



Ce document a été mis en ligne par l'organisme [FormaV](#)®

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :

[www.formav.co/explorer](http://www.formav.co/explorer)

## BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR AGRICOLE E5 LABORATOIRE

Option : ANABIOTEC

*Durée : 180 minutes*

---

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

---

Le sujet comporte **16** pages

---

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

---

### SUJET

#### Un kéfir de fruits trop pétillant !

Un artisan brasseur souhaite développer son activité et se diversifier dans une nouvelle gamme de boissons pétillantes rafraîchissantes. Après avoir mises au point différentes variétés de bières « bio », il s'est fixé comme objectif la fabrication d'un kéfir de fruits « bio » également.

Traditionnellement, le kéfir de fruits est une boisson préparée au sein des populations du Caucase, à partir d'eau, de figes séchées, de citron et de grains de kéfir.

Les grains de kéfir (**document 1**) constituent un ensemble gélatineux (exopolysaccharide de kéfiran\*) regroupant une communauté très diverse de micro-organismes (bactéries lactiques et acétiques et levures) vivant en symbiose.

Avec l'apparition et la multiplication des aliments fonctionnels\* « bons pour la santé » riches en probiotiques\*, le kéfir revient en force chez les particuliers. L'artisan brasseur s'y intéresse d'autant que le marché des boissons issues d'un processus de fermentation est en plein essor.

Vous avez été recruté(e) par cet artisan brasseur pour le seconder dans le contrôle de la fabrication de cette nouvelle boisson (**document 2**) et l'aider à la standardiser. En effet, travailler avec des grains de kéfir plutôt qu'avec un cocktail de souches lyophilisées (**document 3**) ne lui permet pas toujours d'obtenir des lots identiques. Le résultat est soit trop acide, soit trop pétillant, soit trop alcoolisé.

Réglementairement, un kéfir de fruits ne doit pas contenir plus de 0,1 à 0,2 % (concentration volumique ou v/V) d'alcool sous forme d'éthanol et technologiquement, son pH ultime doit être inférieur ou égal à 4, avec une consommation presque totale des sucres introduits (**document 4**).

Le brasseur a constaté dernièrement une non-conformité pénalisante pour ses ventes futures puisque plusieurs bouteilles ont éclaté. Un excès de dioxyde de carbone est sans doute l'explication, mais il vous demande de confirmer l'origine du problème. En effet, il soupçonne l'activité d'une levure « sauvage », utilisée précédemment dans un brassin lors de la fabrication d'une bière de saison. Cette levure, *Saccharomyces cerevisiae* variété *diastaticus*, en plus de dégrader les sucres fermentescibles, est capable d'hydrolyser et de transformer les dextrines et autres polymères de glucose.

En tant que technicien(ne) du laboratoire de la brasserie, vous allez être amené(e) à :

- identifier les différents contrôles à effectuer au cours de la fabrication,
- choisir une méthode adaptée pour la quantification de l'éthanol,
- identifier les étapes préalables au dosage des sucres dans le kéfir à l'issue de la première fermentation,
- interpréter les résultats de la recherche de la levure « sauvage »,
- proposer un plan de contrôle de l'environnement de la fabrication,
- récapituler les analyses microbiologiques à effectuer lors d'un contrôle libératoire,
- vérifier que le niveau de remplissage des bouteilles est conforme au volume choisi.

**\*Lexique :**

Kéfiran : exopolysaccharide correspondant à un homopolymère de résidus glucose associés par des liaisons  $\alpha 1 \rightarrow 6$  et  $\alpha 1 \rightarrow 4$  (= dextrine).

Aliment fonctionnel : appelé aussi alicament, un aliment fonctionnel désigne une denrée alimentaire contenant des composants capables d'influencer une grande diversité de fonctions impliquées dans l'état de bien-être et de santé.

Probiotiques : préparations microbiennes vivantes utilisées comme additif alimentaire, ayant une action bénéfique sur la santé de l'hôte en améliorant sa balance microbienne intestinale.

## **Partie 1 : Contrôles en fabrication (10 points)**

- 1.1 Indiquer le secteur professionnel de cette entreprise.
- 1.2 Préciser ses contraintes réglementaires.
- 1.3 Après avoir pris connaissance de l'ensemble des documents, identifier les paramètres susceptibles d'être contrôlés lors de la fabrication.

Le laboratoire dispose de divers appareillages pour la détermination de la teneur en éthanol.

- 1.4 À partir du **document 5**, argumenter celui qui est le plus adapté pour quantifier l'éthanol en cours de fabrication et sur le kéfir conditionné.

Vous devez évaluer la teneur en sucres fermentescibles à l'issue de la première fermentation (environ 15 g/L) par méthode enzymatique.

- 1.5 À partir du **document 6**, récapituler, en les justifiant, les étapes pré-analytiques.

