brunâtres, muqueuses	<i>Klebsiella</i>
Colonies ambrées, transparentes	<i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>

**PRINCIPES**

- L'éosine Y et le bleu de méthylène sont des agents faiblement sélectifs. Ils n'inhibent que partiellement le développement des microorganismes à Gram positif tels que les entérocoques.
- Ces colorants assurent la différenciation entre les germes lactose-positif et les germes lactose-négatif. Les coliformes donnent des colonies violettes à brunes tandis que les salmonelles sont incolores, transparentes ou ambrées.

**FORMULE - TYPE**  
 (pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine ..... 10,0 g
- Lactose ..... 10,0 g
- Phosphate dipotassique ..... 2,0 g
- Eosine Y ..... 0,4 g
- Bleu de méthylène ..... 65,0 mg
- Agar agar bactériologique ..... 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

**Extraits du catalogue fournisseur concernant la gélose TTC / Tergitol 7**

**PRINCIPE**

La gélose lactosée au T.T.C. et Tergitol 7, dont la formulation résulte essentiellement des travaux de Chapman, est utilisée pour les recherches et dénombrements des coliformes et *Escherichia coli*, en particulier dans le cadre de la colimétrie des eaux par la méthode des membranes filtrantes. Certains auteurs (Mosse) la conseillent également pour l'analyse des produits alimentaires en matière de contamination fécale. Le principe du milieu repose sur l'aptitude des coliformes à fermenter le lactose. La production d'acide entraînée par cette fermentation provoque un virage de l'indicateur coloré au jaune et une coloration des colonies en jaune ou orangé avec formation d'un halo jaune. Le Tergitol 7 (heptadécylsulfate de sodium), additionné extemporanément au milieu de base, inhibe la pousse des germes à Gram positif, réduit l'invasivité du milieu par les *Proteus* et favorise le recouvrement des coliformes. Les autres bactéries à Gram négatif vont réduire le T.T.C. (Triphényl-2,3,5-Tétrazolium Chlorure) en formazan ce qui va colorer leurs colonies en rouge.

**FORMULE**  
 En grammes par litre d'eau purifiée

Extrait de levure	6,00
Extrait de viande	5,00
Lactose	20,00
Peptone	10,00
Bleu de bromothymol	0,05
Agar	13,00
pH final : 7,2 ± 0,1 à 25°C	

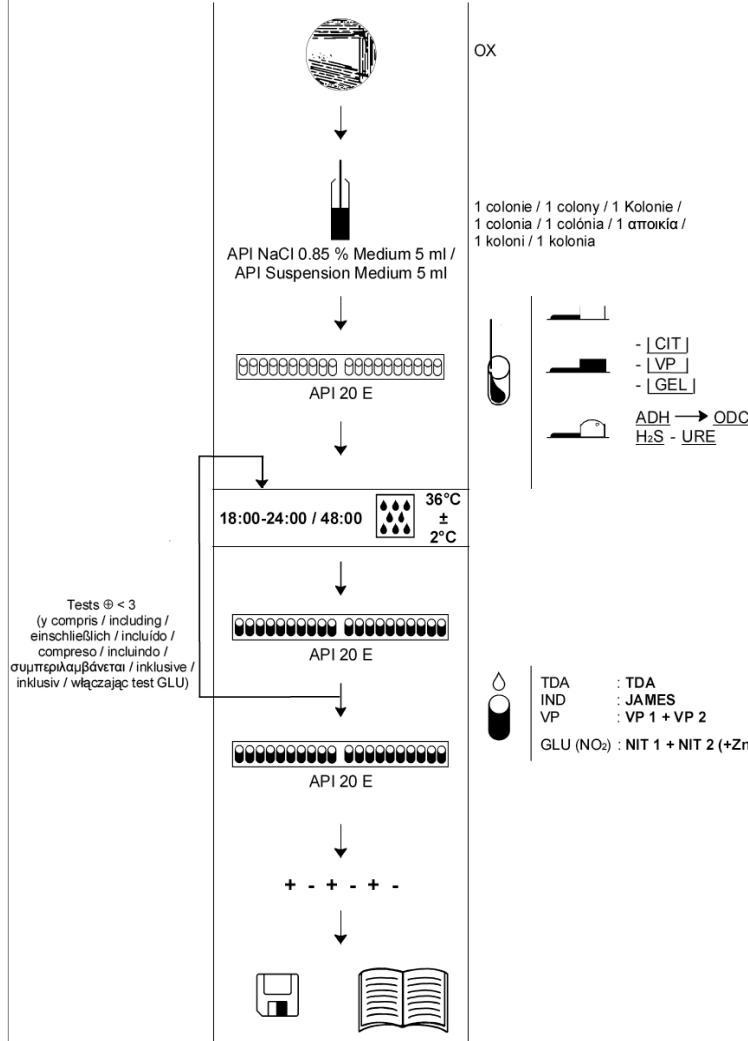
**Précisions sur la lecture et l'interprétation (note hors catalogue fournisseur)**  
 Lecture : colonies jaunes sont TTC – et halo jaune : lactose +. Les colonies rouges réduisent fortement le TTC alors que les orangées (qui combinent en fait une coloration rose résultant de la réduction du TTC + la couleur jaune du halo) le réduisent faiblement.

A 37°C, les colonies jaunes ou orangées avec un halo jaune : **orientation vers E.coli, Citrobacter, K. aerogenes, Enterobacter.**  
 A 44°C, les mêmes colonies représentent à 96% des *E.coli*, et à 4%, des *Klebsiella* d'origine fécale

**DOCUMENT 2 (SUITE ET FIN) : Documentation utiles aux manipulations précédentes.**

**Organigramme simplifié extrait de la fiche technique API® 20 E.**

METHODOLOGIE / PROCEDURE / METHODIK / TECNICA / PROCEDIMENTO /  
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ / METOD / METODYKA





### **DOCUMENT 3 : Détection immunochromatographique de moisissures**

La méthode utilise une combinaison d'un conjugué à l'or colloïdal marqué avec un anticorps monoclonal et des anticorps polyclonaux en phase solide pour identifier *Aspergillus* ou *Penicillium*.

Lorsque l'échantillon s'écoule au travers du dispositif absorbant, le conjugué marqué se lie à l'antigène commun aux deux genres, formant un complexe anticorps-antigène.

Ce complexe se lie à l'anticorps anti « moisissure » au niveau de la « ligne test », une bande de couleur rose apparaît alors. En l'absence de moisissure recherchée, aucune ligne n'apparaît au niveau de la « ligne test ».

Le mélange réactionnel poursuit sa migration jusqu'à la « ligne contrôle » où le conjugué non lié se lie aux anticorps présents formant une bande rose, prouvant que le dispositif a fonctionné correctement.

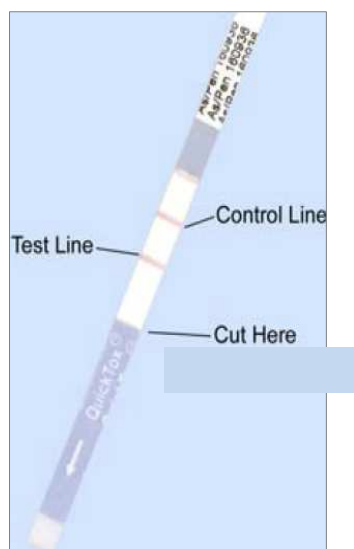
#### **1. Échantillon et matériel**

- Ecouvillon (noté « ec-BPJ ») préalablement trempé dans une suspension issue du broyat des pommes à tester.
- Kit d'immunochromatographie pour recherche qualitative des spores d'*Aspergillus* et / ou de *Penicillium* (bandelette de test, tube plastique, réactifs d'extraction)

#### **2. Mode opératoire**

- La bandelette de test est fournie dans une boîte de pétri
- Placer l'écouvillon dans un tube plastique fourni
- Ajouter 6 gouttes (250 µL) du réactif d'extraction 1 (E1) et 6 gouttes (250 µL) du réactif d'extraction 2 (E2)
- Agiter l'écouvillon pour que l'échantillon soit complètement mélangé aux réactifs d'extraction
- Incuber à température ambiante entre 2 et 5 minutes
- Récupérer le liquide imbibé dans l'écouvillon en pressant ce dernier sur les parois du tube. Jeter l'écouvillon
- Plonger la bandelette de test, (flèches ou rectangle bleu en bas), dans le tube. Le liquide ne doit pas dépasser la ligne supérieure du rectangle bleu ou la pointe de la flèche \*
- Laisser s'effectuer la migration durant 5 à 10 minutes, en laissant la bandelette en place dans le tube
- Lire le résultat

NOTA : on considèrera que le contrôle positif fourni avec le kit a été testé et se révèle bien positif.



\* Selon le lot de bandelettes utilisé, la matérialisation de la limite de dépôt se fait par une pointe de flèche ou un rectangle bleu.

## DOCUMENT 4 : Observation et identification d'une moisissure

L'identification usuelle du genre des moisissures se fait par observation microscopique de certaines structures morphologiques caractéristiques.

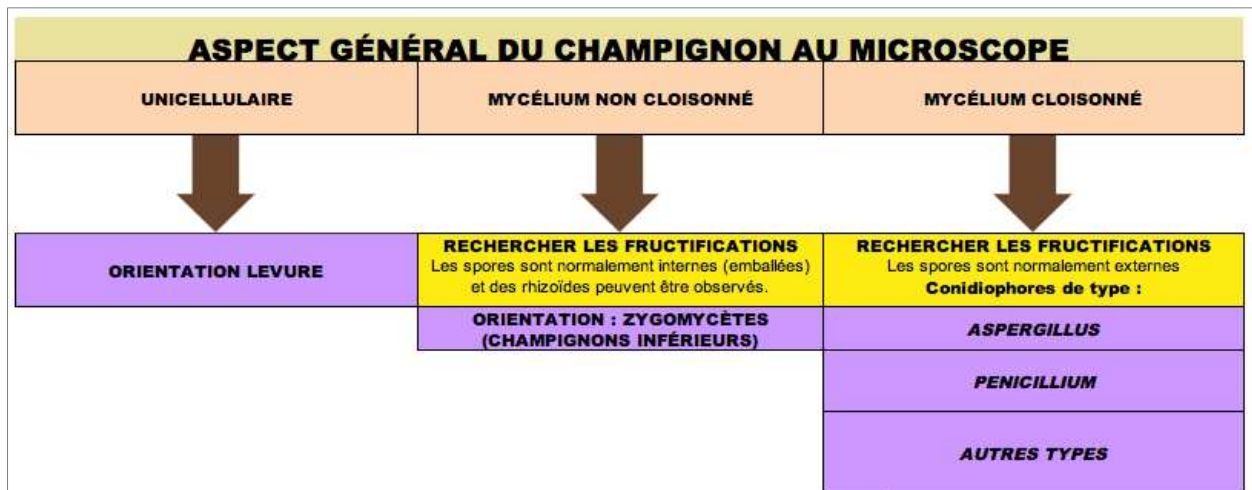
### 1. Echantillon et matériel

- Isolement sur gélose Sabouraud-Chloramphénicol, noté « is-BPJ » provenant de la suspension de broyat de pommes destinées à la fabrication d'un jus (NB : suspension identique à celle évoquée au document 3)
- Matériel usuel de prélèvement et de coloration des moisissures
- Masque à usage unique

### 2. Mode opératoire

- Déposer sur une lame, une goutte de bleu coton ou de lugol
- Prélever judicieusement un fragment de colonie à étudier, par la technique du scotch ou de l'öse plate
- Réaliser un état frais dans le bleu coton ou le lugol, et recouvrir d'une grande lamelle
- Luter la préparation à l'aide d'un fer à luter et de paraffine chaude, ou à l'aide de vernis à ongle
- Observer au microscope photonique au grossissement adéquat
- Proposer une identification du genre de la moisissure étudiée.

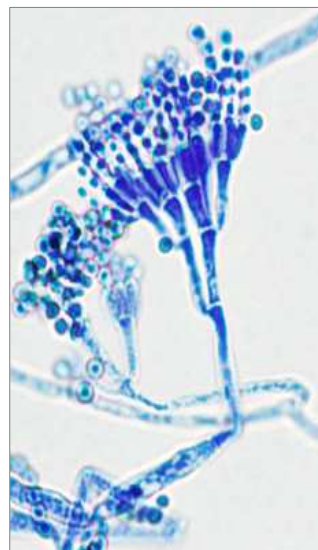
NOTA : ci-dessous, des documents d'aide à l'identification du genre



D'après Jean-Noël JOFFIN – [www.techmicrobio.eu](http://www.techmicrobio.eu)



« Tête aspergillaire » d'un *Aspergillus*  
[www.techmicrobio.eu](http://www.techmicrobio.eu)



Appareil sporifère en « pinceau » (*Penicillium*)  
[www.inspq.qc.ca](http://www.inspq.qc.ca)

## **DOCUMENT 5 : Recherche immunoenzymatique d'une mycotoxine**

*Il s'agit d'une technique visant à doser un antigène grâce à un anticorps qui lui est spécifique. Ce dernier est lui-même reconnu par un second anticorps couplé à une enzyme (« le conjugué »).*

### **1. Echantillon et matériel**

- Suspension issue d'un broyat de pommes destinées à la fabrication d'un jus noté « BPJ » (NB : suspension identique à celle évoquée aux documents 3 et 4)
- Une barrette de microtitration à 16 puits, pour le dosage de la patuline
- Une microplaque de 96 puits pour réaliser les dilutions de la solution mère de patuline
- Micropipettes et cônes correspondants
- Une solution mère de patuline à **1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$** , notée **patuline 1000**
- Une solution tampon PBS Tween en pissette, notée **PBS-Tween**
- Une solution tampon PBS-SAB, pH 7,2, notée **PBS-SAB**
- Une solution de conjugué (anticorps anti-patuline), marqué à la phosphatase alcaline, notée **Conjugué-EL**
- Une solution de substrat paranitrophénylphosphate, notée **PNPP**
- Une solution de soude, notée **NaOH**
- Pipette(s) automatique(s).

### **2. Mode opératoire**

- Dans **une microplaque**, réaliser une gamme de concentrations décroissantes à partir de la solution mère de patuline (à  $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) par 7 dilutions successives au demi, en tampon PBS-SAB, sous un volume final de **150  $\mu\text{L}$**

#### **2.1 Réaction antigène-anticorps**

- Dans la **barrette de microtitration**, répartir **100  $\mu\text{L}$**  de tampon PBS-BSA **A1 et B1**
- Dans la **barrette de microtitration**, répartir **100  $\mu\text{L}$**  de la solution mère de patuline **en A2** et **100  $\mu\text{L}$**  de chacune des dilutions réalisées dans les cupules **B2 à H2**
- Dans la **barrette de microtitration**, introduire **100  $\mu\text{L}$**  du broyat « **BPJ** », dans les cupules **C1 et D1**
- Couvrir la barrette à l'aide d'adhésif et incubé **1h à 37°C**.

#### **2.2 Réaction avec le conjugué**

- Réaliser 3 lavages successifs avec le PBS Tween
- Ajouter dans toutes les cupules **sauf B1**, **100  $\mu\text{L}$**  de la solution de conjugué
- Couvrir la barrette et incubé **30 min à 37°C**.

#### **2.3 Révélation**

- Réaliser 3 lavages successifs avec le PBS Tween
- Ajouter dans toutes les cupules **100  $\mu\text{L}$**  de la solution de **PNPP**
- Couvrir la barrette à l'aide scotch et incubé **10 min à l'obscurité et à température ambiante**.
- Arrêter la réaction par **50  $\mu\text{L}$**  de la solution de **NaOH**
- Lire les absorbances à 405 nm contre l'air

#### **2.4 Traitement et exploitation des résultats**

- Construire la courbe  **$A_{405 \text{ nm}} = f(\log [\text{patuline}])$** , à l'aide du logiciel *Regressi*
- Utiliser une modélisation sigmoïde
- Déduire la concentration en patuline de l'échantillon de broyat de pommes
- Conclure.

## **DOCUMENT 6 : Identification d'une levure par microscopie à épifluorescence**

*Il s'agit d'identifier le microorganisme par des antigènes qui lui sont spécifiques. Ces derniers sont reconnus par un anticorps couplé à une molécule fluorescente (« le conjugué »). La détection est réalisée par microscopie.*

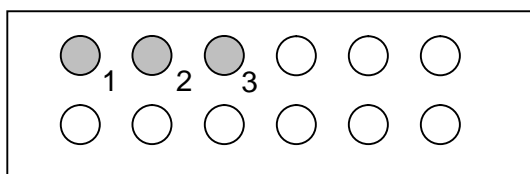
### **1. Echantillon et matériel**

- Echantillon d'un moût de fermentation destiné à la fabrication d'un cidre, noté « MC »
- Suspension pure et connue de *Brettanomyces anomalus*
- Suspension pure et connue de *Candida spp*
- Anticorps monoclonal anti-*Brettanomyces anomalus* couplé au FITC (noté « conjugué-IF »)
- Flacons type « borel » de tampon PBS 1 & 2, flacon type « borel » d'eau distillée
- Lame destinée aux réactions d'immunofluorescence.
- Pipette(s) automatique(s)
- Thermo-ventilateur

### **2. Mode opératoire**

#### **Dépôts des témoins et de l'essai**

- Faire 3 dépôts sur une lame à fluorescence (cercles grisés) selon le plan proposé:



- (1) dépôt de 20  $\mu$ L de suspension pure et connue de *Candida spp*
- (2) dépôt de 20  $\mu$ L de suspension pure et connue de *Brettanomyces anomalus*
- (3) dépôt de 20  $\mu$ L de suspension de levures à étudier (moût noté MC)

- Laisser sédimenter 15 minutes à 37°C, puis sécher l'excédent de dépôt, délicatement grâce à un thermo-ventilateur placé sous la lame, et incliné à environ 45° par rapport à celle-ci
- Fixer à l'aide d'une flamme, de la même manière que la fixation d'un frottis coloré par la méthode de Gram (à l'aide d'une pince métallique, « écraser » 3 fois la flamme du bec Bunsen avec la lame de verre).

