SESSION 2020
Métropole

BACCALAURÉAT PROFESSIONNEL
E5 TECHNIQUES PROFESSIONNELLES

Option : Laboratoire contrôle qualité

Durée : 180 minutes

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

Le sujet comporte 12 pages

L'annexe A est à rendre avec la copie après avoir été numérotée

---

SUJET

Les documents et le contexte ont été modifiés pour les besoins de l'épreuve

LE MIEL

Le miel est connu pour ses vertus antiseptiques et de renforcement des défenses de l'organisme.
Une entreprise située dans le sud de la France est spécialisée dans la fabrication de compléments alimentaires à base de produits naturels. Elle souhaite élaborer un nouveau sirop à base de miel.
Souhaitant utiliser un miel d'origine locale, l'entreprise désire vérifier la qualité, l'origine et les propriétés antibiotiques de ce miel.
Vous êtes technicien(ne) de laboratoire dans cette entreprise et vous êtes chargé(e) de vérifier la conformité des échantillons de miel au regard du cahier des charges.

1 Contexte des analyses (2,5 points)

1.1 Nommer le secteur professionnel auquel appartient l'activité de l'entreprise.

1.2 Citer les contraintes réglementaires européennes auxquelles est soumise cette entreprise.

2 La qualité du miel (6 points)

2.1 Justifier la nécessité de contrôler la teneur en HMF (Hydroxyméthylfurfural) et le taux d'humidité du miel, en vous aidant du **document 1**

Pour mesurer le taux d'humidité dans le miel, vous utilisez un réfractomètre. La valeur de ce taux est fixée par la réglementation à un maximum de 20 %.

2.2 Donner le principe simplifié d'une mesure par réfractométrie.

Le responsable du laboratoire souhaite améliorer la précision de la mesure du taux d'humidité (au mieux 0,2 %). Pour cela, il vous demande d'étudier les différents réfractomètres présentés dans le **document 2.**

2.3 Identifier le réfractomètre qui vous semble le mieux adapté, en justifiant votre choix à l'aide d'au moins 3 critères.

La mesure du taux de HMF est réalisée par HPLC.

2.4 Compléter le schéma d'un instrument de HPLC donné en **annexe A (à rendre avec la copie après avoir été numérotée)** avec les termes indiqués dans le cadre.

La mesure du taux de HMF d'un échantillon de miel par HPLC a donné les résultats présentés dans le **document 3.**

2.5 Expliquer pourquoi le temps de rétention de l'HMF et celui de la substance représentée par le pic 2 sont différents.

3 L'origine du miel (6 points)

Votre entreprise souhaite utiliser un miel originaire du sud de la France. Or, le miel fait partie des produits les plus exposés aux risques de fraudes alimentaires. Il est donc important de pouvoir en garantir la traçabilité. La forme des grains de pollen étant caractéristique de chaque plante (**document 4**), l'analyse des pollens présents dans le miel permet de détecter d'éventuelles fraudes. On retrouve en effet des pollens dans le miel car les abeilles en ramènent avec le nectar lorsqu'elles butinent les fleurs.

3.1 Préciser en quoi l'analyse des différents types de pollens présents dans le miel permet de détecter une éventuelle fraude.

L'analyse des pollens de l'échantillon de miel est réalisée par microscopie électronique. Le protocole de préparation du miel avant observation microscopique est présenté dans le **document 5**.

3.2 Repérer dans ce protocole : un traitement physique, un traitement chimique et un traitement thermique.

3.3 Citer l'objectif final des trois centrifugations réalisées dans le traitement du miel.

3.4 Expliquer l'intérêt du rinçage du culot 3 à l'eau distillée.

Suite au traitement physico-chimique du miel, les pollens sont montés entre lame et lamelle, puis observés au microscope optique. Cette observation comporte deux étapes : la première est une reconnaissance des pollens présents dans la préparation réalisée au grossissement x 1 000, la seconde est leur dénombrement effectué au grossissement x 600.