## **Partie 2 : Origine de l'éclatement des bouteilles (5 points)**

Des bouteilles appartenant au même lot que celles ayant explosé ont été analysées par un laboratoire extérieur spécialisé dans la recherche et l'identification de levures par PCR en temps réel.

- 2.1 Conclure sur l'origine de l'éclatement des bouteilles à partir de l'interprétation des résultats présentés dans le **document 7**.

Pour éviter que cet incident ne se renouvelle ultérieurement et pour garantir des conditions d'hygiène appropriées :

- 2.2 Établir un plan de contrôle de l'environnement de fabrication (support de prélèvement, technique, fréquence).
- 2.3 Préciser, à l'aide du **document 8**, les points de prélèvement envisagés.

### **Partie 3 : Conformité avant commercialisation (5 points)**

Il est obligatoire de garantir l'innocuité du kéfir et nécessaire de s'assurer que les probiotiques sont toujours bien présents et vivants dans la bouteille ( $10^9$  lactobacilles,  $10^7$  bactéries acétiques et  $10^7$  levures pour 1 litre de boisson).

**3.1** Récapituler les analyses microbiologiques qui vous semblent pertinentes. Vous pouvez vous appuyer sur le **document 9** notamment.

Par ailleurs, au niveau du conditionnement, la réglementation fixe que toute bouteille de volume nominal de 1000 mL présentant un manquant supérieur à 15 mL est considérée comme défectueuse.

Le système de remplissage est jugé non opérationnel si plus de 4 % des bouteilles de toute la production sont défectueuses.

Le responsable du laboratoire souhaite contrôler le fonctionnement de son système.

Pour cela, il prélève un échantillon de 150 bouteilles à la sortie de la chaîne d'embouteillage et procède par pesée pour contrôler le volume.

Sur cet échantillon de 150 bouteilles, il en dénombre 9 défectueuses.

La taille de la production est supposée suffisamment grande pour que ce prélèvement puisse être assimilé à un échantillon aléatoire simple de taille 150.

**3.2** Déterminer, à l'aide d'un test statistique, au seuil de risque de 5 %, s'il est nécessaire d'effectuer un réglage de la machine (**documents 10 à 12**)