#### **Marquage par le « conjugué fluorescent »**

- Recouvrir chaque dépôt avec 20  $\mu$ L de conjugué
- Incuber 10 minutes à 37°C
- Egoutter le surplus de liquide et passer rapidement (environ 5 secondes) dans des bains respectifs des tampons PBS 1 et 2.
- Passer rapidement (environ 5 secondes) dans un bain d'eau distillée.
- Egoutter énergiquement un maximum, essuyer la face inférieure de la lame.

#### **Lecture au microscope à épifluorescence, objectif 40**

*Filtre d'excitation à 495 nm.*

*Filtre d'émission à 520 nm.*

- Observer les 3 dépôts réalisés et conclure.

*NB : Le fluorochrome répond normalement, lorsqu'il est excité, par une fluorescence verte. L'anticorps conjugué est cependant mélangé à un produit de contraste qui fait apparaître en rouge sombre les levures non reconnues par l'anticorps monoclonal.*

*Ce produit de contraste peut modifier l'aspect de la fluorescence et lui donner une teinte allant du vert pâle au jaune-orangé.*

*Parfois, les microorganismes peuvent, après les différentes étapes, se concentrer en périphérie du cercle de dépôt.*

## **DOCUMENT 7 : Optimisation d'amorces en vue de leur utilisation dans une réaction de PCR.**

On utilise l'outil « bioinformatique » avec des logiciels dédiés afin d'analyser la qualité d'un couple d'amorces en fonction des contraintes de faisabilité d'une réaction de polymérisation en chaîne.

### **1. Outils de travail**

On dispose, sur la clé USB fournie, d'un dossier nommé « DOSSIER\_BIOINFO », contenant différents fichiers utiles à ce travail. On y trouvera notamment :

- Un fichier au format « LibreOffice », nommé *seq\_alpha1*. Il contient séquence d'un gène spécifique de *Brettanomyces anomalus*, codant pour le **facteur d'élongation alpha-1**. La séquence est fournie au format FASTA, directement utilisable dans les utilitaires, et représente le brin 5' → 3' du gène
- Un fichier au format « LibreOffice » nommé *amorces\_Primer3*
- On dispose également de l'utilitaire SMS2, permettant de travailler de manière assez intuitive sur l'analyse des couples d'amorces.



### **2. Mode opératoire**

#### **2.1 Analyses d'amorces pressenties**

- Dans le « DOSSIER\_BIOINFO », ouvrir le fichier **seq\_alpha1**. Il contient la séquence du gène *alpha-1* de *Brettanomyces anomalus*, codant pour le facteur d'élongation *alpha-1*. En surbrillance sont représentées les 2 zones sur lesquelles on souhaiterait hybrider les amorces à tester. On souhaite amplifier par PCR la zone comprise entre les 2 surbrillances
- Déterminer la séquence des amorces, le cas échéant grâce à SMS2
- Déterminer les statistiques du couple d'amorces sélectionné.

#### **2.2 Analyses d'amorces proposées par Primer3**

Le logiciel *Primer3*, en ligne, a proposé pour l'amplification du fragment souhaité, un autre couple d'amorces que celles pressenties au 2.1.

- Dans le « DOSSIER\_BIOINFO », ouvrir le fichier nommé **amorces\_primer3**
- Déterminer les statistiques du couple d'amorces proposé par *Primer3*
- Discuter des résultats obtenus pour chacun des deux couples d'amorces, et conclure.

#### **NB : Précisions sur l'utilisation locale de SMS2.**

- Dans le dossier SMS2 fourni sur la clé USB, rechercher le fichier « *index.html* », et l'ouvrir par un double clic
- Dans la colonne de gauche sont listées toutes les fonctionnalités du logiciel
- L'accès à ces fonctionnalités est assorti d'un exemple préenregistré. Celui-ci peut servir de modèle et d'explication pour le travail demandé au logiciel
- Cliquer sur le bouton « CLEAR » pour effacer l'exemple et travailler avec les séquences que l'on souhaite analyser. Bien respecter les règles éventuelles de nomenclature des séquences le cas échéant (elles sont expliquées dans l'exemple)
- Une fois les séquences désirées copiées (par simple copié-collé ou saisie), et leurs nomenclatures correctement réalisées, cliquer sur le bouton « SUBMIT ». Le résultat s'ouvre alors dans une nouvelle fenêtre.

Plusieurs fenêtres de travail de SMS2 peuvent être ouvertes simultanément, il suffit pour cela de double cliquer sur « *index.html* » autant de fois que de besoin.

## **DOCUMENT 8 : Analyse des glucides par chromatographie sur couche mince**

*Il s'agit d'une séparation qui est fonction de l'affinité différentielle des solutés contenus dans une phase mobile (liquide) le long d'une phase stationnaire.*

### **1 / MATERIELS ET CONSOMMABLES**

- Plaque couche mince en aluminium recouverte d'un gel de silice.
- P10 pour réaliser les dépôts.
- Cuve de migration avec couvercle à placer sous la hotte.
- Mélange de solvants pour séparation des glucides par CCM.
- Révélateur à l'aniline (pictogrammes et mention d'avertissement présentés ci-contre).

**Solution 1** : 0,5 mL d'aniline + 0,5g de diphénylamine + 25 mL d'éthanol 95%

**Solution 2** : 25 mL d'éthanol 95% + 5 mL acide phosphorique concentré.

Les solutions 1 et 2 doivent être mélangées **extemporanément**.

- Solutions étalons de glucose, arabinose, xylose, fructose, saccharose (1 % m/V en solution dans du propan-2-ol 10 % V/V).
- Jus de pomme prêt à embouteillage pour commercialisation.



### **2 / MODE OPERATOIRE**

La réalisation de ce type de chromatographie peut être découpée en plusieurs étapes successives :

- Régénération de la plaque.
- Saturation de la cuve.
- Dépôt des échantillons.
- Migration sous l'action de la phase mobile.
- Récupération de la plaque.
- Révélation.

- L'étape de régénération de la plaque a été réalisée par le centre de concours.

- Saturer la cuve environ 10 minutes sous une hotte.

- Déposer les échantillons et les témoins à l'aide d'une pipette automatique P10, le volume délivré est de 2 µL. (Celui-ci peut être réalisé en plusieurs touches successives).

- La migration est réalisée sous hotte, la durée varie selon la quantité de solvant déposée en pied de cuve : le candidat est responsable du suivi de la migration.

- A la fin de la migration, noter le front du solvant puis patienter environ une minute pour que le solvant contenu sur la plaque s'évapore.

- Procéder à la révélation par immersion de votre plaque à l'aide du réactif à l'aniline reconstitué.

- L'apparition des tâches nécessite environ 10 minutes en étuve ventilée à 90°C.

### **3 / EXPLOITATION DES RESULTATS**

Entourer rapidement les tâches à l'aide d'un crayon car elles peuvent s'estomper.

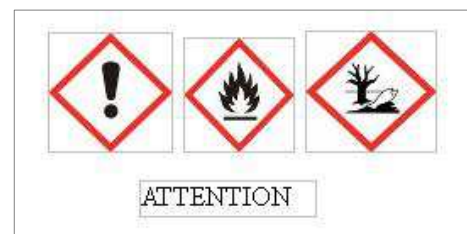
- ➔ Si vous souhaitez emporter votre plaque, des pochettes transparentes de protection peuvent vous être fournies par le centre de concours.

## **DOCUMENT 9 : Dosage spectrophotométrique des sucres réducteurs par la méthode au 3,5 dinitrosalicylate**

Les glucides réducteurs, réduisent à chaud et en milieu alcalin le dinitrosalicylate (jaune) en 3-amino-5-nitrosalicylate (rouge). La longueur d'onde qui correspond au maximum d'absorbance de ce composé se situe à  $\lambda = 530 \text{ nm}$ .

### **1 / REACTIFS FOURNIS**

- Jus de pomme prêt à embouteillage pour commercialisation.
- Solution étalon de glucose à  $10 \text{ mmol.L}^{-1}$ .
- Solution contrôle de glucose à exactement  $1 \text{ g.L}^{-1}$ .
- Réactif au dinitrosalicylate (**DNS**) : pictogrammes et mention d'avertissement présentés ci-contre).



### **2 / MODE OPERATOIRE**

#### **2-1 / PREPARATION DE LA GAMME ETALON**

Préparer une gamme de 9 tubes contenant de 0 à  $20 \mu\text{mol}$  de sucres réducteurs par tube.

- Composition du tube témoin :
  - $2 \text{ cm}^3$  d'eau distillée.
  - $2 \text{ cm}^3$  de réactif au DNS.

Boucher les tubes avec du papier aluminium puis les mélanger.

Les placer 5 min exactement au bain-marie puis les refroidir ensuite dans un bain d'eau froide.

Ajouter  $15 \text{ cm}^3$  d'eau distillée de manière à diminuer l'intensité de la coloration.

Effectuer la lecture à  $\lambda = 530 \text{ nm}$ .

#### **2-2 / PREPARATION DES ESSAIS**

Diluer si nécessaire l'échantillon à tester de manière à obtenir une quantité de sucre réducteur comprise dans la gamme étalon proposée.

Traiter ensuite les essais dans les mêmes conditions de la gamme.

#### **2-3 / PREPARATION DU CONTROLE**

$1 \text{ mL}$  de solution de contrôle sera testé et traité dans les mêmes conditions que la gamme.

#### **Données :**

- Données métrologiques associées à la méthode de dosage proposée :
  - Écart type de répétabilité  $s_r = 2 \text{ mmol.L}^{-1}$ .
  - Écart type de reproductibilité  $s_R = 4 \text{ mmol.L}^{-1}$ .
  - Incertitude composée  $u_c = 5 \text{ mmol.L}^{-1}$ .
- $M_{\text{glucose}} = 180 \text{ g.mol}^{-1}$

# Sucrose/D-Glucose/ D-Fructose

## UV method

for the determination of sucrose, D-glucose and D-fructose in foodstuffs and other materials

**Cat. Nr. 10 716 260 035**

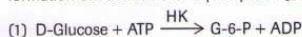
Test-Combination for 22 assays each

### Principle (Ref. A 1)

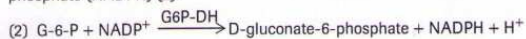
The D-glucose concentration is determined before and after the enzymatic hydrolysis of sucrose; D-fructose is determined subsequently to the determination of D-glucose.

#### Determination of D-glucose before inversion:

At pH 7.6, the enzyme hexokinase (HK) catalyzes the phosphorylation of D-glucose by adenosine-5'-triphosphate (ATP) with the simultaneous formation of adenosine-5'-diphosphate (ADP) (1).

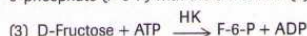


In the presence of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH), the D-glucose-6-phosphate (G-6-P) formed is specifically oxidized by nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADP) to D-gluconate-6-phosphate with the formation of reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) (2).

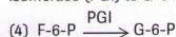


The NADPH formed in this reaction is stoichiometric to the amount of D-glucose and is measured by means of its light absorbance at 334, 340 or 365 nm.

**Determination of D-fructose:**  
Hexokinase also catalyzes the phosphorylation of D-fructose to D-fructose-6-phosphate (F-6-P) with the aid of ATP (3).



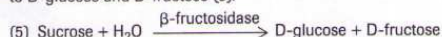
On completion of the reaction (3) F-6-P is converted by phosphoglucose isomerase (PGI) to G-6-P (4).



G-6-P reacts again with NADP with formation of D-gluconate-6-phosphate and NADPH (2). The amount of NADPH formed now is stoichiometric to the amount of D-fructose.

#### Enzymatic inversion:

At pH 4.6, sucrose is hydrolyzed by the enzyme  $\beta$ -fructosidase (invertase) to D-glucose and D-fructose (5).



The determination of D-glucose after inversion (total D-glucose) is carried out according to the principle outlined above.

The sucrose content is calculated from the difference of the D-glucose concentrations before and after enzymatic inversion.

### The Test-Combination contains

- Bottle 1 with approx. 0.5 g lyophilizate, consisting of: citrate buffer, pH approx. 4.6;  $\beta$ -fructosidase, approx. 720 U
- Bottle 2 with approx. 72 g powder mixture, consisting of: triethanolamine buffer, pH approx. 7.6; NADP, approx. 110 mg; ATP, approx. 260 mg; magnesium sulfate
- Bottle 3 with approx. 1.1 ml suspension, consisting of: hexokinase, approx. 320 U; glucose-6-phosphate dehydrogenase, approx. 160 U
- Bottle 4 with approx. 0.6 ml phosphoglucose isomerase suspension, approx. 420 U
- Bottle 5 with sucrose assay control material for assay control purposes (measurement of the assay control material is not necessary for calculating the results.) Expiry date: see pack label
- Bottle 6 with D-glucose assay control solution for assay control purposes (measurement of the assay control solution is not necessary for calculating the results.) The assay control solution does not contain sucrose and D-fructose because of their insufficient stability in aqueous solutions. Use the assay control solution undiluted. (Expiry date: see pack label)

### Preparation of solutions

- Dissolve contents of bottle 1 with 10 ml redist. water.
- Dissolve contents of bottle 2 with 45 ml redist. water.
- Use contents of bottle 3 undiluted.
- Use contents of bottle 4 undiluted.

## BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM Enzymatic BioAnalysis / Food Analysis

For *in vitro* use only

Store at 2-8°C

For recommendations for methods and standardized procedures see references (A 2, B 2, C 2, D 2)

### Stability of reagents

The contents of bottles 1, 2, 3 and 4 are stable at 2-8°C (see pack label).

Solution 1 and solution 2 are stable for 4 weeks at 2-8°C, or for 2 months at -15 to -25°C.

Bring solutions 1 and 2 to 20-25°C before use.

### Procedure

Wavelength<sup>1</sup>: 340 nm, Hg 365 nm or Hg 334 nm

Glass cuvette<sup>2</sup>: 1.00 cm light path

Temperature: 20-25°C

Final volume: 3.020 ml (3.040 ml, determination of D-fructose)

Read against air (without a cuvette in the light path) or against water

Sample solution: 4-150  $\mu$ g sucrose + D-glucose + D-fructose/assay<sup>3</sup> (in 0.100-1.800 resp. 2.000 ml sample volume)

Pipette into cuvettes	Blank sucrose sample	Sucrose sample	Blank D-glucose/D-fructose sample	D-Glucose/D-fructose sample
solution 1* sample solution**	0.200 ml -	0.200 ml 0.100 ml	- -	- 0.100 ml
Mix*, incubate for 15 min at 20-25°C or for 5 min at 37°C (before pipetting, warm up solution 1 to 37°C). Addition of:				
solution 2 redist. water	1.000 ml 1.800 ml	1.000 ml 1.700 ml	1.000 ml 2.000 ml	1.000 ml 1.900 ml
Mix***, read absorbances of the solutions after approx. 3 min (A <sub>1</sub> ). Start reaction by addition of:				
suspension 3	0.020 ml	0.020 ml	0.020 ml	0.020 ml
Mix***, wait for completion of the reaction (approx. 10-15 min) and read absorbances of the solutions (A <sub>2</sub> ). If the reaction has not stopped after 15 min, continue to read the absorbances at 2 min intervals until the absorbance increases constantly over 2 min. Addition of:				
suspension 4	-	-	0.020 ml	0.020 ml
Mix***, read absorbances of the solutions after 10-15 min (A <sub>3</sub> ).				

\* Pipette solution 1 and sample solution each, onto the bottom of the cuvette and mix by gentle swirling. When using a plastic spatula, remove it from the cuvette only directly before measuring absorbance A<sub>1</sub>.

\*\* Rinse the enzyme pipette or the pipette tip of the piston pipette with sample solution before dispensing the sample solution.

\*\*\* For example, with a plastic spatula or by gentle swirling after closing the cuvette with Parafilm (trademark of the American Can Company, Greenwich, CT, USA)

If the absorbance A<sub>2</sub> increases constantly, extrapolate the absorbances A<sub>2</sub> to the time of the addition of suspension 3 (HK/G6P-DH).

Determine the absorbance differences (A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>) for both, blanks and samples. Subtract the absorbance difference of the blank from the absorbance difference of the corresponding sample.

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{sample}} - (A_2 - A_1)_{\text{blank}}$$

The difference between  $\Delta A_{\text{total D-glucose}}$  (from the sucrose sample) and

$\Delta A_{\text{D-glucose}}$  (from the D-glucose sample) yields  $\Delta A_{\text{sucrose}}$ .

It follows for the determination of D-fructose:

Determine the absorbance differences (A<sub>3</sub>-A<sub>2</sub>) for both, blank and sample (D-glucose/D-fructose sample). Subtract the absorbance difference of the blank from the absorbance difference of the sample. This results in  $\Delta A_{\text{D-fructose}}$ .

The measured absorbance differences should, as a rule, be at least 0.100 absorbance units to achieve sufficiently precise results (see "Instructions for performance of assay" and "Sensitivity and detection limit", pt.4).

1 The absorption maximum of NADPH is at 340 nm. On spectrophotometers, measurements are taken at the absorption maximum; if spectralline photometers equipped with a mercury vapor lamp are used, measurements are taken at a wavelength of 365 nm/334 nm.