3.5 Justifier la différence des grossissements utilisés dans les deux étapes de l'observation.

4 Les propriétés antibiotiques du miel *(5,5 points)*

Le miel présente des propriétés antimicrobiennes qui empêchent la croissance de nombreux micro-organismes. Cette activité antimicrobienne peut être caractérisée par une note de 0 à 5 en fonction de la dilution de miel nécessaire pour obtenir l'inhibition de la croissance d'une culture bactérienne de *Bacillus subtilis*. Pour vérifier cette propriété antibiotique, vous réalisez le protocole présenté dans le **document 6**.

4.1 À partir de ce document, justifier la nécessité de l'étape de l'isolement de *Bacillus subtilis*.

4.2 Préciser le rôle de la peptone présente dans le milieu de culture.

4.3 Préciser l'intérêt de maintenir les tubes contenant le milieu de culture entre 45°C et 50°C.

Par ailleurs, vous souhaitez vérifier les propriétés antibiotiques du miel par une autre méthode : réalisation d'un antibiogramme sur gélose.

4.4 Expliquer brièvement le principe général de cette méthode, en vous aidant du **document 7.**

4.5 Proposer une adaptation de cette méthode pour vérifier les propriétés antibiotiques de votre échantillon de miel.

DOCUMENT 1

ITSAP INSTITUT DE L'ABEILLE

L'expertise technique et scientifique au service de l'apiculture

Le miel : un produit encadré par la loi

Le miel est produit par les abeilles et constitue l'alimentation de la colonie, avec le pollen. Pour assurer au consommateur un produit authentique et de qualité, une définition du miel a été formulée par le législateur, qui a également fixé certaines de ses caractéristiques.

À l'échelle internationale, le miel est défini par le *Codex alimentarius*, dont les recommandations ne sont pas contraignantes, mais servent souvent de base aux échanges commerciaux et pour établir les règles nationales. Pour le miel, le « Codex » reprend en partie la réglementation qui s'impose à tous les apiculteurs européens.

À l'échelle européenne, le miel est défini par une directive, c'est-à-dire un texte qui doit être transposé par chaque état membre de l'union européenne dans sa propre législation. Il s'agit de la directive n°2001/110, dite « directive miel ».

Celle-ci est reprise dans son intégralité dans le droit français (décret 2003-587, dit « décret miel »). C'est donc ce texte qui s'applique à tous les apiculteurs français. Voici comment est défini le miel :

« Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excrétions laissées sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. »

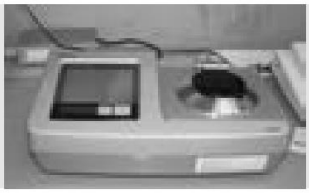
Prenant en compte la diversité des miels, le législateur a fixé certains critères physico-chimiques permettant de s'assurer de leur qualité, et de les différencier. La directive miel définit également des critères de qualité pour les miels destinés à l'industrie, qui seront utilisés par exemple pour la pâtisserie ou les cosmétiques.

DOCUMENT 1 (suite et fin)

Ainsi, la teneur en eau du miel est réglementée, car si celle-ci est trop élevée, elle favorise les risques de fermentation du miel. De même, la teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF) et l'indice diastasique témoignent du vieillissement du miel lié à un stockage prolongé ou un chauffage excessif. La teneur en différents sucres renseigne sur l'origine florale d'un miel (miel de nectar ou miel de miellat) et peut permettre de détecter des pratiques d'adultération. D'autres critères physico-chimiques ont été définis (teneur en matières insolubles dans l'eau, conductivité électrique, acidité, etc.).

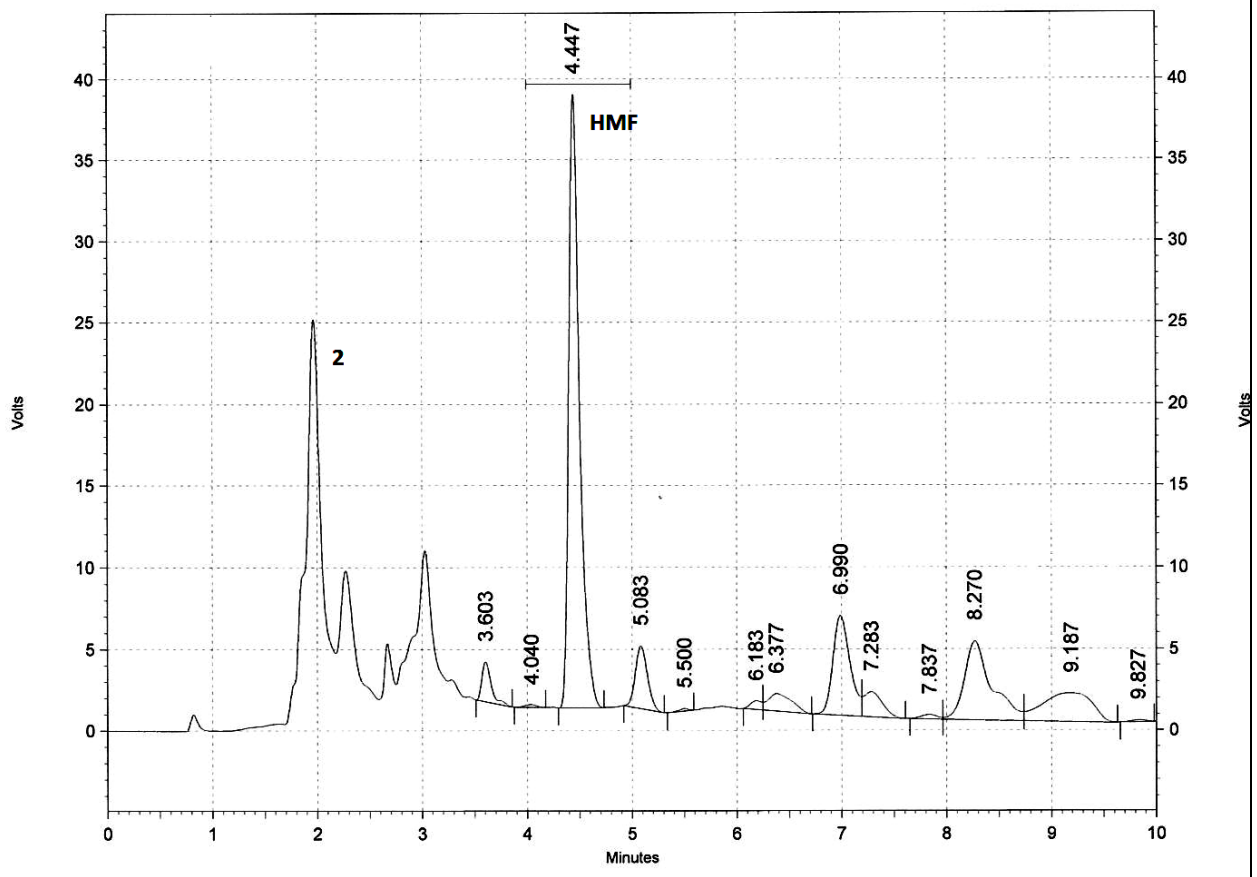
D'après http://itsap.asso.fr/pages_thematiques/produits-de-la-ruche/le-miel-un-produit-encadre-par-la-loi/

DOCUMENT 2

			
Réfractomètre ATAGO Modèle RX 5000	**Réfractomètre portable Modèle RHB-90** (provenance : Internet)	**Réfractomètre portable digital Modèle DRH-300**	**Réfractomètre portable ATAGO Modèle PAL2**
Données constructeur :	***Données constructeur :***	***Données constructeur :***	***Données constructeur :***
Unité : % humidité Graduation : 0,002 % Précision constructeur : 0,01 %	Unité : % humidité Graduation : 1 % Précision constructeur : 1 %	Unité : % humidité Graduation : 0,1 % Précision constructeur : 0,2 %	Unité : % brix Graduation : 0,2 % Précision constructeur : 0,2 %
Prix : > 1.000 €	***Prix :*** 50 - 150 €	***Prix :*** 399 €	***Prix :*** 339 €