2 If desired, disposable cuvettes may be used instead of glass cuvettes.

3 See instructions for performance of assay



0708.10716 938 ©





### Calculation

According to the general equation for calculating the concentrations:

$$c = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ [g/l]}$$

V = final volume [ml]  
 v = sample volume [ml]  
 MW = molecular weight of the substance to be assayed [g/mol]  
 d = light path [cm]  
 ε = extinction coefficient of NADPH at  
 340 nm = 6.3 [l × mmol<sup>-1</sup> × cm<sup>-1</sup>]  
 Hg 365 nm = 3.5 [l × mmol<sup>-1</sup> × cm<sup>-1</sup>]  
 Hg 334 nm = 6.18 [l × mmol<sup>-1</sup> × cm<sup>-1</sup>]

It follows for sucrose:

$$c = \frac{3.020 \times 342.3}{\epsilon \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A_{\text{sucrose}} = \frac{10.34}{\epsilon} \times \Delta A_{\text{sucrose}} \text{ [g sucrose/l sample solution]}$$

for D-glucose:

$$c = \frac{3.020 \times 180.16}{\epsilon \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A_{\text{D-glucose}} = \frac{5.441}{\epsilon} \times \Delta A_{\text{glucose}} \text{ [g D-glucose/l sample solution]}$$

for D-fructose:

$$c = \frac{3.040 \times 180.16}{\epsilon \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A_{\text{D-fructose}} = \frac{5.477}{\epsilon} \times \Delta A_{\text{fructose}} \text{ [g D-fructose/l sample solution]}$$

If the sample has been diluted during preparation, the result must be multiplied by the dilution factor F.

When analyzing solid and semi-solid samples which are weighed out for sample preparation, the result is to be calculated from the amount weighed:

$$\text{Content}_{\text{sucrose}} = \frac{c_{\text{sucrose}} \text{ [g/l sample solution]}}{\text{weight}_{\text{sample}} \text{ in g/l sample solution}} \times 100 \text{ [g/100 g]}$$

$$\text{Content}_{\text{D-glucose}} = \frac{c_{\text{D-glucose}} \text{ [g/l sample solution]}}{\text{weight}_{\text{sample}} \text{ in g/l sample solution}} \times 100 \text{ [g/100 g]}$$

$$\text{Content}_{\text{D-fructose}} = \frac{c_{\text{D-fructose}} \text{ [g/l sample solution]}}{\text{weight}_{\text{sample}} \text{ in g/l sample solution}} \times 100 \text{ [g/100 g]}$$

### 1. Instructions for performance of assay

The amount of sucrose + D-glucose + D-fructose present in the assay has to be between 8 µg and 150 µg (measurement at 365 nm) or 4 µg and 80 µg (measurement at 340, 334 nm), respectively. In order to get a sufficient absorbance difference, the sample solution is diluted to yield a sucrose + D-glucose + D-fructose concentration between 0.10 and 1.5 g/l or 0.05 and 0.8 g/l, respectively.

#### Dilution table

Estimated amount of sucrose + D-glucose + D-fructose per liter measurements at		Dilution with water	Dilution factor F
340 or 334 nm	365 nm		
< 0.8 g	< 1.5 g	-	1
0.8-8.0 g	1.5-15.0 g	1 + 9	10
8.0-80 g	15.0-150 g	1 + 99	100
> 80 g	> 150 g	1 + 999	1000

If the measured absorbance difference (ΔA) is too low (e.g. < 0.100), the sample solution should be prepared again (weigh out more sample or dilute less strongly) or the sample volume to be pipetted into the cuvette can be increased up to 2.000 ml (D-glucose and D-fructose sample), or up to 1.800 ml (sucrose sample). The volume of water added must then be reduced so as to obtain the same final volume in the assays for sample and blank. The new sample volume v must be taken into account in the calculation.

If the estimated amount of sucrose is below 0.2 g/l, the incubation time stated in the assay scheme, when sucrose is splitted by β-fructosidase, may be reduced from 15 min to 5 min.

### 2. Technical information

If the ratio D-glucose to sucrose (D-glucose to D-fructose) in the sample is higher than e.g. 10:1, the precision of the sucrose and D-fructose determination is impaired. In this case, as much as possible of the D-glucose should be removed by means of glucose oxidase in the presence of oxygen from the air. (For details see pt. 11: Determination of sucrose, D-glucose and D-fructose in honey).

### 3. Specificity

β-Fructosidase hydrolyzes the β-fructosidic bonds in sucrose and other glycosides. If the sample only contains sucrose it will be measured specifically via D-glucose. Even in the presence of fructosanes, sucrose can be measured specifically if after enzymatic hydrolysis with β-fructosidase, D-glucose and D-fructose are determined and the ratio of these monosaccharides is 1:1. If the D-fructose part dominates the sample contains 2 β-fructosanes.

The measuring of the D-glucose and D-fructose is specific.

In the analysis of commercial sucrose results of 100% have to be expected. In the analysis of commercial water-free D-glucose (molecular weight 180.16), D-glucose monohydrate (molecular weight 198.17) and of D-fructose results of < 100% have to be expected because the materials absorb moisture. (Commercial D-fructose may also contain D-glucose.)

### 4. Sensitivity and detection limit

The smallest differentiating absorbance for the procedure in the determination of D-glucose or D-fructose is 0.005 absorbance units. This corresponds to a maximum sample volume v = 2.000 ml and measurement at 340 nm of a D-glucose or D-fructose concentration of 0.2 mg/l sample solution (if v = 0.100 ml, this corresponds to 4 mg/l sample solution).

The detection limit of 0.4 mg D-glucose or D-fructose/l is derived from the absorbance difference of 0.010 (as measured at 340 nm) and a maximum sample volume v = 2.000 ml.

The smallest differentiating absorbance for the procedure in the determination of sucrose (in the presence of D-glucose in the sample) is 0.010 absorbance units. This corresponds to a maximum sample volume v = 1.800 ml and measurement at 340 nm of a sucrose concentration of 1 mg/l sample solution (if v = 0.100 ml, this corresponds to 15 mg/l sample solution).

The detection limit of 2 mg sucrose/l is derived from the absorbance difference of 0.020 (as measured at 340 nm) and a maximum sample volume v = 1.800 ml.

### 5. Linearity

Linearity of the determination exists from 4 µg sucrose + D-glucose + D-fructose/assay (2 mg sucrose + D-glucose + D-fructose/l sample solution; sample volume v = 1.800 ml) to 150 µg sucrose + D-glucose + D-fructose/assay (1.5 g sucrose + D-glucose + D-fructose/l sample solution; sample volume v = 0.100 ml).

### 6. Precision

In a double determination of D-glucose or D-fructose using one sample solution, a difference of 0.005 to 0.010 absorbance units may occur. With a sample volume of v = 0.100 ml and measurement at 340 nm, this corresponds to a D-glucose or D-fructose concentration of approx. 4-8 mg/l. (If the sample is diluted during sample preparation, the result has to be multiplied by the dilution factor F. If the sample is weighed in for sample preparation, e.g. using 1 g sample/100 ml = 10 g/l, a difference of 0.04-0.08 g/100 g can be expected.)

In a double determination of sucrose using one sample solution, a difference of 0.010 to 0.015 absorbance units may occur in the presence of D-glucose in the sample. With a sample volume of v = 0.100 ml and measurement at 340 nm, this corresponds to a sucrose concentration of approx. 15-25 mg/l. (If the sample is diluted during sample preparation, the result has to be multiplied by the dilution factor F. If the sample is weighed in for sample preparation, e.g. using 1 g sample/100 ml = 10 g/l, a difference of 0.15-0.25 g/100 g can be expected.)

The following data have been published in the literature:

#### Liquid whole egg:

D-Glucose:  
 x = 0.44 g/100 g      r = 0.073 g/100 g      s<sub>(r)</sub> = ± 0.026 g/100 g  
    R = 0.106 g/100 g      s<sub>(R)</sub> = ± 0.037 g/100 g

D-Fructose:  
 x = 6.72 g/100 g      r = 0.587 g/100 g      s<sub>(r)</sub> = ± 0.207 g/100 g  
    R = 0.748 g/100 g      s<sub>(R)</sub> = ± 0.264 g/100 g

Sucrose:  
 x = 43.32g/100g      r = 1.722 g/100 g      s<sub>(r)</sub> = ± 1.033 g/100 g  
    R = 4.268 g/100 g      s<sub>(R)</sub> = ± 1.501 g/100 g

For further data see references (Ref. A 2.4)

#### Fruit juice:

Sucrose:      r = 1.9 + 0.033 × (C<sub>sucrose</sub> in g/l)      g/l  
    R = 3.3 + 0.061 × (C<sub>sucrose</sub> in g/l)      g/l      (Ref. B 2.6)

D-Glucose:      r = 0.42 + 0.027 × (C<sub>D-glucose</sub> in g/l)      g/l  
    R = 1.0 + 0.042 × (C<sub>D-glucose</sub> in g/l)      g/l

D-Fructose:      r = 0.15 + 0.033 × (C<sub>D-fructose</sub> in g/l)      g/l  
    R = 1.05 + 0.045 × (C<sub>D-fructose</sub> in g/l)      g/l      (Ref. C 2.9)

#### Wine:

r = 0.056 × x<sub>i</sub>  
 R = 0.12 + 0.076 x<sub>i</sub>  
 x<sub>i</sub> = D-glucose- resp. D-fructose content in g/l      (Reg. C 2.17, 2.18)



**ENZYTEC™ fluid Éthanol**

Réf. n°: 5340

Coffret pour 4 x 10 déterminations

Pour usage *in vitro* uniquement

Réactifs pour la mesure de l'éthanol par photométrie en UV, dans des échantillons alimentaires.

**Méthode**

Test enzymatique en UV utilisant l'alcool-déshydrogenase (ADH).

**Principe**Éthanol + NAD<sup>+</sup>  $\xrightarrow{\text{ADH}}$  Acétyldéhyde + NADH + H<sup>+</sup>**Stockage et stabilité des réactifs**

Les réactifs sont stables jusqu'à la date indiquée, à condition de les stocker entre 2 et 8 °C, en évitant toute contamination. Ne pas congeler!

**Avertissements et précautions**

- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur (0,95 g/l). Ne pas avaler! Éviter le contact avec la peau et les muqueuses.
- Prendre les précautions nécessaires à l'utilisation de réactifs de laboratoire.

**Préparation des réactifs**

Les réactifs et les standards sont prêts à l'emploi.

**Matériel requis et non fourni**

Eau distillée (aseptique et sans métaux lourds) et équipement général de laboratoire.

**Contenu du coffret et concentration des réactifs**

Réactif	Volume	Contenu	pH
R1	4 x 20,8 ml	Tampon Chlorure de sodium	pH 9 150 mmol/l
R2	4 x 5,5 ml	Tampon NAD ADH	pH 6,6 ≥ 10 mmol/l ≥ 50 kU/l

**Préparation des échantillons**

Parce que l'alcool est volatile, il est nécessaire de préparer les échantillons de manière adéquate, sinon les résultats en seront affectés:

- Si l'échantillon doit être dilué, pipeter l'échantillon en dessous de la surface du diluant.
- Si l'échantillon doit être filtré, le filtrat ne doit pas tomber en gouttes, mais doit couler le long du récipient de réception.

Si l'échantillon présente l'une des caractéristiques suivantes, lesquelles perturbent le test, suivre la méthode de préparation correspondante :

- Tester des échantillons clairs, transparents et pratiquement neutres directement, ou après dilution à une concentration en éthanol comprise entre 20 et 250 mg/l.
- Filtrer ou centrifuger les solutions troubles.
- Éliminer le gaz carbonique contenu dans l'échantillon.
- Broyer et homogénéiser les échantillons solides ou pâteux. Peser une quantité suffisante dans un flacon gradué (tenir compte du domaine de mesure), extraire avec de l'eau et filtrer, centrifuger ou clarifier par la réaction de CARREZ.
- Peser une quantité suffisante d'échantillon contenant des matières grasses dans un flacon gradué (tenir compte du domaine de mesure), et clarifier par la réaction de Carrez.
- Ajuster les échantillons acides à un pH de 8 à 9 en ajoutant de l'hydroxyde de sodium ou de potassium, et incubé pendant environ 15 min.
- Traiter les échantillons fortement colorés avec du Polyvinyl-polypyrrolidone (PVPP à 1 g/100 ml d'échantillon), ou mesurer chaque échantillon avec un blanc échantillon au lieu du blanc réactif (ajuster le pH à 9 si nécessaire). Se reporter au mode opératoire ci-dessous.
- Suivre le protocole habituel

**Notes**

Le test est très sensible. L'éthanol présent dans l'air (issu par ex. des produits de nettoyage et de désinfection) provoque une réaction parasite ou des faux résultats. Il est donc nécessaire de réaliser le test dans une atmosphère sans éthanol, ou alors dans des cuvettes fermées et étanches. L'échantillon doit toujours être pipeté dans le réactif R1 pour éviter de perdre l'éthanol de l'échantillon. Attention aussi à l'usage de cuvettes en plastique, elles absorbent partiellement l'éthanol.

**Mode opératoire**

Des fiches techniques pour automates de chimie sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde : 340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm

Chemin optique : 1 cm

Température : 20 – 25 °C

Mesure : contre l'air ou l'eau

**\*Attention :** dans le protocole ci-dessous, le volume du standard Enzytec Fluid réf. 5420 est réduit à 50 µl, car sa concentration (500 mg/l) est au dessus du domaine de mesure. Lors du calcul du résultat, multiplier la concentration par 2 (car  $v = 50 \mu\text{l}$  au lieu de  $100 \mu\text{l}$ ). Si l'on utilise un autre standard moins concentré, garder le volume normal de  $100 \mu\text{l}$  et la formule normale.

	Blanc réactif (BR)	Échantillon	Standard réf. 5420 *	Blanc échantillon (BE, facultatif)
Eau bidist.	100 µl	-	50 µl	-
Réactif 1	2000 µl	2000 µl	2000 µl	2000 µl
Echantillon	-	100 µl	-	100 µl
Standard	-	-	50 µl	-
Mélanger, incubé pendant 3 min., lire l'absorbance A1, puis ajouter:				
Réactif 2	500 µl	500 µl	500 µl	-
Eau bidist.	-	-	-	500 µl
Mélanger, attendre la fin de la réaction (environ 15 min.) et lire l'absorbance A2.				

\* voir note sur le standard avant le tableau

**Calcul**

Mesure avec blanc réactif (BR):

$$\Delta A = (A_2 - fd \times A_1)_{\text{échantillon}} - (A_2 - fd \times A_1)_{\text{blanc réactif}}$$

Mesure avec blanc échantillon (BE):

$$\Delta A = (A_2 - fd \times A_1)_{\text{échantillon}} - (A_2 - fd \times A_1)_{\text{blanc échantillon}}$$

Avec  $fd$  = facteur de dilution des densités optiques, du fait des volumes de réactifs qui sont utilisés:

$$fd = (\text{volume échantillon} + R1) / (\text{volume échantillon} + R1 + R2) = 0,808.$$

**Formule de calcul:**

$$c = (V \times PM \times \Delta A) / (\varepsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{g/l d'éthanol}]$$

avec:

$$V \text{ (volume total)} = 2600 \text{ } [\mu\text{l}]; PM \text{ (poids moléculaire)} = 46,07 \text{ } [\text{g/mol}]$$

$$d \text{ (chemin optique)} = 1,00 \text{ } [\text{cm}]; v \text{ (volume échantillon)} = 100 \text{ } [\mu\text{l}]$$

$$\varepsilon \text{ (coeff. d'extinction du NADH)} = 6,3 \text{ } [l \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}] \text{ à } 340\text{nm}$$

$$\text{Il en résulte (à } 340 \text{ nm)} : C_{\text{éthanol}} [\text{g/l}] = 0,190 \times \Delta A.$$

Pour le standard, multiplier la concentration par 2 (car  $v = 50 \mu\text{l}$ ).

La formule doit être recalculée lorsqu'un paramètre est modifié, par ex. le volume échantillon ou la longueur d'onde.

Si l'échantillon a été dilué, multiplier la concentration calculée par le facteur de dilution.

**Echantillons solides:**

$$\text{Contenu}_{\text{éthanol}} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{C_{\text{éthanol}} [\text{g}/l \text{ échantillon}]}{\text{poids}_{\text{échantillon}} [\text{en g/l échantillon}]} \times 100$$

**Calibration / contrôle qualité**

Pour calibrer le test sur des automates de biochimie, ou pour contrôler la qualité des résultats en utilisation manuelle, utiliser le standard Enzytec Fluid Alcohol (Ref. N° 5420, 10 x 1 ml, 50 mg/dl). Le standard est prêt à l'emploi, il peut être dilué pour obtenir la (les) concentration(s) désirée(s).

**Spécifications et performances****Domaine de mesure**

Le test est conçu pour mesurer la présence d'éthanol dans un domaine de mesure compris entre 10 et 250 mg/l (mesuré à 340 nm). Si les concentrations dépassent le seuil haut, diluer l'échantillon avec de l'eau dans une fourchette 20 – 250 mg/l. Multiplier le résultat obtenu par le facteur de dilution.

**Spécificité**

L'enzyme ADH oxyde les alcools primaires. L'isopropanol et le butanol sont oxydés lentement, tandis que les alcools secondaires et tertiaires ne réagissent pas.

**Sensibilité**

1,8 mg/l, mesure effectuée à 340 nm.

La sensibilité correspond à la plus petite concentration statistiquement différente de la concentration zéro. Elle est calculée à partir de 3 écarts-types d'un échantillon zéro (sans éthanol) mesuré 20 fois de suite.

**Gestion des déchets**

Suivre les recommandations légales en vigueur dans le pays.

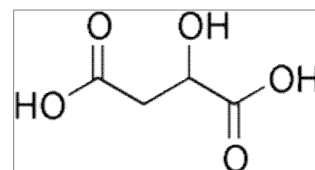
**Fabricant**

DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
 Alte Straße 9  
 65558 Holzheim  
 v03.01.2006

## DOCUMENT 12 : Dosage potentiométrique des acides organiques d'un jus de pommes

Les acides organiques contenus dans le jus de pommes sont presque essentiellement constitués d'acide malique. D'autres acides sont également présents à l'état de traces, on peut citer notamment l'acide éthanoïque, l'acide méthanoïque, l'acide panthoténique, et l'acide ascorbique (vitamine C).