Source : • CARI - 1-2008 • n°122 • abeilles & cie

DOCUMENT 3



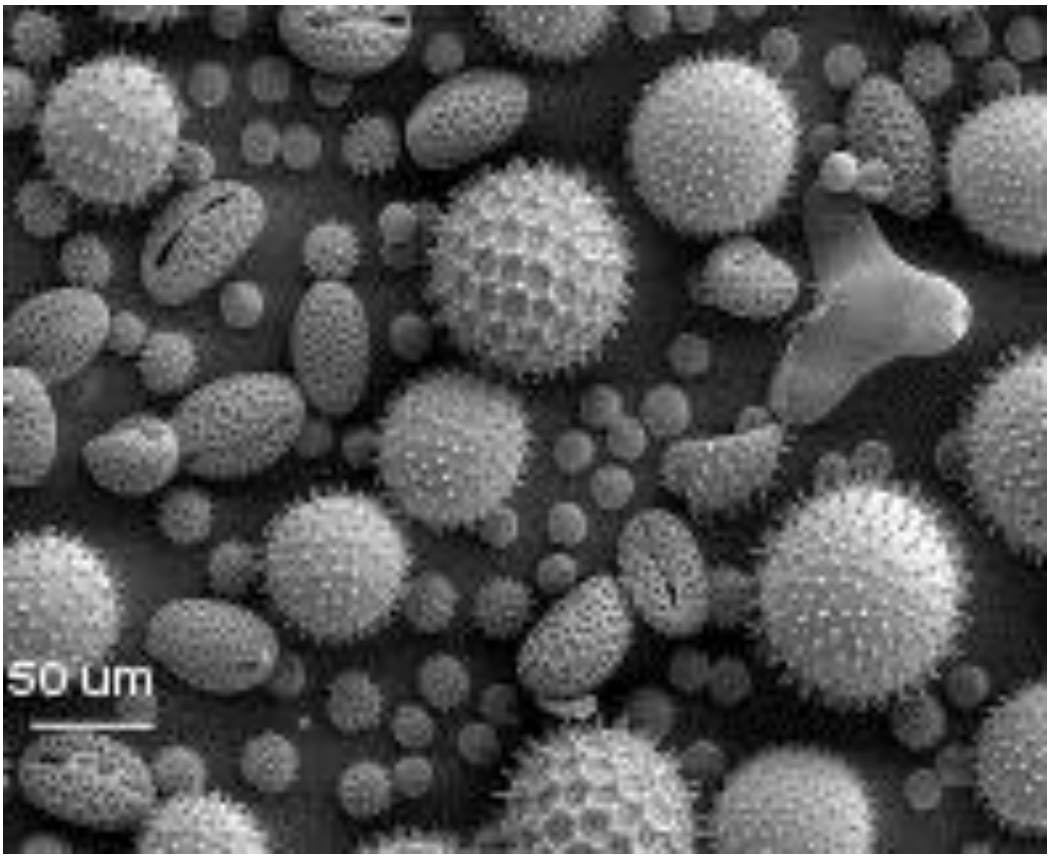
UV-WL1
Results

N° pic	Nom	temps de rétention (min)	Surface	Concentration (mg/kg)
3	HMF	4.45	1073693	17.230

Source : laboratoire d'expertise des miels Port Lesney

DOCUMENT 4

Différents types de grains de pollen

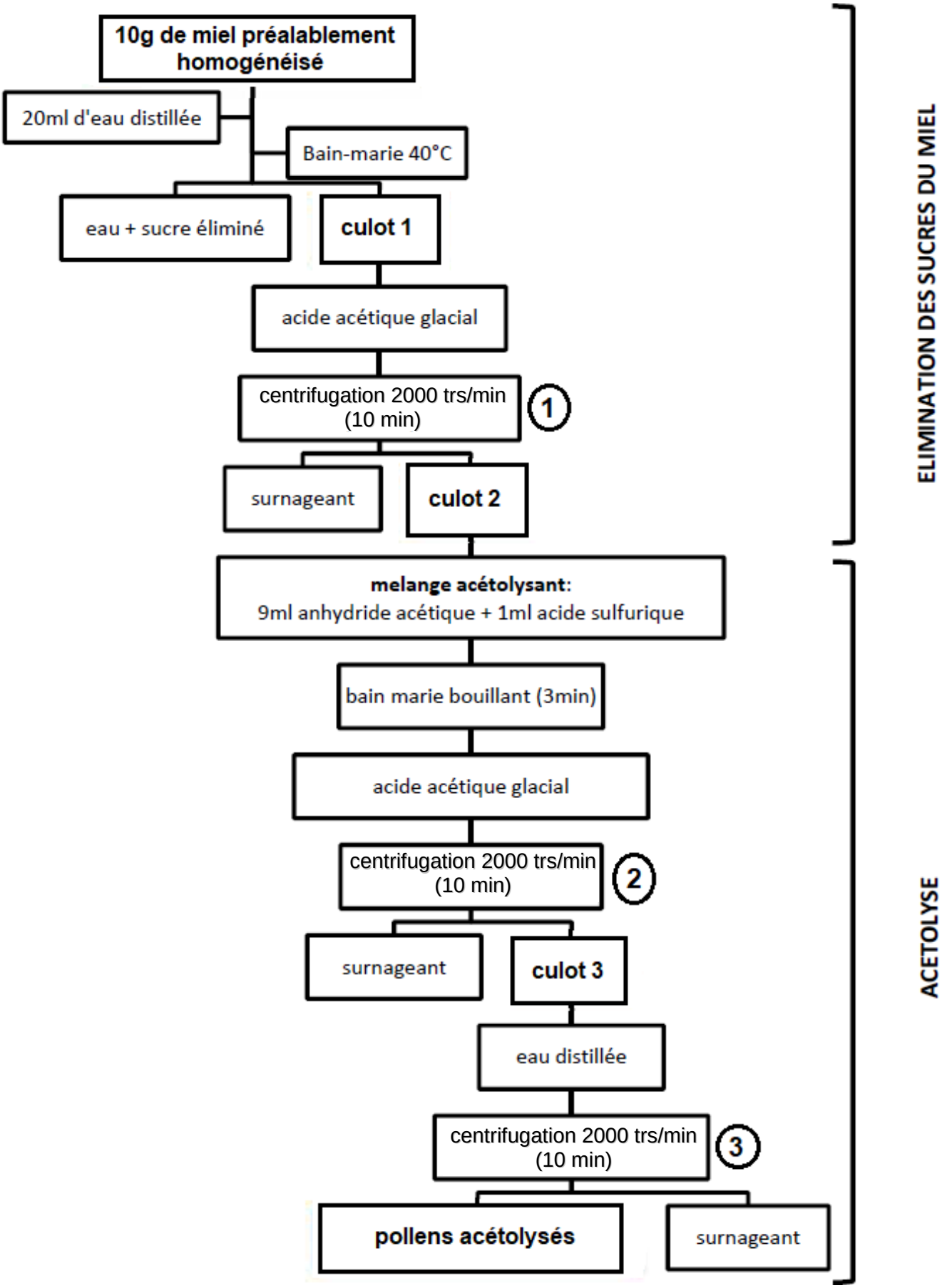


Source : Institut français de l'éducation

L'échelle sur le cliché donne : 50 µm

DOCUMENT 5

Traitement du miel avant observation microscopique



Source : Analyses polliniques des miels de Madagascar T. M. RASOLOARIJAO

DOCUMENT 6

Protocole pour l'évaluation de l'activité antibiotique d'un miel sur *Bacillus subtilis*

1. Matériels et réactifs

- Boîte de Pétri avec gélose nutritive ordinaire pour isolement.
- 6 tubes à essai contenant différents volumes (voir tableau ci-après) d'un milieu de culture de composition :
  - peptone 10 g
  - agar-agar 25 g
  - eau distillée qsp 1 L.
- Un erlenmeyer contenant une solution de miel en eau physiologique (à 50 % masse/volume).
- Culture de *Bacillus subtilis* en suspension en eau physiologique.
- Bain-marie thermostaté à 48°C.
- 6 boîtes de Pétri.
- Pipettes stériles de 10 mL.
- Pipettes Pasteur stériles.

2. Mode opératoire

Parallèlement à la préparation des tubes gélosés, isoler la souche sur une gélose nutritive ordinaire puis incuber 24 h à 37°C.