On peut donc considérer que l'acidité du jus de pomme est due quasiment exclusivement à l'acide malique. En conséquence il est possible de déterminer la teneur en acide malique par potentiométrie.



Acide malique

### 1 / MATERIELS ET REACTIFS FOURNIS

- pH mètre à électrode combinée avec sa notice technique.
- Agitateur magnétique et barreau aimanté.
- Support pour électrode.
- Burette.
- Solution de soude à exactement  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ .
- Solutions pour étalonnage : pH exactement connus (7 & 4).
- Eau distillée.
- Jus de pomme prêt à embouteillage pour commercialisation.

### 2 / MODE OPERATOIRE

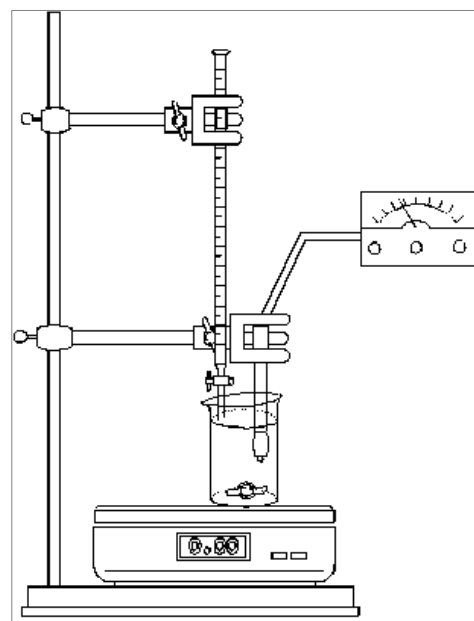
A l'aide de la notice technique fournie, étalonner le pH-mètre.

Introduire 10 mL de jus de pomme dans un bécher contenant un barreau aimanté, positionner ce bécher sur un agitateur magnétique.

Immerger l'électrode combinée du pH-mètre dans le jus de pomme.

Ajouter progressivement la solution de soude et suivre la variation de pH de la solution.

*Il est commandé de faire un premier dosage rapide, puis un second précis une fois la zone de virage déterminée.*

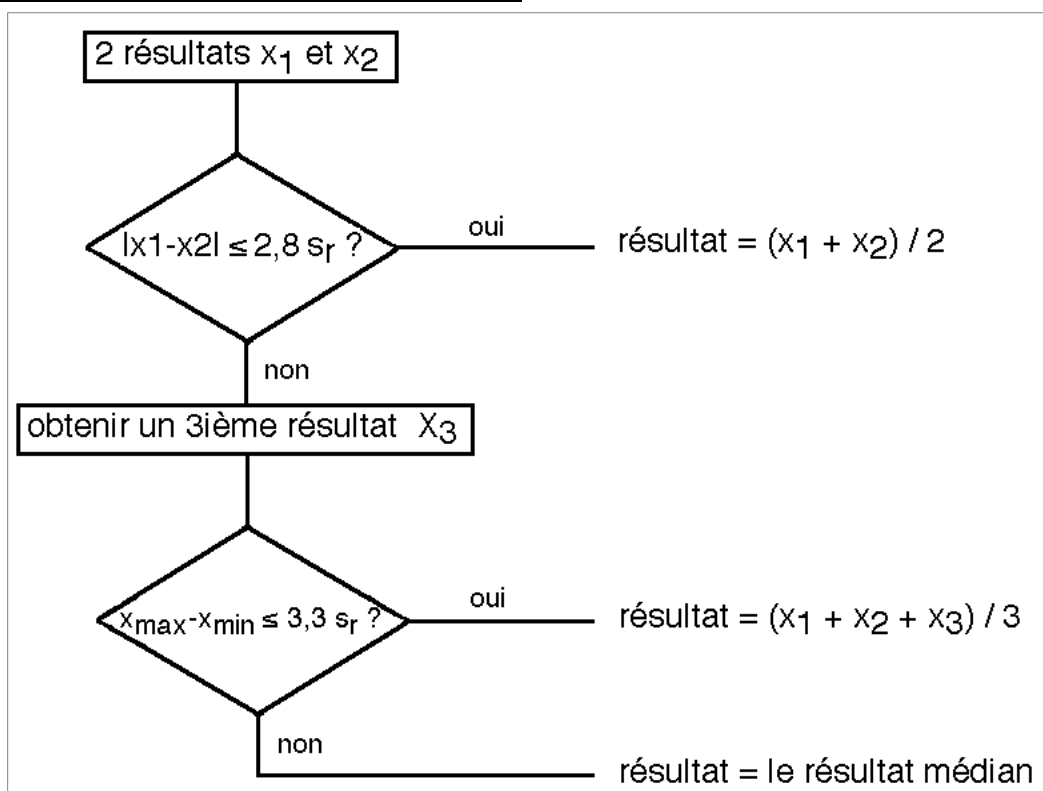


#### **Données :**

- Valeurs des pKa des couples acide-base de l'acide malique :  $\text{pKa}_1 = 3,4$  et  $\text{pKa}_2 = 5,1$ .
- Données métrologiques associées à la méthode de dosage proposée :
- Écart type de répétabilité  $s_r = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$
- Incertitude composée  $u_c = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ .
- $M_{\text{acide malique}} = 134 \text{ g.mol}^{-1}$

## DOCUMENT 13 : Logigrammes de traitement des résultats

### Contrôle d'acceptabilité à partir de 2 ou 3 résultats



### Validation d'un contrôle par calcul de l'écart normalisé (EN)

$$EN = \frac{|x - a|}{\sqrt{u_c^2(a) + s_R^2}}$$

Où :

"a" est la valeur de référence acceptée de l'échantillon de contrôle.

"u<sub>c</sub>(a)" est l'incertitude type composée affectée à l'échantillon "a"

"s<sub>R</sub>" est l'écart type de reproductibilité pour le mesurage de "a"

"x" est la mesure de "a" par le laboratoire.

Si  $EN < 2$ , le biais n'est pas significatif et l'on pourra valider le résultat obtenu.

# ANNEXE 1

## Contenu du dossier numérique

---

### DOCUMENTS RESSOURCES

---

- Notion de plan de maîtrise sanitaire (PMS) et méthode HACCP (fichier PMS\_HACCP)

---

### LOGICIELS

---

- Regressi + Fichier nommé « Initiation à Regressi.pdf »
- LibreOffice
  - LibreOfficeCalcPortable
  - LibreOfficeDrawPortable
  - LibreOfficeImpressPortable
  - LibreOfficeWriterPortable

---

### PREVENTION DES RISQUES

---

- Site\_3RB

---

### DOSSIER BIOINFORMATIQUE

---

- L'ensemble des fichiers et utilitaires nécessaires au document 7 du sujet se trouvent dans le **“DOSSIER\_BIOINFO”**

---

### REFERENTIELS ET PROGRAMMES

---

- Programme\_1ereSTL\_btk\_biotechnologies
- Programme\_1ereSTL\_btk\_chimie\_bioch\_sc\_vivant
- Programme\_1ereSTL\_btk\_mesures\_instrumentation
  
- Programme\_Tle\_STL\_btk\_biotechnologies
- Programme\_Tle\_STL\_btk\_chimie\_bioch\_sc\_vivant
  
- Programme\_Cycle\_terminal\_langue\_vivante techno
  
- Referentiel\_BTS\_Analyses\_biologie\_medicale
- Referentiel\_BTS\_bioanalyses\_et\_controles
- Referentiel\_BTS\_biotechnologies

## ANNEXE 2

### Liste des ouvrages scientifiques et technologiques disponibles

Précis de biochimie. Harper
Dictionnaire des techniques de microbiologie. CRDP
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. DUNOD
Microbiologie. PRESCOTT



SESSION 2013

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

**Objectif de l'épreuve :**

Concevoir et organiser une séquence de formation destinée à une classe de terminale Sciences et Technologies de Laboratoire spécialité Biotechnologies. Présenter une séance détaillée choisie au sein de cette séquence.

Le projet technologique est l'outil pédagogique privilégié pour l'enseignement de spécialité "biotechnologies". Les activités technologiques doivent être contextualisées et gagnent sur le plan pédagogique à être intégrées dans une démarche de projet. Le programme de la série STL biotechnologies propose une liste non exhaustive de thématiques de projets que les professeurs peuvent choisir d'exploiter.

La thématique de projet choisie pour cette épreuve de concours est :

Domaine des biotechnologies appliquées aux bio-industries : secteur agro-alimentaire. : « Le vin : AOC et contrôle de qualité »

La formation des élèves permet l'acquisition de compétences transversales et technologiques, compétences évaluées au baccalauréat aussi bien lors de l'épreuve écrite Biotechnologies qu'à l'occasion de l'épreuve pratique d'évaluation des compétences expérimentales.

A l'aide des documents proposés ci-après, le candidat conçoit une séquence pédagogique s'inscrivant dans la thématique proposée.

Au cours de son exposé, le candidat présente cette séquence et les objectifs pédagogiques visés. Il justifie le choix des manipulations qu'il a réalisées pour bâtir la séance détaillée et exploite les résultats qu'il a obtenus.

Les documents mis à disposition sont de deux ordres :

- étude bibliographique de la thématique de projet ;
- protocoles opératoires permettant d'obtenir des résultats expérimentaux.



## **Ressources documentaires proposées :**

### *Documents d'aide à la contextualisation :*

Fiche documentaire 1 : Extrait de la charge de l'Appellation d'Origine Contrôlés « Entre deux Mers ».....	4
Fiche documentaire 2 : Extrait du dossier de presse de l'AOC « Entre deux mers » .....	4
Fiche documentaire 3 : Extrait de l'e-lettre n°132 du 30 juillet 2012 de la Confédération Européenne des Vignerons Indépendants .....	5
Fiche documentaire 4 : Extrait de la résolution OIV du 17 mars 2012 « résidus potentiellement allergiques »...	6
Fiche documentaire 5 : Exemple de souche de levure utilisée en œnologie .....	7
Fiche documentaire 6 : Contrôle de la qualité des levures sèches activées (LSA).....	8

### *Fiches techniques et modes opératoires :*

Document 1 : Dosage du glucose et du fructose .....	10
Document 2 : Chromatographie sur couche mince. ....	11
Document 3 : Dosage des glucides réducteurs par la méthode à l'acide 3,5 DiNitroSalicylique (DNS).....	12
Document 4 : Dosage de l'éthanol .....	13
Document 5 : Détermination de l'acidité volatile d'un vin .....	14
Document 6 : Galerie API® 20C.....	15
Document 7 : Auxanogramme en macrométhode, en milieu solide.....	16
Document 8 : Dénombrement en cellule de Malassez.....	17
Document 9 : Dénombrement en surface. (Norme ISO 7218 oct. 2007) .....	18
Document 10 : Suivi de croissance par turbidimétrie. ....	19
Document 11 : Dosage de la caséine.....	20
Document 12 : Measurement of Cell Numbers : Breed Method.....	21
Document 13 : Logigrammes de traitement des résultats.....	22

## **Echantillons mis à disposition :**

- Échantillon de vin AOC « entre deux mers ».
- Hydrodistillat de vin AOC « entre deux mers » contenant les acides volatils.
- Culture de Levure Sèche Activée, utilisée pour le levurage, présentée sur gélose Sabouraud.
- Suspension de Levure Sèche Activée, utilisée pour le levurage estimée à  $3 \cdot 10^8$  levures.mL<sup>-1</sup>.

**Fiche documentaire 1 : Extrait de la charge de l'Appellation d'Origine Contrôlés « Entre deux Mers »  
Décret n° 2009-1306 du 27 octobre 2009 abrogé par le décret n°2011-1444 du 3 novembre 2011**

**I.-Nom de l'appellation**

Seuls peuvent prétendre à l'appellation d'origine contrôlée " Entre-deux-Mers ", initialement reconnue par le décret du 31 juillet 1937, les vins répondant aux dispositions particulières fixées ci-après.

**II.-Dénominations géographiques et mentions complémentaires**

Le nom de l'appellation peut être suivi de la dénomination géographique " Haut-Benauge " pour les vins répondant aux conditions de production fixées pour cette dénomination géographique dans le présent cahier des charges.

../..

**III.-Couleur et types de produit**

L'appellation d'origine contrôlée " Entre-deux-Mers " suivie ou non de la dénomination géographique "Haut-Benauge " est réservée aux vins tranquilles blancs secs.

../..

**IV.-Aires et zones dans lesquelles différentes opérations sont réalisées**

1° Aire géographique :

a) La récolte des raisins, la vinification, et l'élaboration des vins sont assurées sur le territoire des communes du département de la Gironde, situées entre la Garonne et la Dordogne

../..

**V.-Encépagement**

1° Encépagement :

Les vins sont issus des cépages suivants :

-cépages principaux : muscadelle B, sémillon B, sauvignon B, sauvignon gris G ;

-cépages accessoires : colombar B, mauzac B, merlot blanc B et ugni blanc B.

2° Règles de proportion à l'exploitation :

La proportion des cépages principaux ne pourra être inférieure à 70 % de l'encépagement de l'exploitation.

La proportion du cépage merlot blanc B ne pourra être supérieure à 30 % de l'encépagement de l'exploitation.

La proportion des cépages colombar B, mauzac B et ugni blanc B ne pourra être supérieure à 10 % de l'encépagement de l'exploitation.

La conformité de l'encépagement est appréciée sur la totalité des parcelles de l'exploitation produisant le vin de l'appellation.

../..

**IX.-Transformation, élaboration, élevage, conditionnement, stockage**

1° Dispositions générales :

c) Fermentation malolactique.

Pas de disposition particulière.

d) Normes analytiques.

Tout lot de vin commercialisé en vrac ou conditionné présente une teneur en sucres fermentescibles (glucose + fructose) inférieure ou égale à 4 grammes par litre.

Tout lot de vin commercialisé en vrac ou conditionné présente une teneur en acidité volatile inférieure ou égale à 13, 26 milliéquivalents par litre (0, 65 gramme par litre exprimé en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Tout lot de vin commercialisé en vrac présente une teneur en anhydride sulfureux total inférieure ou égale à 180 milligrammes par litre.

e) Pratiques œnologiques et traitements physiques.

Les vins ne dépassent pas, après enrichissement, un titre alcoométrique volumique total de 13 %.

## Fiche documentaire 2 : Extrait du dossier de presse de l'AOC « Entre deux mers »

Service presse Syndicat Viticole de l'[entre2mers](#)

ABCcommunication – 28, rue Salneuve – 75017 Paris

Tout au long de la vinification, les viticulteurs élaborent leur vin selon différentes techniques. Depuis quelques années, en plus des méthodes traditionnelles, une partie d'entre eux pratiquent la macération pelliculaire : cette étape permet d'obtenir des vins plus expressifs et très aromatiques.

**L'arrivée au chai** Le raisin est pressé pour séparer les moûts (le jus des raisins des pellicules). Le débourage élimine ensuite les dépôts grossiers avant la fermentation.

**La fermentation** La fermentation alcoolique dure 12 à 15 jours. Elle s'effectue à une température de 18 à 20 °C.

**L'élevage** Il dure généralement de 3 à 6 mois et un peu plus dans le cas d'un élevage en barriques.

**Le collage** Il permet par addition d'un adjuvant (caséine, albumine d'œuf) d'améliorer la limpidité, augmenter la filtrabilité et d'accroître la stabilité du vin.

**La mise en bouteilles** Le vin est mis en bouteilles dans l'année qui suit la récolte.

**Le vieillissement** L'évolution et la maturation se poursuivent en bouteilles. Cette période peut durer de 2 à 5 ans, cependant les vins de l'[entre2mers](#) se consomment plutôt jeunes.

## *NOUVELLE ÉTIQUETAGE DES ALLERGÈNES : LE RÈGLEMENT EST PARU*

Les mentions concernant le lait, l'œuf et leurs produits dérivés sur les étiquettes des vins sont désormais connues.

Ces règles d'étiquetage s'appliqueront aux vins élaborés totalement ou partiellement à partir de raisins de la récolte des années 2012 et suivantes et étiquetés après le 30 juin 2012.

A partir de la récolte 2012, seuls les vins dans lesquels resteront présentes des traces des substances potentiellement allergènes provenant du lait ou de l'œuf (albumine ou caséines notamment), conformément aux méthodes d'analyse et aux critères de détection recommandés et publiés par l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV), devront faire l'objet d'un étiquetage. Les vins pour lesquels la trace des substances allergènes n'est pas détectable dans le produit final seront exemptés.

Sur l'étiquette des vins dans lesquels restent des traces d'allergènes figureront:

- ◇ des mentions obligatoires telles que "œuf", "albumine de l'œuf", "lait" ou "caséine du lait", le cas échéant en plusieurs langues de l'Union, précédées de la mention "contient".
- ◇ un pictogramme facultatif mentionnant dans toutes les langues de l'Union le mot "allergène".

**Ces règles concernent aussi les vins des pays tiers qui seront mis sur le marché de l'Union Européen après le 30 juin 2012.** Les vins des récoltes antérieures restent exemptés.

### Méthodes d'analyse

Les méthodes d'analyse reconnues par l'OIV pour la quantification des résidus potentiellement allergéniques de protéines de collage dans le vin sont disponible au lien suivant:



CEVI—Confédération européenne des vignerons indépendants  
4 place Félix Eboué

30/07/2012 - n° 132

75583 PARIS Cedex 12  
France

Téléphone : 0033+1.53.02.48.91  
Télécopie : 0033+1.53.02.05.11  
Messagerie : contact@cevi-eciw.eu

Retrouvez la CEVI  
sur le web :  
[www.cevi-eciw.eu](http://www.cevi-eciw.eu)



**Fiche documentaire 4 : Extrait de la résolution OIV du 17 mars 2012 « résidus potentiellement allergiques »**

DÉCIDE de modifier uniquement la limite de détection et la limite de quantification qui figurent dans le tableau 1 de la résolution OIV-OENO 427-2010 pour les méthodes de quantification des résidus potentiellement allergéniques des protéines de collage dans le vin comme suit:

Limite de Détection	(exprimée en mg/L) ≤ 0,25
Limite de Quantification	(exprimée en mg/L) ≤ 0,5

S'ENGAGE à continuer les travaux pour réduire si possible les limites de détection et de quantification

*Exemplaire certifié conforme  
Paris, le 17 mars 2012  
Le Directeur Général de l'OIV  
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

*Federico CASTELLUCCI*

© OIV 2012



LEVURE CERTIFIÉE BIOLOGIQUE

LEVURES  
ZYMAFLORE

# ZYMAFLORE® 011 BIO

Levure certifiée biologique selon les méthodes de production biologiques des règlements européens CE 834/2007 et 889/2008 et conforme au règlement américain (NOP) pour la production biologique.

## SPÉCIFICITÉS

Cette *Saccharomyces cerevisiae*, ex bayanus dans la précédente nomenclature, a été sélectionnée pour ses remarquables capacités fermentaires, sa bonne résistance à l'alcool, son respect de la typicité du cépage et sa faible production d'acides gras à moyennes chaînes et  $\text{SO}_2$ , composés inhibiteurs des bactéries malolactiques.

Sa résistance à l'alcool rend également la **Zymaflore® 011 BIO** adaptée aux reprises fermentaires ou à la re-inoculation dans le cas de fermentations spontanées languissantes pour assurer une fin de FA franche.

## PROPRIÉTÉS ŒNOLOGIQUES

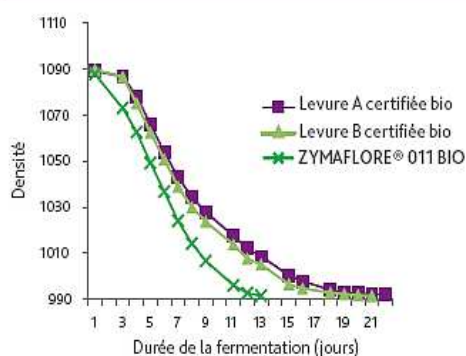
### Caractéristiques fermentaires :

- Tolérance à l'alcool : jusqu'à 16 % vol.
- Large tolérance aux températures : 14 - 26°C.
- Besoins en azote faibles.
- Faible production d'acides gras à moyenne chaîne.
- Compatibilité avec les levains malo-lactiques.

### Caractéristiques aromatiques et organoleptiques :

- Respect du terroir (expression aromatique nette, avec peu d'arômes fermentaires).

## RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX



*Cabernet Franc, Entre deux Mers 2012, TAP 13,2 % vol., AT 3,7 g/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , pH 3,2. Azote assimilable initial du moût 160 mg/L. Correction nutritionnelle avec 40 g/hL de NUTRISTART ORGANIQ à 1/3 de la FA. Contrôles d'implantation des levures positifs.*

  
**LAFFORT**  
*l'œnologie par nature*

Fiche documentaire 6 : Contrôle de la qualité des levures sèches activées (LSA).

*Les LSA sont contrôlées, avant leur distribution, par le fabricant et parfois par le sélectionneur. Ces contrôles permettent d'évaluer la qualité des levures commercialisées : viabilité, conformité à la souche d'origine, présence éventuelle de contaminants (bactéries, levures sauvages...).*

<u>Paramètres</u>	<u>Norme usuelle</u>
<i>Humidité</i>	<i>&lt; 8 %</i>
<i>Levures totales</i>	<i>&gt; 10<sup>10</sup> cell /g</i>
<i>Levures viables</i>	<i>&gt; 10<sup>10</sup> cell /g</i>
<i>Levures sauvages (non Saccharomyces)</i>	<i>&lt; 10<sup>5</sup> cell /g ou 0,01% de levures vivantes</i>
<i>Bactéries totales</i>	<i>&lt; 10<sup>6</sup> cell /g</i>
<i>Bactéries lactiques</i>	<i>&lt; 10<sup>5</sup> cell /g</i>
<i>Moisissures</i>	<i>&lt; 10<sup>3</sup> cell /g</i>
<i>Activité fermentaire</i>	<i>Fonction de la souche</i>
<i>Conformité à la souche sélectionnée</i>	<i>Conformité pureté 80%</i>

*Ces préparations peuvent se conserver d'une année sur l'autre, à condition de les stocker à basse température (+ 4°C), en emballage fermé.*

## Document 1 : Dosage du glucose et du fructose

Le glucose et le fructose sont dosés par une méthode enzymatique (Kit Megazyme K-FRUGL).

### 1. Echantillon

- Échantillon de vin AOC entre deux mers.

### 2. Fiche technique

Extraits de la fiche technique dont l'intégralité est disponible sur clé USB.

<p><b>SPÉCIFICITÉ, SENSIBILITÉ, LINÉARITÉ ET PRÉCISION:</b></p> <p>Les dosages sont spécifiques du D-glucose et du D-fructose. La plus faible absorbance permettant une différenciation dans ce dosage est de 0,010 unités d'absorbance. Cela correspond à 0,332 mg/L de solution échantillon au volume maximal d'échantillon de 2,00 mL. La limite de détection est de 0,663 mg/L, dérivée d'une différence d'absorbance de 0,020 pour le volume maximal d'échantillon de 2,00 mL.</p> <p>Le dosage est linéaire sur la plage allant de 4 à 80 µg de D-glucose ou de D-fructose par dosage. Dans les dosages en double utilisant une solution échantillon, une différence d'absorbance comprise entre 0,005 et 0,010 est possible. Avec un volume d'échantillon de 2,00 mL, cela correspond à une concentration de D-glucose d'environ 0,166 à 0,332 mg/L de solution échantillon. Si l'échantillon est dilué durant sa préparation, le résultat est multiplié par le facteur de dilution, F. Si, lors de la préparation de l'échantillon, l'échantillon est pesé, par exemple à 10 g/L, une différence de 0,02 à 0,05 g/100 g peut être attendue.</p>	<p><b>CALCUL:</b></p> <p>Déterminer la différence d'absorbance (<math>A_2-A_1</math>) pour le blanc et l'échantillon. Soustraire la différence d'absorbance du blanc de la différence d'absorbance de l'échantillon, afin d'obtenir <math>\Delta A_{D\text{-glucose}}</math>.</p> <p>Déterminer la différence d'absorbance (<math>A_3-A_2</math>) pour le blanc et l'échantillon. Soustraire la différence d'absorbance du blanc de la différence d'absorbance de l'échantillon, afin d'obtenir <math>\Delta A_{D\text{-fructose}}</math>.</p> <p>Les valeurs de <math>\Delta A_{D\text{-glucose}}</math> et de <math>\Delta A_{D\text{-fructose}}</math> doivent, en règle générale, être d'au moins 0,100 unités d'absorbance pour obtenir des résultats d'une précision suffisante.</p> <p>La concentration du D-glucose et du D-fructose peut être calculée de la manière suivante:</p> $c = \frac{V \times MM}{\epsilon \times d \times v} \times \Delta A \quad [g/L]$ <p>où:</p> <p>V = volume final [mL] MM = masse moléculaire du D-glucose ou du D-fructose [g/mol] <math>\epsilon</math> = coefficient d'extinction du NADPH à 340 nm = 6300 [<math>l \times mol^{-1} \times cm^{-1}</math>] d = trajet optique [cm] v = volume de l'échantillon [mL]</p> <p><b>Il s'ensuit pour le D-glucose:</b></p> $c = \frac{2,32 \times 180,16}{6300 \times 1,0 \times 0,10} \times \Delta A_{D\text{-glucose}} \quad [g/L]$ $= 0,6634 \times \Delta A_{D\text{-glucose}} \quad [g/L]$ <p><b>pour le D-fructose:</b></p> $c = \frac{2,34 \times 180,16}{6300 \times 1,0 \times 0,10} \times \Delta A_{D\text{-fructose}} \quad [g/L]$ $= 0,6692 \times \Delta A_{D\text{-fructose}} \quad [g/L]$ <p>Si l'échantillon a été dilué lors de sa préparation, le résultat doit être multiplié par le facteur de dilution, F.</p>																					
<p>Longueur d'onde: 340 nm Cuve: trajet optique 1 cm (verre ou plastique avec bouchon) Température: ~ 25°C Volume final: 2,32 mL (D-glucose) 2,34 mL (D-fructose) Solution échantillon: 4 à 80 µg de D-glucose plus D-fructose par cuve (dans un volume d'échantillon de 0,10 à 2,00 mL) Effectuer la lecture par rapport à l'air (sans cuve dans le trajet optique) ou par rapport à l'eau</p>																						
<table border="1"><thead><tr><th>Pipeter dans les cuves</th><th>Blanc</th><th>Échantillon</th></tr></thead><tbody><tr><td>eau distillée (à ~ 25°C)</td><td>2,10 mL</td><td>2,00 mL</td></tr><tr><td>Echantillon</td><td>-</td><td>0,10 mL</td></tr><tr><td>solution 1 (tampon imidazole)</td><td>0,10 mL</td><td>0,10 mL</td></tr><tr><td>solution 2 (NADP<sup>+</sup>/ATP)</td><td>0,10 mL</td><td>0,10 mL</td></tr></tbody></table> <p>Mélanger*, lire les absorbances des solutions (<math>A_1</math>) après environ 3 min et démarrer les réactions par addition de:</p> <table border="1"><tbody><tr><td>suspension 3 (HK/G-6-PDH)</td><td>0,02 mL</td><td>0,02 mL</td></tr></tbody></table> <p>Mélanger*, lire les absorbances des solutions (<math>A_2</math>) à la fin de la réaction (environ 5 min). Si la réaction n'est pas terminée au bout de 5 min, continuer à lire les absorbances toutes les 2 min jusqu'à ce que les absorbances restent identiques sur 2 min**.</p> <p>Puis ajouter:</p> <table border="1"><tbody><tr><td>suspension 4 (PGI)</td><td>0,02 mL</td><td>0,02 mL</td></tr></tbody></table> <p>Mélanger*, lire les absorbances des solutions (<math>A_3</math>) à la fin de la réaction (environ 8 à 10 min).</p>	Pipeter dans les cuves	Blanc	Échantillon	eau distillée (à ~ 25°C)	2,10 mL	2,00 mL	Echantillon	-	0,10 mL	solution 1 (tampon imidazole)	0,10 mL	0,10 mL	solution 2 (NADP <sup>+</sup> /ATP)	0,10 mL	0,10 mL	suspension 3 (HK/G-6-PDH)	0,02 mL	0,02 mL	suspension 4 (PGI)	0,02 mL	0,02 mL	
Pipeter dans les cuves	Blanc	Échantillon																				
eau distillée (à ~ 25°C)	2,10 mL	2,00 mL																				
Echantillon	-	0,10 mL																				
solution 1 (tampon imidazole)	0,10 mL	0,10 mL																				
solution 2 (NADP <sup>+</sup> /ATP)	0,10 mL	0,10 mL																				
suspension 3 (HK/G-6-PDH)	0,02 mL	0,02 mL																				
suspension 4 (PGI)	0,02 mL	0,02 mL																				

### Donnée :

Réaliser, dans un premier temps, le dosage dans un échantillon pur.



## Document 2 : Chromatographie sur couche mince.

La chromatographie sur couche mince permet la séparation de molécules en fonction de leur différence d'affinité vis-à-vis d'une phase mobile et d'une phase stationnaire.

### 1. Echantillons

- Échantillon de vin AOC entre deux mers.
- Témoins : glucose, fructose, saccharose, xylose (1 % m/V en solution dans du propan-2-ol 10 % V/V).

### 2. Réactif et matériel

- Plaque couche mince en aluminium recouverte d'un gel de silice.
- P10 pour réaliser les dépôts.
- Cuve de migration avec couvercle à placer sous la hotte.
- Mélange de solvants pour séparation des glucides par CCM.
- Révélateur à l'aniline (pictogrammes et mention d'avertissement présentés ci-contre)



- Solution 1 : 0,5 mL d'aniline + 0,5g de diphénylamine + 25 mL d'éthanol 95%.
- Solution 2 : 25 mL d'éthanol 95% + 5 mL acide phosphorique concentré.
- Les solutions 1 et 2 doivent être mélangées extemporanément.

### 3. Mode opératoire

- La plaque a été stockée à l'abri de l'humidité, en conséquence l'étape de régénération est inutile.
- Saturer la cuve environ 10 minutes sous la hotte.
- Au crayon de papier, faire un trait fin, à plus de 1,5 cm du bas de la plaque.
- Déposer un volume de 2  $\mu$ L des témoins à l'aide d'une pipette automatique P10.
- Déposer plusieurs dépôts de 2  $\mu$ L de l'échantillon à l'aide d'une pipette automatique P10.
- Réaliser la migration sous une hotte, la durée varie selon la quantité de solvant déposée en pied de cuve : le candidat est responsable du suivi de la migration.
- A la fin de la migration, noter le front du solvant puis patienter environ une minute pour que le solvant contenu sur la plaque s'évapore.
- Procéder à la révélation par immersion de votre plaque à l'aide du réactif à l'aniline reconstitué.
- L'apparition des tâches nécessite environ 10 minutes en étuve ventilée à 90°C.

### 4. Exploitation des résultats

Entourer rapidement les tâches à l'aide d'un crayon car elles peuvent s'estomper.

- Si vous souhaitez emporter votre plaque pour la suite de l'épreuve, des pochettes transparentes de protection peuvent vous être fournies par le centre de concours.

### Document 3 : Dosage des glucides réducteurs par la méthode à l'acide 3,5 DiNitroSalicylique (DNS)

Les propriétés réductrices de certains oses sont utilisées pour réaliser un dosage colorimétrique basé sur la réduction du 3,5 DNS par les oses réducteurs en milieu alcalin à chaud.

#### 1. Echantillon

- Échantillon de vin AOC entre deux mers.
- Solution étalon de glucose à  $1 \text{ g.L}^{-1}$ .

#### 2. Matériel et réactif

- Réactif au dinitrosalicylate (DNS) : pictogrammes de sécurité ci-contre.
- Bain - marie à  $100 \text{ }^\circ\text{C}$
- Billes de verre



#### 3. Mode opératoire

##### 3.1. Réalisation du dosage

- Placer dans un tube à essai :
  - 3 mL de solution de glucide
  - 1 mL de réactif au DNS
  - ajouter une bille de verre
  - fermer le tube avec du papier aluminium
- Placer le tube dans un bain marie bouillant exactement 5 minutes.
- Refroidir les tubes dans un bain d'eau froide puis laisser stabiliser à la température ambiante.
- Lire l'absorbance à 540 nm (ATTENTION l'absorbance varie avec la température).

##### 3.2. Organisation du dosage

###### 3.2.1. Réaliser la gamme de dilution à partir de la solution étalon de glucose

- Réaliser une dilution au 1/4 de la solution étalon fournie.
- A partir de cette solution diluée, réaliser la gamme de dilution en prélevant 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 et 3 mL de solution de glucide et compléter à 3 mL avec de l'eau distillée.

###### 3.2.2. Réaliser le dosage en parallèle

- de la gamme de dilution,
- de l'échantillon à doser ou sa dilution.

#### **Données :**

- Données métrologiques associées à la méthode de dosage proposée :
  - Écart type de répétabilité  $s_r = 2 \text{ mmol.L}^{-1}$ .
  - Écart type de reproductibilité  $s_R = 4 \text{ mmol.L}^{-1}$ .
  - Incertitude composée  $U_c = 5 \text{ mmol.L}^{-1}$ .
- $M_{\text{glucose}} = 180 \text{ g.mol}^{-1}$

## Document 4 : Dosage de l'éthanol

L'éthanol est dosé par une méthode enzymatique (Kit Megazyme K-ETOH).

### 1. Echantillon

- Échantillon de vin AOC entre deux mers.

### 2. Fiche technique

Extraits de la fiche technique dont l'intégralité est disponible sur clé USB.