Maintenir à une température entre 45°C et 50°C les tubes gélosés préalablement régénérés contenant le milieu de culture d'une part, et l'erlenmeyer contenant la solution de miel d'autre part. Compléter les tubes renfermant le milieu de culture avec la solution de miel en respectant les proportions suivantes :

Tube n°	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**témoin**
Milieu de culture (mL)	7,5	9	10,5	12	13,5	13,5
Solution de miel (mL)	7,5	6	4,5	3	1,5	/
Eau physiologique stérile	/	/	/	/	/	1,5
Proportion de miel dans le milieu de culture final (%)	25	20	15	10	5	0

DOCUMENT 6 (suite et fin)

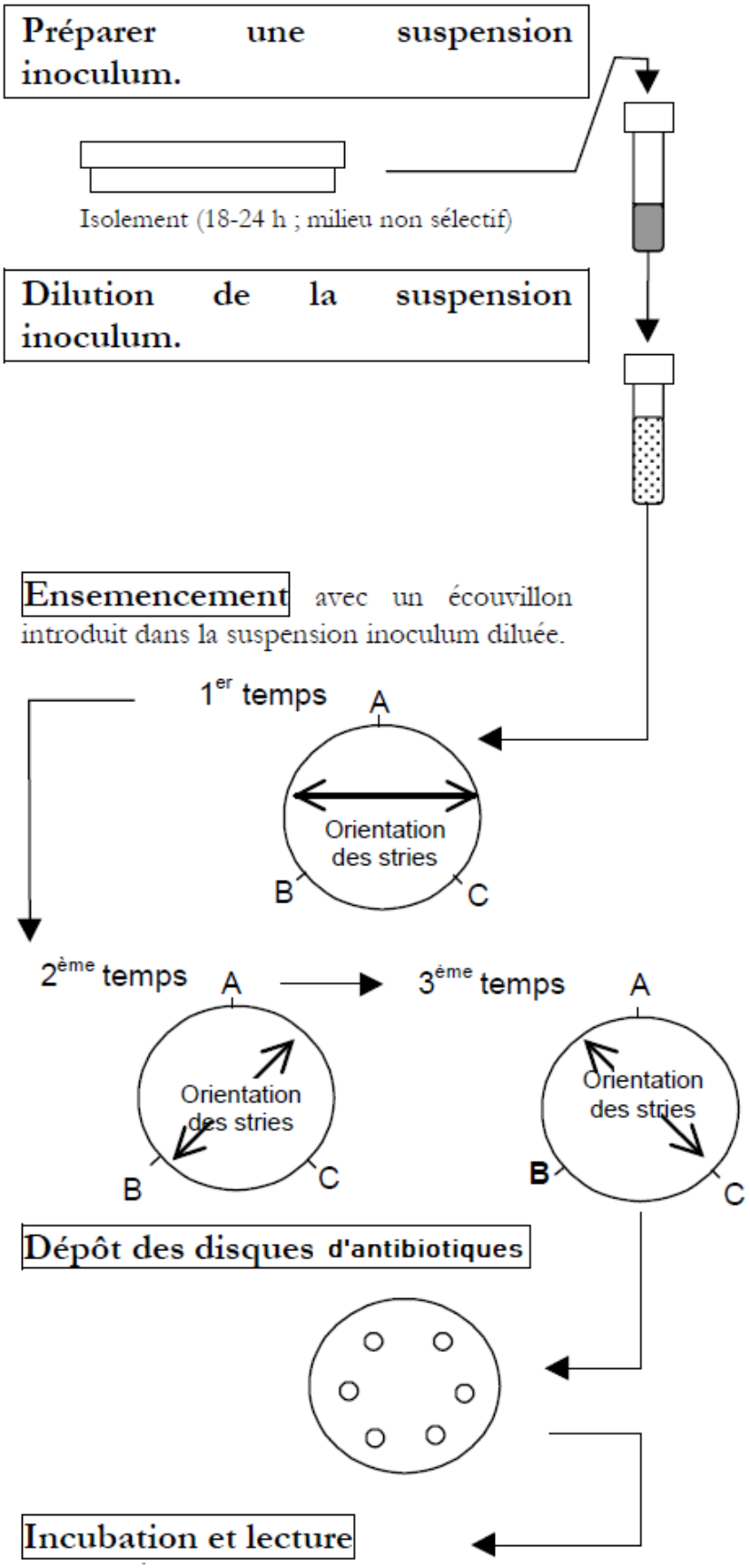
Agiter au vortex et couler chaque mélange dans une boîte de Pétri stérile.
Après refroidissement, étaler à la surface de chaque boîte 4 gouttes de la culture de *Bacillus subtilis*.
Incuber 24h à 35°C.