<p><b>SPÉCIFICITÉ, SENSIBILITÉ, LINÉARITÉ ET PRÉCISION:</b></p> <p>L'ordre d'addition des réactifs durant le dosage élimine toute possibilité d'interférences liées aux aldéhydes et aux cétones. Le méthanol n'est pas converti en raison des valeurs défavorables de Km des enzymes utilisées.</p> <p>Le dosage est optimisé pour l'éthanol, mais une conversion quantitative du <i>n</i>-propanol et du <i>n</i>-butanol est également obtenue. Les alcools primaires supérieurs réagissent à une vitesse significativement réduite et, lorsqu'ils sont présents, peuvent conduire à une réaction différée dépendant de l'échantillon.</p> <p>La plus faible absorbance permettant une différenciation dans ce dosage est de 0,005 unités d'absorbance. Cela correspond à 0,023 mg/L de solution échantillon au volume maximal d'échantillon de 2,00 mL. La limite de détection est de 0,093 mg/L,</p>	<p><b>CALCUL:</b></p> <p>Déterminer la différence d'absorbance (<math>A_2 - A_1</math>) pour le blanc et l'échantillon. Soustraire la différence d'absorbance du blanc de la différence d'absorbance de l'échantillon, afin d'obtenir <math>\Delta A_{\text{éthanol}}</math>. La valeur de <math>\Delta A_{\text{éthanol}}</math> doit, en règle générale, être d'au moins 0,100 unités d'absorbance pour obtenir des résultats d'une précision suffisante.</p>																																							
<p>dérivée d'une différence d'absorbance de 0,020 pour le volume maximal d'échantillon de 2,00 mL.</p> <p>Le dosage est linéaire sur la plage allant de 0,25 à 12 µg d'éthanol par dosage. Dans les dosages en double utilisant une solution échantillon, une différence d'absorbance comprise entre 0,005 et 0,010 est possible. Avec un volume d'échantillon de 2,00 mL, cela correspond à une concentration d'éthanol d'environ 0,023 à 0,046 mg/L de solution échantillon. Si l'échantillon est dilué durant sa préparation, le résultat est multiplié par le facteur de dilution, F. Si, lors de la préparation de l'échantillon, l'échantillon est pesé, par exemple à 10 g/L, une différence de 0,02 à 0,05 g/100 g peut être attendue.</p>	<p>La concentration de l'éthanol peut être calculée de la manière suivante:</p> $c = \frac{V \times MM}{e \times d \times v \times 2} \times \Delta A_{\text{éthanol}} \quad [\text{g/L}]$ <p>où:</p> <p>V = volume final [mL] MM = masse moléculaire de l'éthanol [g/mol] ε = coefficient d'extinction du NADH à 340 nm = 6300 [l x mol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>] d = trajet optique [cm] v = volume de l'échantillon [mL] 2 = 2 mol. de NADH produites pour chaque mol. d'éthanol</p>																																							
<p>Longueur d'onde: 340 nm Cuve: trajet optique 1 cm (verre ou plastique avec bouchon) Température: ~ 20-25°C Volume final: 2,54 mL Solution échantillon: 0,25 à 12 µg d'éthanol par cuve (dans un volume d'échantillon de 0,10 à 2,00 mL)</p> <p>Effectuer la lecture par rapport à l'air (sans cuve dans le trajet optique) ou par rapport à l'eau</p>	<p><b>Il s'ensuit pour l'éthanol:</b></p> $c = \frac{2,54 \times 46,07}{6300 \times 1,0 \times 0,10 \times 2} \times \Delta A_{\text{éthanol}} \quad [\text{g/L}]$ $= 0,09287 \times \Delta A_{\text{éthanol}} \quad [\text{g/L}]$																																							
<table border="1"><thead><tr><th>Pipeter dans les cuves</th><th>Blanc</th><th>Échantillon</th></tr></thead><tbody><tr><td>eau distillée (à ~ 25°C)</td><td>2,10 mL</td><td>2,00 mL</td></tr><tr><td>échantillon</td><td>-</td><td>0,10 mL</td></tr><tr><td>solution 1 (tampon pyrophosphate)</td><td>0,20 mL</td><td>0,20 mL</td></tr><tr><td>solution 2 (NAD<sup>+</sup>)</td><td>0,20 mL</td><td>0,20 mL</td></tr><tr><td>suspension 3 (aldéhyde déshydrogénase)</td><td>0,02 mL</td><td>0,02 mL</td></tr></tbody></table> <p>Mélanger*, lire les absorbances des solutions (A<sub>1</sub>) après environ 2 min et démarrer les réactions par addition de:</p> <table border="1"><tbody><tr><td>suspension 4 (alcool déshydrogénase)</td><td>0,02 mL</td><td>0,02 mL</td></tr></tbody></table> <p>Mélanger*, lire les absorbances des solutions (A<sub>2</sub>) à la fin de la réaction (environ 5 min).</p>	Pipeter dans les cuves	Blanc	Échantillon	eau distillée (à ~ 25°C)	2,10 mL	2,00 mL	échantillon	-	0,10 mL	solution 1 (tampon pyrophosphate)	0,20 mL	0,20 mL	solution 2 (NAD <sup>+</sup> )	0,20 mL	0,20 mL	suspension 3 (aldéhyde déshydrogénase)	0,02 mL	0,02 mL	suspension 4 (alcool déshydrogénase)	0,02 mL	0,02 mL	<p><b>Tableau de dilution</b></p> <table border="1"><thead><tr><th>Concentration estimée de l'éthanol (g/L)</th><th>Dans l'eau de dilution</th><th>Dilution Facteur (F)</th></tr></thead><tbody><tr><td>&lt; 0,12</td><td>Aucune dilution requise</td><td>1</td></tr><tr><td>0,12-1,2</td><td>1 + 9</td><td>10</td></tr><tr><td>1,2-12</td><td>1 + 99</td><td>100</td></tr><tr><td>12-120</td><td>1 + 999</td><td>1000</td></tr><tr><td>&gt; 120</td><td>1 + 9999</td><td>10000</td></tr></tbody></table>	Concentration estimée de l'éthanol (g/L)	Dans l'eau de dilution	Dilution Facteur (F)	< 0,12	Aucune dilution requise	1	0,12-1,2	1 + 9	10	1,2-12	1 + 99	100	12-120	1 + 999	1000	> 120	1 + 9999	10000
Pipeter dans les cuves	Blanc	Échantillon																																						
eau distillée (à ~ 25°C)	2,10 mL	2,00 mL																																						
échantillon	-	0,10 mL																																						
solution 1 (tampon pyrophosphate)	0,20 mL	0,20 mL																																						
solution 2 (NAD <sup>+</sup> )	0,20 mL	0,20 mL																																						
suspension 3 (aldéhyde déshydrogénase)	0,02 mL	0,02 mL																																						
suspension 4 (alcool déshydrogénase)	0,02 mL	0,02 mL																																						
Concentration estimée de l'éthanol (g/L)	Dans l'eau de dilution	Dilution Facteur (F)																																						
< 0,12	Aucune dilution requise	1																																						
0,12-1,2	1 + 9	10																																						
1,2-12	1 + 99	100																																						
12-120	1 + 999	1000																																						
> 120	1 + 9999	10000																																						

#### Donnée :

densité de l'éthanol ( $D_4^{20}$ ) = 0,79

## Document 5 : Détermination de l'acidité volatile d'un vin

*Le vin contient des acides volatils (dioxydes de carbone et de soufre, ce dernier surtout dans les vins blancs) et des acides dissous variés (acide tartrique, éthanoïque, citrique, lactique, malique). Le dioxyde de carbone n'est pas pris en compte dans la mesure de l'acidité volatile.*

*L'acidité volatile s'exprime en gramme de  $H_2SO_4$  par litre.*

### 1. Echantillon

- Hydrodistillat de vin AOC « entre deux mers » contenant les acides volatils.

### 2. Matériel

- pH mètre
- Bécher
- Solution de soude à  $6,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$
- Agitateur magnétique

### 3. Mode opératoire

Une hydrodistillation est réalisée pour extraire les acides volatils. Vous disposez de cet hydrodistillat.

#### 3.1. Etalonnage du pH-mètre.

- Contrôler la calibration de l'appareil suivant le mode d'emploi, avec un tampon pH 7,00 et un tampon pH 4,00.

#### 3.2. Dosage.

- Verser  $V = 10,00 \text{ mL}$  de l'hydrodistillat dans un récipient à large ouverture.
- Ajouter assez d'eau distillée pour pouvoir plonger les électrodes dans le liquide sans que le barreau aimanté ne vienne les heurter.
- Mettre en marche l'agitateur, placer les électrodes, mettre le pH-mètre en position lecture.
- Verser l'hydroxyde de sodium de concentration molaire  $6,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  à la burette et suivre l'évolution du pH.

### 1. Échantillon

- Culture de Levure Sèche Activée (LSA), utilisée pour le levurage, présentée sur gélose Sabouraud.

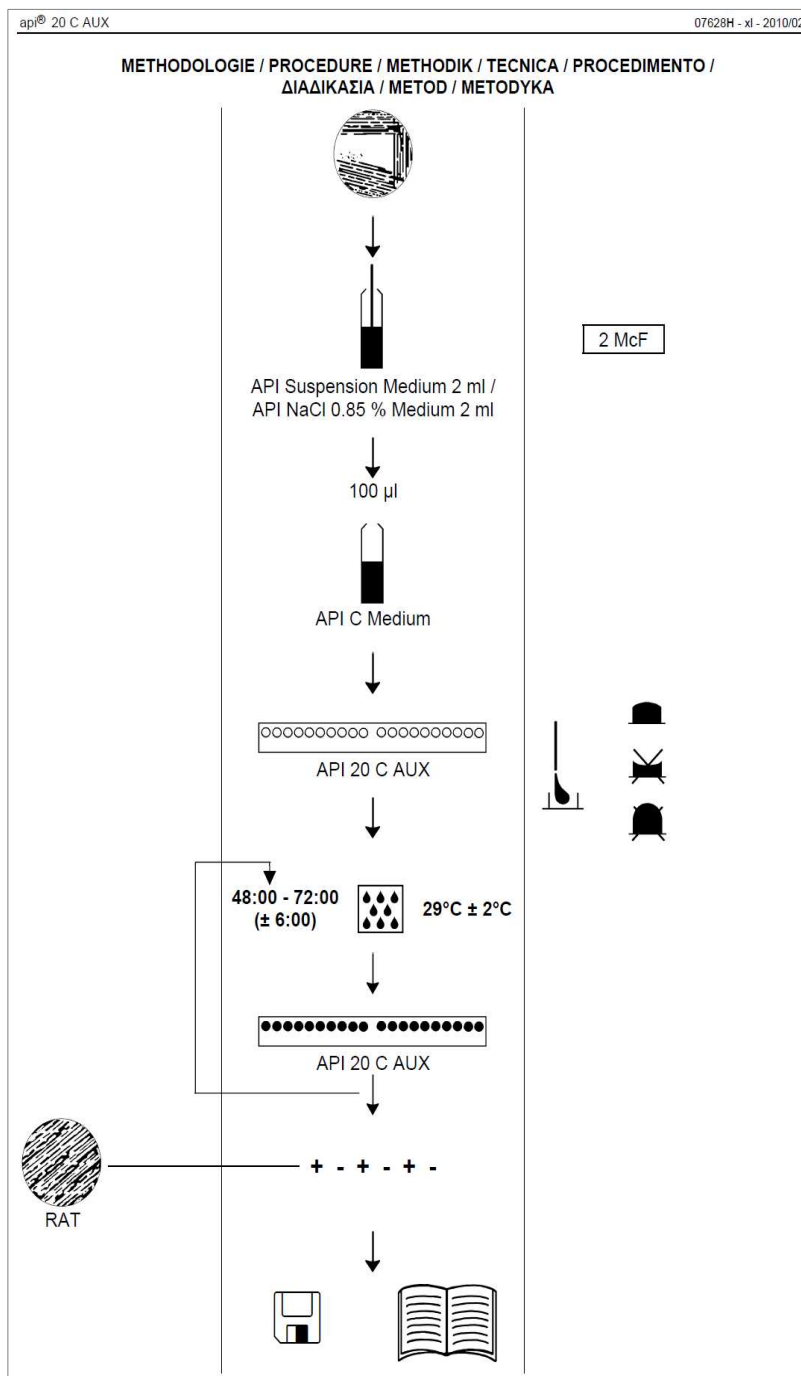
### 2. Matériel

- L' « API suspension medium » est remplacé par de l'eau physiologique.
- Étalon de Mac Farland 2 (McF).

### 3. Fiche technique

La fiche technique complète est disponible dans la salle.

Organigramme simplifié extrait de la fiche technique API® 20C :



## Document 7 : Auxanogramme en macrométhode, en milieu solide.

L'auxanogramme permet de déterminer les éléments carbonés utilisés comme seule source d'énergie et de carbone pour la croissance.

### 1. Échantillon

- Culture de Levure Sèche Activée (LSA), utilisée pour le levurage, présentée sur gélose Sabouraud.

### 2. Matériel

- Étalon Mac Farland 1
- Tubes de solutions de glucides à 30 % en tubes à hémolyse : glucose (GLU), arabinose (ARA), xylose (XYL), galactose (GAL), sorbitol (SOR), lactose (LAC), maltose (MAL), saccharose (SAC), raffinose (RAF)
- Disques de buvard stériles
- Eau distillée stérile
- Boîte de Petri stérile (120 x 120 mm)
- Milieu YNB en surfusion (60 mL)

Composition du milieu YNB : DIFCO.

Yeast Nitrogen Base (YNB) (sans aminoacides ni sulfate d'ammonium) en g/L de milieu final	
coenzymes (vitamines), dénominations anglaises	minéraux, dénominations anglaises
Biotin 2 µg Calcium pantothenate 400 µg Folic acid 2 µg Inositol 2000 µg Niacin 400 µg p-Aminobenzoic acid 200 µg Pyridoxine hydrochloride 400 µg Riboflavin 200 µg Thiamine hydrochloride 400 µg	Boric acid 500 µg Copper sulfate 40 µg Potassium iodide 100 µg Ferric chloride 200 µg Manganese sulfate 400 µg Sodium molybdate 200 µg Zinc sulfate 400 µg  Potassium phosphate monobasic 1 g Magnesium sulfate 500 mg Sodium chloride 100 mg Calcium chloride 100 mg

Difco : <http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/difcoBblManual.asp>

### 3. Mode opératoire

- A partir de la culture de LSA, réaliser une suspension calibrée de levures à  $3 \cdot 10^6$  levures par mL (1 Mc Farland).
- Introduire 40 µL de cette suspension dans la gélose YNB pour auxanogramme ramenée à une température convenable.
- Homogénéiser doucement.
- Couler dans une boîte de Petri carrée de 120 mm de côté, la gélose ainsiensemencée.
- Laisser sécher.
- Déposer les disques stériles sur la gélose et imprégner chaque disque de 5 µL de solution de glucide à 30 %.
- Les glucides (ou dérivés) à tester sont : glucose (GLU), arabinose (ARA), xylose (XYL), galactose (GAL), sorbitol (SOR), lactose (LAC), maltose (MAL), saccharose (SAC), raffinose (RAF).
- Réaliser un témoin négatif.
- Incuber les boîtes 48 h à 30°C.

## Document 8 : Dénombrement en cellule de Malassez

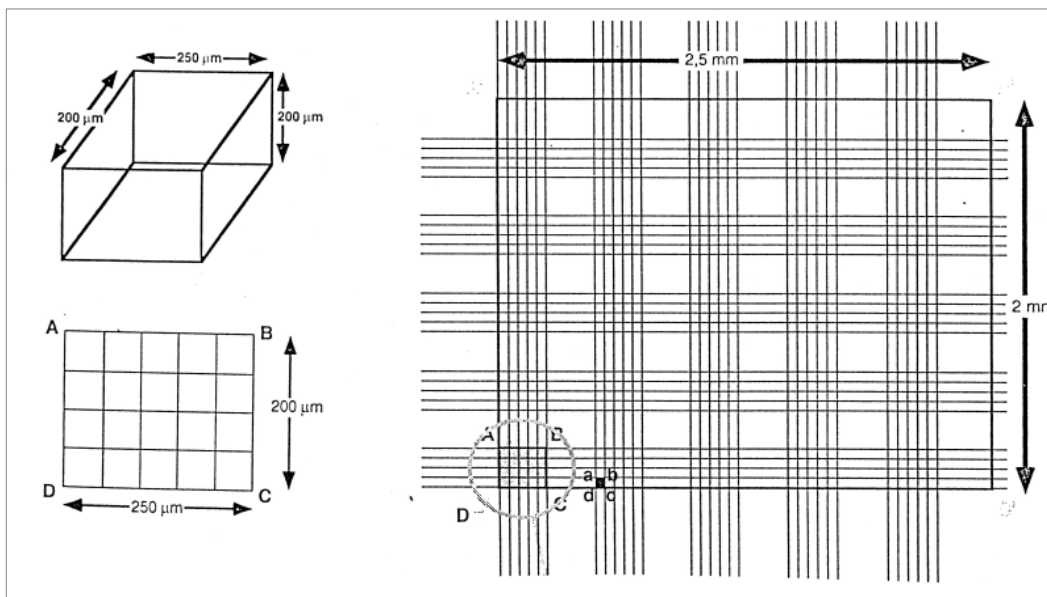
Le dénombrement se fait par comptage direct au microscope des cellules contenues dans un volume précis après une dilution adéquate de la suspension à analyser.

### 1. Échantillon

Suspension de Levure Sèche Activée (LSA), utilisée pour le levurage estimée à  $3.10^8$  levures.mL<sup>-1</sup> (environ 5 mL)

### 2. Principe

#### 2.1. Observation du quadrillage



#### 2.2. Mode opératoire

##### 2.2.1. Préparation de l'hématimètre

- Nettoyer éventuellement l'hématimètre à l'alcool et essuyer avec du papier Joseph
- Faire adhérer la lamelle sur les plates-formes latérales.
  - humidifier les plates-formes latérales
  - poser la lamelle
  - appuyer avec les pouces en exerçant un mouvement de va et vient jusqu'à adhésion.

##### 2.2.2. Charge de l'hématimètre

- Homogénéiser la suspension cellulaire.
- Appliquer l'extrémité d'une pipette capillaire sur la plate-forme centrale au contact de la lamelle.
- Remplir la chambre de comptage par capillarité (pas de bulles, ni débordement).
- Laisser sédimenter les cellules 10 minutes, selon le cas.

##### 2.2.3. Numération

- Faire la mise au point à l'objectif x10.
- Repérer le quadrillage, positionner le rectangle au centre, vérifier l'homogénéité.
- Compter les cellules à l'objectif x40 selon une règle de comptage pour les cellules sur les lignes.

## **Document 9 : Dénombrement en surface. (Norme ISO 7218 oct. 2007)**

*Le dénombrement des cellules viables se fait par comptage de colonies après culture. Les inoculums, de volume précis, sont constitués de dilutions adéquates de la suspension à analyser.*

### **1. Échantillon**

- Suspension de Levure Sèche Activée, utilisée pour le levurage estimée à  $3.10^8$  levures.mL<sup>-1</sup> (environ 5 mL) obtenue en mettant en suspension 3,9 g de levurage dans 100 mL.

### **2. Matériel**

Géloses Sabouraud + chloramphénicol (en surfusion)

6 Boîtes de Petri de 90 mm de diamètre

Tubes de 9 mL d'eau physiologique

### **3. Mode opératoire**

- Effectuer des dilutions de l'échantillon de raison 10 en eau physiologique stérile.
- Réaliser un dénombrement en surface de géloses Sabouraud additionnées de chloramphénicol (volume de 0,1 mL de suspension ou de ses dilutions étalé avec billes de verre ou râteau).
- Tester 3 dilutions successives à raison à raison d'une boîte par dilution si l'on est en assurance qualité sous les principes de la norme ISO 17025, sinon deux boites par dilution selon l'ISO 8199.

**On comptera entre 10 et 150 colonies par boîte**



## **Document 10 : Suivi de croissance par turbidimétrie.**

*La concentration en biomasse de l'inoculum peut être déterminée par turbidimétrie à 620 nm. Une unité de densité optique (DO) correspond à environ  $3.10^7$  levures.mL<sup>-1</sup>.*

*La limite supérieure de linéarité est de 0,50 unité de DO à 620 nm.*

*La limite de quantification est de 0,01 unité de DO à 620 nm.*

### **1. Echantillon**

- Suspension de Levure Sèche Activée, utilisée pour le levurage estimée à  $3.10^8$  levures.mL<sup>-1</sup> (environ 5 mL)

### **2. Matériel**

- Erlen contenant 100 mL de jus de raisin sans éthanol.
- Erlen contenant 100 mL de jus de raisin avec éthanol à 13 % (v/v)
- Jus de raisin pour dilutions (10 mL)

### **3. Mode opératoire**

#### 3.1. Conduite des fermentations

Ensemencer le milieu de culture de façon à obtenir une concentration en biomasse au départ correspondant à 0,2 à 620 nm dans le milieu. C'est le temps zéro de la manipulation.

Conduire la fermentation à 30 °C sous agitation.

#### 3.2. Les prélèvements

Prélever au temps 0, puis toutes les 30 minutes pour déterminer la DO<sub>620</sub>.

## Document 11 : Dosage de la caséine.

*La caséine est dosée par méthode immuno-enzymatique.*

### 1. Echantillon

- Échantillon de vin AOC entre deux mers.

### 2. Matériel

- barrette sensibilisée avec 100  $\mu\text{L}$  d'un anticorps anti caséine.
- un support de barrette
- adhésif
- agitateur de plaques
- 1 microplaque pour dilution
- étuve à 37°C
- lecteur de microplaques avec filtre à 405 nm

### 3. Réactifs

- tampon PBS Tween (PBS + Tween à 0,1%) : une pissette
- « étalon » : 300  $\mu\text{L}$  = caséine 2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  en PBS
- « conjugué » : 2mL en PBS
- « substrat » : PNPP à 1  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  : 2 mL
- « NaOH » à 5  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  : 2 mL

### 4. Mode opératoire

- Réaliser trois lavages successifs des barrettes avec le tampon PBS-Tween puis égoutter sur papier absorbant.
- Préparer une gamme étalon de caséine à partir de la solution mère étalon à 2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , en réalisant une gamme de 6 dilutions successives de raison 2 en microplaque. Le diluant est du tampon phosphate salin avec un volume final de 100  $\mu\text{L}$ .
- Les cupules A2 et B2 servent de témoins ; la cupule H2 sert pour le réglage du zéro lors de la lecture des absorbances.
- Distribuer dans les cupules :
  - A1 à F1 : 50  $\mu\text{L}$  de chacune des solutions de la gamme en commençant par la plus diluée et en terminant par la solution initiale à 2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .
  - C2 et D2 : 50  $\mu\text{L}$  d'échantillon à doser
- Ajouter rapidement dans les cupules réactions, et dans la cupule B2, 50  $\mu\text{L}$  de conjugué caséine couplé à la phosphatase alcaline.
- Couvrir d'un film autocollant et incuber 1 heure à 37°C.
- Réaliser 3 lavages successifs avec du PBS-Tween.
- Ajouter dans toutes les cupules 100  $\mu\text{L}$  de solution de paranitrophénylphosphate.
- Couvrir et incuber 20 minutes à 37°C.
- Ajouter 50  $\mu\text{L}$  de solution de soude.
- Lire les absorbances à 405 nm.
  
- Tracer le graphe  $A$  à 405 nm =  $f(\ln([\text{caséine}]))$ .

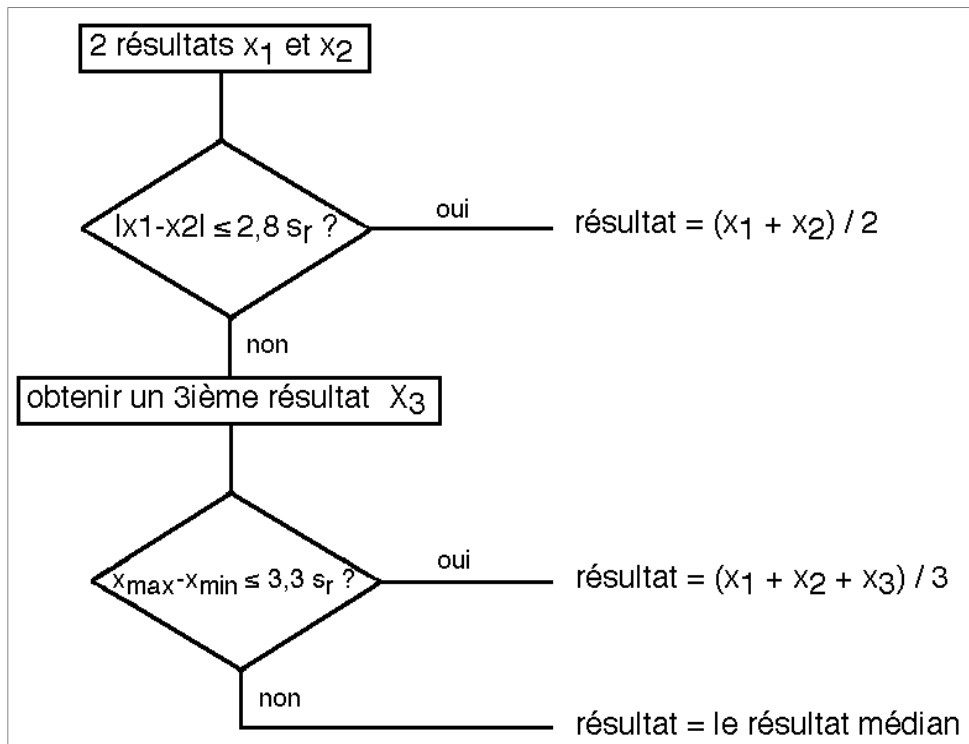
## Document 12 : Measurement of Cell Numbers : Breed Method

A known volume of microbial cell suspension (0.01 mL) is spread uniformly over a glass slide covering a specific area (1 sq.cm). The smear is then fixed by heating, stained, examined under oil immersion lens, and the cells are counted. Customarily, cells in a few microscopic fields are counted because it is not possible to scan the entire Area of smear. The counting of total number of cells is determined by calculating the total number of microscopic fields per one square cm. area of the smear. The total number of cells can be counted with the help of following calculations:

- Area of microscopic field =  $\pi r^2$ 
  - $r$  (oil immersion lens) = 0.08 mm.
  - Area of the microscopic field under the oil immersion lens =  $\pi r^2 = 3.14 \times (0.08 \text{ mm})^2 = 0.02 \text{ sq.mm.}$
- Area of the smear one sq.cm. = 100 sq.mm. Then, the number of microscopic fields = 5,000.
- Number of cells 1 sq.cm. (or per 0.01 mL microbial cell suspension) = Average number of microbes per microscopic field x 5,000

**Document 13 : Logigrammes de traitement des résultats.**

**Contrôle d'acceptabilité à partir de 2 ou 3 résultats**



**Validation d'un contrôle par calcul de l'écart normalisé (EN)**

$$EN = \frac{|x - a|}{\sqrt{u_c^2(a) + s_R^2}}$$

Où :

- "a" est la valeur de référence acceptée de l'échantillon de contrôle.
- "u<sub>c</sub>(a)" est l'incertitude type composée affectée à l'échantillon "a"
- "s<sub>R</sub>" est l'écart type de reproductibilité pour le mesurage de "a"
- "x" est la mesure de "a" par le laboratoire.

Si  $EN < 2$ , le biais n'est pas significatif et l'on pourra valider le résultat obtenu.

# ANNEXE 1

## Contenu du dossier numérique

---

### DOCUMENTS RESSOURCES

---

- fiche technique dosage D-Fructose D-Glucose (K-FRUGL FR.pdf)
- fiche technique dosage éthanol (K ETOH.pdf)

---

### LOGICIELS

---

- Regressi + Fichier nommé « Initiation à Regressi.pdf »
- LibreOffice
  - LibreOfficeCalcPortable
  - LibreOfficeDrawPortable
  - LibreOfficeImpressPortable
  - LibreOfficeWriterPortable

---

### PREVENTION DES RISQUES

---

- Site\_3RB

---

### REFERENTIELS ET PROGRAMMES

---

- Programme\_1ereSTL\_btk\_biotechnologies
- Programme\_1ereSTL\_btk\_chimie\_bioch\_sc\_vivant
- Programme\_1ereSTL\_btk\_mesures\_instrumentation
  
- Programme\_Tle\_STL\_btk\_biotechnologies
- Programme\_Tle\_STL\_btk\_chimie\_bioch\_sc\_vivant
  
- Programme\_Cycle\_terminal\_langue\_vivante techno
  
- Referentiel\_BTS\_Analyses\_biologie\_medicale
- Referentiel\_BTS\_bioanalyses\_et\_controls
- Referentiel\_BTS\_biotechnologies

## ANNEXE 2

### Liste des ouvrages scientifiques et technologiques disponibles

Précis de biochimie. Harper
Dictionnaire des techniques de microbiologie. CRDP
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. DUNOD
Microbiologie. PRESCOTT

## Rapport de l'épreuve d'étude scientifique et technologique

Rapport établi par : M. BLANCHET, Mme BONNEFOY, Mme CHEVALIER, M. CHILLET, M. CNOKAERT, M. DESFARGES, M. DOUCET, Mme FALLER, M. FRAPERIE, Mme GAY, M. LESTRA, Mme MONTIXI, , M. TRUCCHI.

### Résultats :

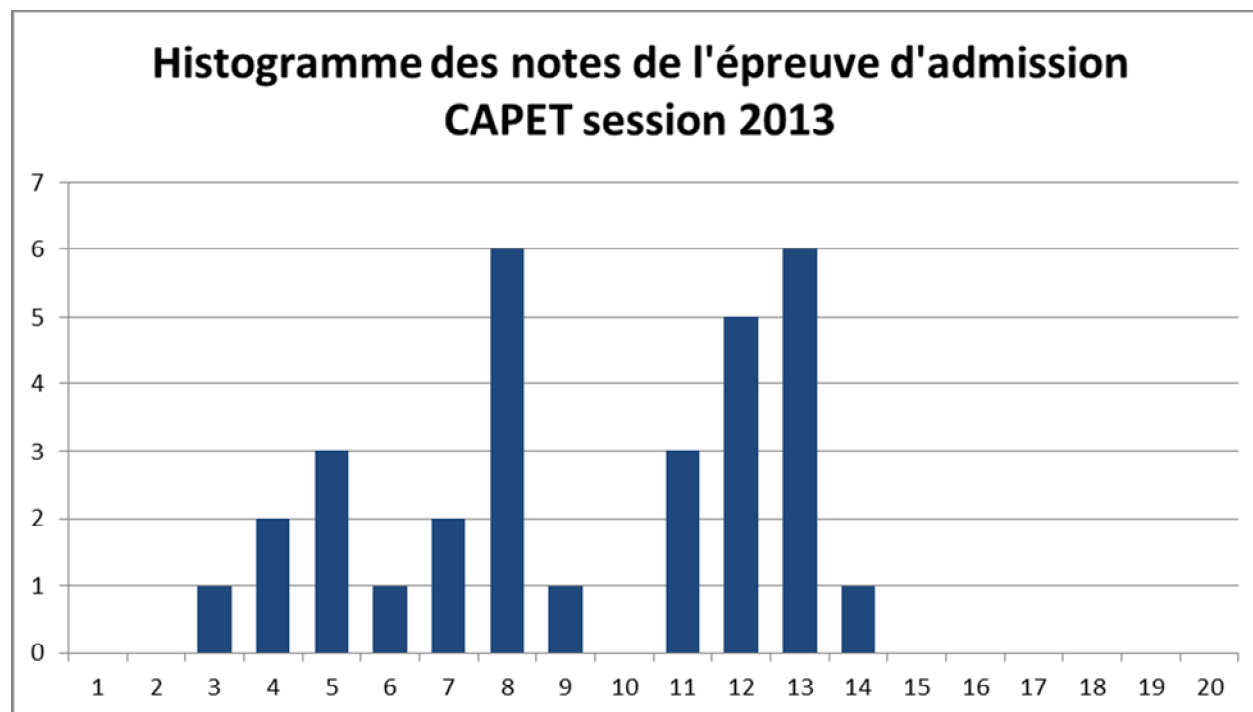
#### CAPET interne

Moyenne générale : 8,91

Répartition des notes :

<1..... 0	≥ 6 et < 7 ..... 3	≥ 12 et < 13 ..... 0
≥ 1 et < 2..... 0	≥ 7 et < 8 ..... 1	≥ 13 et < 14 ..... 0
≥ 2 et < 3 ..... 1	≥ 8 et < 9 ..... 1	≥ 14 et < 15 ..... 1
≥ 3 et < 4 ..... 0	≥ 9 et < 10 ..... 2	≥ 15 et < 16 ..... 0
≥ 4 et < 5 ..... 0	≥ 10 et < 11 ..... 2	≥ 16 et < 17 ..... 1
≥ 5 et < 6 ..... 1	≥ 11 et < 12 ..... 1	≥ 17 et < 18 ..... 0

HISTOGRAMME :



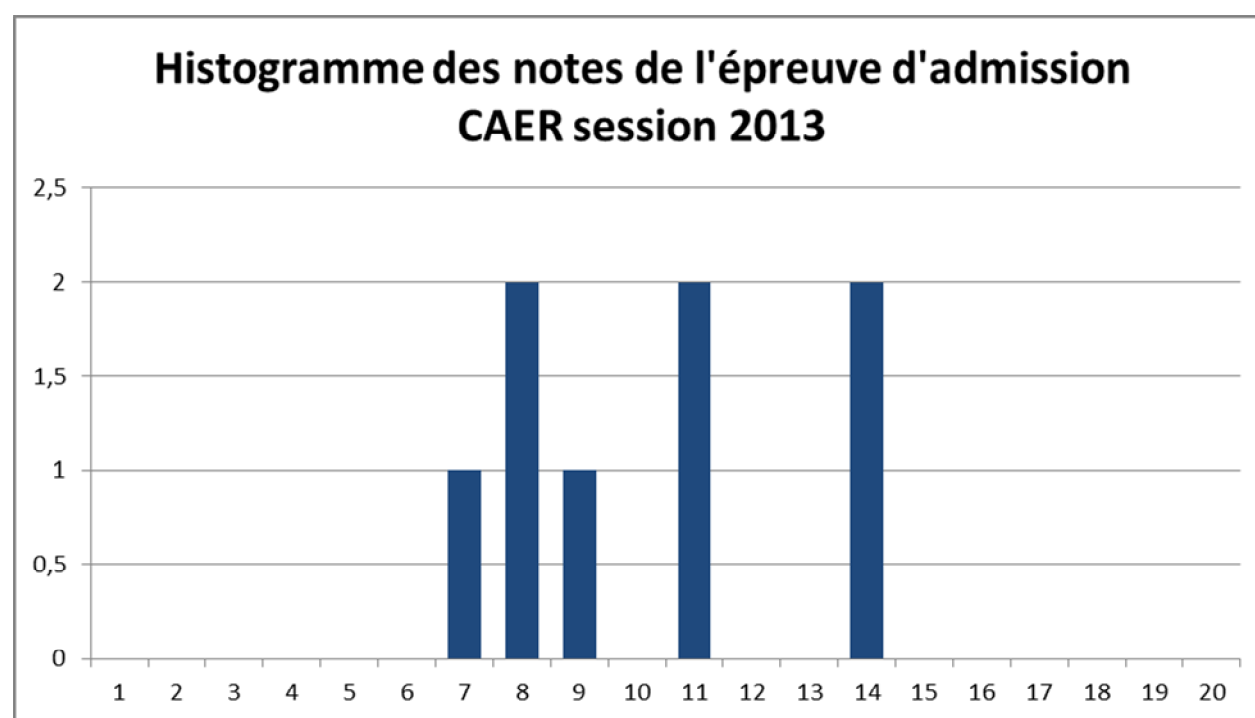
## CAER

Moyenne générale : 9,75

Répartition des notes :

<1.....	0	≥ 6 et < 7 .....	1	≥ 12 et < 13 .....	0
≥ 1 et < 2.....	0	≥ 7 et < 8 .....	2	≥ 13 et < 14 .....	2
≥ 2 et < 3 .....	0	≥ 8 et < 9 .....	1	≥ 14 et < 15 .....	0
≥ 3 et < 4 .....	0	≥ 9 et < 10 .....	0	≥ 15 et < 16 .....	0
≥ 4 et < 5 .....	0	≥ 10 et < 11 .....	2	≥ 16 et < 17 .....	0
≥ 5 et < 6 .....	0	≥ 11 et < 12 .....	0	≥ 17 et < 18 .....	0

### HISTOGRAMME



### Commentaires :

Compte tenu du faible effectif des candidats admissibles, directement lié au nombre de postes offerts ou contrats ouverts, l'analyse des statistiques ci-dessus n'offre d' autre intérêt qu'informatif. A l'issue de cette troisième session du CAPET, le jury estime utile de rappeler, et peut-être de compléter, les conseils et indications apportés par les précédents rapports.