3. Lecture et interprétation des résultats

La note de 0 est attribuée lorsqu'on n'observe aucune inhibition.
La note de 1 est donnée pour la boîte de Petri pour laquelle on observe un début d'inhibition.
La note de 5 est donnée pour la boîte de Petri pour laquelle l'inhibition est la plus forte.

DOCUMENT 7

Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé



D'après : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie – Janvier 2004 –

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

NOM :

(EN MAJUSCULES)

Prénoms :

Date de naissance :

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

EPREUVE :

Centre d'épreuve :

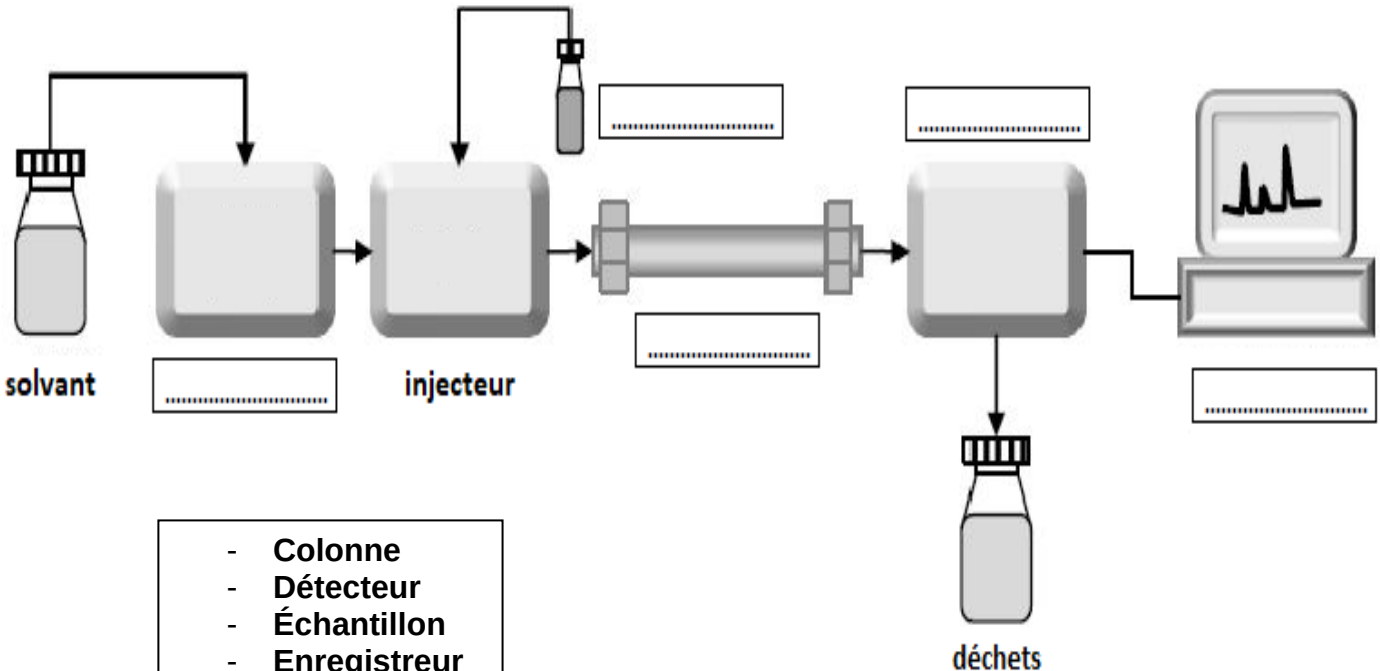
Date :

N° ne rien inscrire

N° ne rien inscrire

ANNEXE A ***(à compléter, numéroter et à rendre avec la copie)***

Schéma d'un instrument de HPLC



- **Colonne**
- **Détecteur**
- **Échantillon**
- **Enregistreur**
- **Pompe**