### Les objectifs restent inchangés :

Comme le précisent les textes, « l'épreuve a pour but d'évaluer l'aptitude du candidat à concevoir et organiser une séquence de formation pour un objectif pédagogique imposé et un niveau de classe donné ». L'épreuve vise donc à **évaluer la capacité de futurs professeurs à bâtir des enseignements technologiques** adaptés à un niveau donné. L'exposé des candidats devant le jury permet de mettre en évidence l'ensemble de leurs compétences didactiques, pédagogiques, scientifiques et technologiques.



L'essentiel de l'évaluation porte sur l'exposé qui s'appuie sur la présentation et l'exploitation des activités technologiques au laboratoire de biotechnologies. Elle intègre cependant également une évaluation de la partie expérimentale effectuée au laboratoire

### **Explicitation des attentes du jury :**

*« L'épreuve 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. »*

**L'épreuve vise à construire une séquence pédagogique** sur le thème et au niveau d'enseignement définis par le sujet, conformément au référentiel et/ou programme, puis à exposer l'organisation et les contenus précis d'une des séances constitutives de cette séquence.

Le jury tient à préciser que la séquence pédagogique représente un ensemble continu ou discontinu de séances articulées entre elles dans le temps, exploitant une progression visant au développement de compétences (incluant des attitudes) et de savoirs savants. Cette construction s'appuie naturellement sur des activités technologiques conduites au laboratoire. Le choix des manipulations effectuées par le candidat est principalement conditionné par le contenu de la séance présentée lors de l'exposé oral puisque ces activités technologiques en constituent le cœur.

**Au cours de la partie expérimentale de 4 heures, le candidat vise deux objectifs :**

- opérer un choix pertinent de gestes techniques, support de la démonstration effectuée devant le jury pour mettre en évidence ses compétences techniques d'une part, ses qualités pédagogiques dans la présentation de la manipulation (principe, gestes, points critiques, conditions expérimentales....) d'autre part ;
- réaliser les manipulations choisies pour obtenir des résultats qui seront exploités lors de l'exposé afin de faciliter la mise en évidence de ses propres compétences technologiques : prise en compte de l'environnement spécifique du laboratoire, comportement du manipulateur, maîtrise de la gestuelle et, en particulier, repérage des points critiques associés.

L'heure de **préparation** doit permettre aux candidats de finaliser l'exposé oral. Comme lors de la précédente session, quelques ouvrages, dont la liste est fournie en annexe du sujet, étaient mis à leur disposition en salle de préparation afin d'étayer leur présentation.

Le jury attend des candidats un **exposé** structuré (introduction, conclusion...) comprenant la présentation et le positionnement de la **séquence** dans le cycle de formation, la place de la **séance** au sein de la séquence, les objectifs pédagogiques explicites, le contenu définissant prérequis, activités technologiques et résultats expérimentaux, les supports à destination des élèves, enfin les modalités d'évaluations envisagées.

Conformément à la note figurant au bas de la définition de l'épreuve de RAEP du concours, les membres du jury réservent dix minutes de l'épreuve d'admission, pour un **échange sur le dossier de reconnaissance des acquis de l'expérience professionnelle présenté par le candidat**.

### **Ressources :**

Tout au long de l'épreuve, les candidats disposent d'un dossier numérique sous la forme d'une clé USB personnelle. Le contenu initial de cette ressource, identique pour tous les candidats, est fourni en annexe du sujet. Les candidats sont invités à utiliser ce support pour préparer la partie orale de l'épreuve, un ordinateur personnel étant fourni à chaque stade de l'épreuve : au laboratoire de travaux pratiques, dans la salle de préparation et dans la salle d'exposé.

Au laboratoire, chaque candidat dispose des échantillons et matériels nécessaires pour réaliser la (ou les) manipulation(s) choisie(s) parmi celles proposées dans le sujet.

Le sujet apporte sous forme papier, les ressources documentaires nécessaires à la partie pratique : protocoles, fiches techniques, référentiels, normes.

## Commentaires sur l'épreuve :

Compte tenu de l'augmentation de nombre de candidats admissibles, deux journées d'épreuve, et donc deux sujets, ont été nécessaires lors de cette session.

Pour traiter équitablement les candidats, le niveau de la leçon est commun :

« Concevoir et organiser une séquence de formation destinée à une classe de terminale Sciences et Technologies de Laboratoire Spécialité Biotechnologies. Présenter une séance détaillée choisie au sein de cette séquence. »

Les thématiques de projet sont différentes :

Domaine des biotechnologies appliquées aux bio-industries : secteur agro-alimentaire.

Premier sujet :

« **Contrôle de production industrielle d'un jus de fruits et d'un cidre** »

Second sujet :

« **Le vin : AOC et contrôle de qualité** »

Comme lors de la précédente session, et bien que le faible nombre de candidats ne permette pas d'exploitation statistique cohérente, les histogrammes présentent un aspect bimodal assez significatif.

Le jury s'est en effet attaché à évaluer non seulement la compétence didactique des candidats, mais également les connaissances scientifiques et technologiques relatives aux contenus proposés pour la séance, nécessaires requis pour pouvoir enseigner la biochimie, la biologie et les biotechnologies au laboratoire.

Comme cela a été mentionné dans les commentaires de l'épreuve d'admissibilité, de manière surprenante, certains candidats ne maîtrisent pas les compétences technologiques fondamentales, voire les savoirs associés, à un niveau suffisant. Quand elles sont avérées, ces importantes lacunes ne permettent pas de satisfaire à l'objectif de l'épreuve, les contenus de la séance devant nécessairement s'appuyer sur un fond scientifique et technologique solide.

Le jury a valorisé les candidats s'attachant à manier correctement la langue française. Quelle que soit la discipline enseignée, le métier de professeur demande en effet un langage rigoureux et précis. Les élèves ou étudiants ont besoin de pouvoir se référer au discours exemplaire de leur maître. Une large culture scientifique rigoureuse et structurée doit permettre aux candidats, futurs professeurs, de faire face aux questions de base posées par leurs élèves ou étudiants.

Les meilleurs candidats ont su valoriser leur savoir-faire technologique et pédagogique par :

- une démonstration commentée faite devant le jury au laboratoire, l'identification des points critiques et l'obtention de résultats exploitables ;
- une présentation logique et convaincante du déroulement de la séance présentée, tenant compte du référentiel, des manipulations réalisées et des résultats expérimentaux exploités.

Le plus souvent, les qualités et compétences révélées au moment de la démonstration préfiguraient celles de l'exposé.

Notons enfin qu'il était nécessaire, compte tenu de l'exhaustivité des manipulations proposées, d'opérer des choix dans les activités technologiques à mener. Les candidats qui se sont attachés à réaliser, sans discernement, toutes les manipulations proposées, se sont mis en difficulté pour préparer de manière optimale l'exposé final.

Les meilleurs candidats ont parfaitement saisi l'esprit de l'épreuve, quatre d'entre eux ayant obtenu une note supérieure à 13 sur 20.

En outre, le jury a pu apprécier les qualités d'écoute des meilleurs candidats et leur aptitude à s'interroger sur les différents aspects de leur présentation. L'analyse des questions du jury et le questionnement en temps réel ont permis de mettre en évidence les capacités d'analyse réflexive indispensables au métier d'enseignant.

Pour conclure, le jury invite les futurs candidats à relire la définition de l'épreuve et les consignes publiées sur le site Eduscol pour se placer dans les meilleures conditions de réussite. Selon leur situation personnelle, il leur appartient de compléter les acquis de l'expérience par un renforcement à la fois des compétences scientifiques et technologiques indispensables, mais aussi didactiques et pédagogiques des niveaux concernés.

## Conclusion générale du Président du jury

Les précédentes sessions de ce concours ont vu évoluer progressivement l'épreuve d'admission, puis d'admissibilité. L'arrêté du 19 avril 2013 fixant les modalités d'organisation des concours du certificat d'aptitude au professorat de l'enseignement technique à compter de la session 2014 n'apporte que des modifications mineures aux épreuves, soulignées dans les extraits de cet arrêté fournis en annexe du présent rapport.

La session 2013 du CAPET interne et du CAER, de Biotechnologies : Option Biochimie Génie Biologique, a été marquée par une augmentation du nombre de postes ouverts pour le CAPET (de 3 à 5 postes) ou de contrats offerts pour le CAER (de 5 à 6 contrats).

Le nombre d'inscrits est plus difficile à interpréter. En augmentation concernant le CAER, il a diminué de 10% pour le CAPET interne. Dans le même temps, en valeur absolue, le nombre de dossiers RAEP présentés a diminué pour le CAPET, 30 en 2013 contre 42 en 2012, et a augmenté pour le CAER, 17 en 2013 contre 9 en 2012. Faut-il y voir un choix tardif de candidats en attente des informations concernant le recrutement de professeurs par diverses voies ?

Quoi qu'il en soit, 9 candidats ont été déclarés admis (5 pour le CAPET, 4 pour le CAER) contre 5 lors de la dernière session (respectivement 3 et 2).

Le taux d'attractivité, mesuré par le rapport entre le nombre de candidats présents aux épreuves d'admissibilité et le nombre de postes ouverts ou de contrats offerts, est passé pour le CAPET interne de 14 à 6, avec un taux de pression en baisse qui reste toutefois convenable-; celui-ci reste relativement stable pour le CAER, 2,83 contre 2,50, ce qui paraît toujours un peu faible. Le fait que seuls quatre candidats aient été admis au CAER alors que 6 contrats étaient offerts doit être mis en relation avec ces chiffres. Notons enfin que la note du dernier admis aux deux concours confondus est de 10,90, attestant d'un niveau de recrutement convenable.

A l'heure où l'institution s'interroge sur le besoin de recrutement d'enseignants qualifiés, une réflexion sur cette diminution persistante des taux de pression sur les concours de recrutement mériterait d'être conduite. Concernant des concours internes, le déficit de vocations pour le métier ne peut naturellement constituer la seule cause de cette désaffection. Il faut donc en chercher ailleurs l'origine. Il semble que la nouvelle forme d'épreuve d'admissibilité instituée il y a deux ans n'ait pas provoqué un grand engouement chez des candidats qui peinent à s'en emparer. On doit peut-être s'interroger sur l'adaptation de cette forme d'épreuve d'admissibilité, généralisée à de nombreux concours de recrutement dans la fonction publique, à un concours de recrutement de professeurs.

Après la mise en œuvre de cette nouvelle forme d'épreuve qui faisait apparaître plusieurs difficultés d'ordre et d'importance variés, la DGRH a provoqué une réunion des présidents de concours internes qui a permis l'échange d'expériences et l'évolution de la grille d'évaluation utilisée par les jurys afin de mieux rendre compte des compétences réellement détenues par les candidats.

La situation a évolué de manière positive, certains points peinent cependant à trouver des réponses.

Le document de 6 pages constituant la seconde partie des dossiers de RAEP reste purement déclaratif sans que les éléments disponibles permettent au jury d'en évaluer le caractère personnel, ni même la sincérité, seulement attestée par la validation du chef d'établissement.

Par ailleurs, l'analyse des dossiers qui porte presque exclusivement sur les compétences professionnelles ne prend en compte ni le niveau de maîtrise, ni l'adéquation et l'actualisation des connaissances définies dans le programme du concours. Comme le jury l'a constaté, plusieurs candidats ont présenté le même dossier dans des disciplines de concours voisines, s'exonérant ainsi de cette exigence. Les écarts entre les attentes du concours et la valeur scientifique réelle des candidats se sont à nouveau cruellement révélés lors des épreuves d'admission. Comme le soulignent les commentaires sur l'épreuve d'admission, cette année encore, certains candidats ont présenté des lacunes scientifiques et technologiques importantes qui ne leur ont pas permis de satisfaire aux attentes minimales. Le jury constate *a contrario* une amélioration nette des performances des meilleurs candidats.

Comme l'an dernier, on peut souligner que cette épreuve a, de fait, écarté du bénéfice de ces concours des personnels tels que les techniciens de laboratoire qui peuvent pourtant réglementairement y prétendre ce qui peut interroger en termes de promotion sociale. L'accompagnement organisé en cours d'année, dans certaines académies, pour soutenir ces candidatures à travers l'organisation de stages encadrés par des professeurs chevronnés n'a pas permis à ces personnels de réussir cette épreuve d'admissibilité, la constitution même du dossier de RAEP s'avérant particulièrement problématique dans leur cas. Les formes anciennes des concours avaient pourtant permis le succès de plusieurs de ces candidats qui se sont par la suite révélés comme des enseignants efficaces et performants.

L'exercice du métier de professeur dans la voie technologique intègre à la fois l'excellence disciplinaire dans les multiples domaines scientifiques qui font la richesse des biotechnologies et la maîtrise des technologies mises en œuvre dans ce secteur essentiel d'activité.

Les lauréats de la session 2013 du CAPET interne / CAER Biotechnologies Option Biochimie Génie Biologique ont répondu de manière convaincante à cette double exigence et ont ainsi amplement mérité d'être reconnus dans leur métier d'enseignant.

**Arrêté du 19 avril 2013 fixant les modalités d'organisation des concours du certificat d'aptitude au professorat de l'enseignement technique**

NOR: MENH1310121A

Publication : JORF n°0099 du 27 avril 2013

**Extraits de l'arrêté**

**ANNEXE II : ÉPREUVES DU CONCOURS INTERNE**

Section biotechnologies

**A. — Epreuve d'admissibilité**

Epreuve de reconnaissance des acquis de l'expérience professionnelle définie à l'annexe III (coefficient 1).

**B. — Epreuve pratique d'admission**

Leçon portant sur les programmes des lycées et des classes postbaccalauréat.

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 postbaccalauréat 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 à justifier les choix de nature didactique et pédagogique qu'il a opérés dans la construction de la séquence de formation présentée.

Durée : travaux pratiques : quatre heures ; préparation de l'exposé : une heure ; exposé : trente minutes ; entretien : trente minutes ; coefficient 2.

Lors de l'entretien, dix minutes maximum pourront être réservées à un échange sur le dossier de reconnaissance des acquis de l'expérience professionnelle établi pour l'épreuve d'admissibilité, qui reste, à cet effet, à la disposition du jury.

### ANNEXE III : ÉPREUVE DE RECONNAISSANCE DES ACQUIS DE L'EXPÉRIENCE PROFESSIONNELLE (RAEP) DU CONCOURS INTERNE

Le dossier de reconnaissance des acquis de l'expérience professionnelle comporte deux parties. Dans une première partie (deux pages dactylographiées maximum), le candidat décrit les responsabilités qui lui ont été confiées durant les différentes étapes de son parcours professionnel, dans le domaine de l'enseignement, en formation initiale (collège, lycée, apprentissage) ou, le cas échéant, en formation continue des adultes.

Dans une seconde partie (six pages dactylographiées maximum), le candidat développe plus particulièrement, à partir d'une analyse précise et parmi ses réalisations pédagogiques dans la discipline concernée par le concours, celle qui lui paraît la plus significative, relative à une situation d'apprentissage et à la conduite d'une classe qu'il a eue en responsabilité, étendue, le cas échéant, à la prise en compte de la diversité des élèves ainsi qu'à l'exercice de la responsabilité éducative et à l'éthique professionnelle. Cette analyse devra mettre en évidence les apprentissages, les objectifs, les progressions ainsi que les résultats de la réalisation que le candidat aura choisie de présenter. Le candidat indique et commente les choix didactiques et pédagogiques qu'il a effectués, relatifs à la conception et à la mise en œuvre d'une ou de plusieurs séquences d'enseignement, au niveau de classe donné, dans le cadre des programmes et référentiels nationaux, à la transmission des connaissances, aux compétences visées et aux savoir-faire prévus par ces programmes et référentiels, à la conception et à la mise en œuvre des modalités d'évaluation, en liaison, le cas échéant, avec d'autres enseignants ou avec des partenaires professionnels. Peuvent également être abordées par le candidat les problématiques rencontrées dans le cadre de son action, celles liées aux conditions du suivi individuel des élèves et à l'aide au travail personnel, à l'utilisation des technologies de l'information et de la communication au service des apprentissages ainsi que sa contribution au processus d'orientation et d'insertion des jeunes.

Chacune des parties devra être dactylographiée en Arial 11, interligne simple, sur papier de format 21 × 29,7 cm et être ainsi présentée :

- dimension des marges :
- droite et gauche : 2,5 cm ;
- à partir du bord (en-tête et pied de page) : 1,25 cm ;
- sans retrait en début de paragraphe.

A son dossier, le candidat joint, sur support papier, un ou deux exemples de documents ou de travaux réalisés dans le cadre de la situation décrite et qu'il juge utile de porter à la connaissance du jury. Ces documents doivent comporter un nombre de pages raisonnables, qui ne sauraient excéder dix pages pour l'ensemble des deux exemples. Le jury se réserve le droit de ne pas prendre en considération les documents d'un volume supérieur.

L'authenticité des éléments dont il est fait état dans la seconde partie du dossier doit être attestée par le chef d'établissement auprès duquel le candidat exerce ou a exercé les fonctions décrites.

Les critères d'appréciation du jury porteront sur :

- la pertinence du choix de l'activité décrite ;
- la maîtrise des enjeux scientifiques et techniques, didactiques et pédagogiques de l'activité décrite ;
- la structuration du propos ;
- la prise de recul dans l'analyse de la situation exposée ;
- la justification argumentée des choix pédagogiques opérés ;
- la qualité de l'expression et la maîtrise de l'orthographe et de la syntaxe.

Coefficient 1.

Nota. — Pendant l'épreuve d'admission, dix minutes maximum pourront être réservées, lors de l'entretien, à un échange sur le dossier de RAEP, qui reste, à cet effet, à la disposition du jury.

Remarque : Les modifications apportées par le présent arrêté au texte de l'arrêté du 27 avril 2011 apparaissent soulignées dans l'extrait ci-dessus.