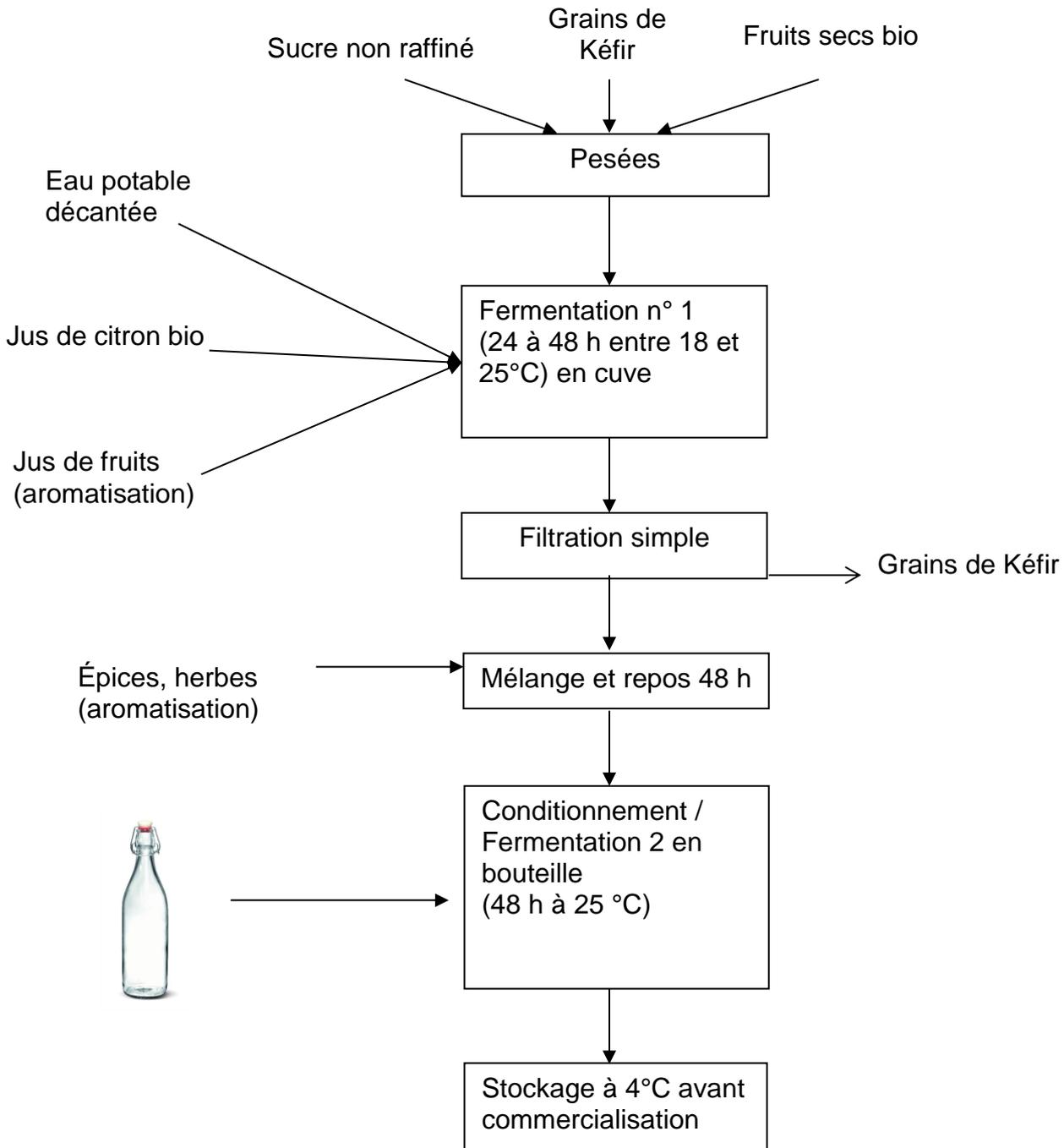
**DOCUMENT 1**

**Aspect des grains de kéfir (<https://natural-probio.com/>)**



## DOCUMENT 2

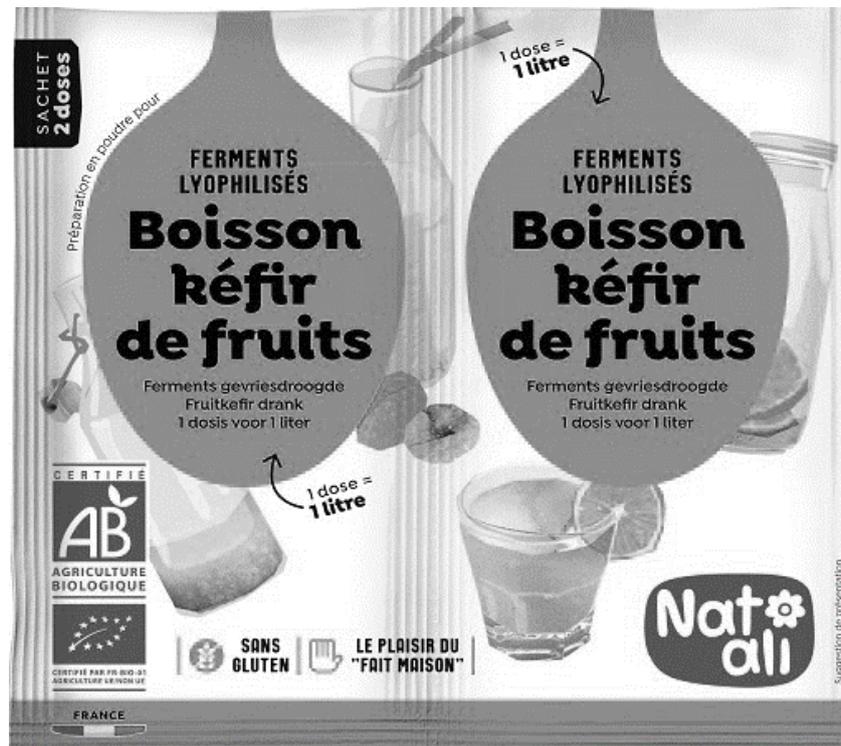
### Diagramme de fabrication du kéfir



### DOCUMENT 3

#### Composition des sachets de ferments pour kéfir de fruits

Sucre roux de canne, kéfir d'eau lyophilisé (sucre de canne, ferments lyophilisés pour kéfir : *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter*).



### DOCUMENT 4

#### Étiquetage et composition d'un kéfir de fruits aromatisé



#### Ingrédients :

Eau filtrée, citron frais\*, grains de kéfir, sucre de canne\* (consommé lors de la fermentation), raisins secs\*, gingembre\* (0,5%), rooibos\* (0,2 %). Le produit peut présenter des traces d'alcool.

\* ingrédients issus de l'agriculture biologique

#### Valeurs nutritionnelles pour 100 mL :

Glucides 3 g, dont sucres 2 g, quantités négligeables de matières grasses, d'acides gras saturés et de protéines.

## DOCUMENT 5

### Les dispositifs disponibles pour la quantification de l'éthanol

Méthodes	Principe	Matériel	Réactifs	Domaine d'application	Volume de prise d'essai
Méthode de référence.	Distillation d'un volume d'échantillon et dosage de l'éthanol sur le distillat par pycnométrie.	Colonne à distiller. Chauffe-ballon. Bain ultrasons (dégazage). Pycnomètre étalonné.	Hydroxyde de calcium. (2 mol.L <sup>-1</sup> )	Possible pour boissons à moins de 1,5 % v/v.	10,0 mL de distillat.
Kit enzymatique.	Mesure spectrophotométrique du NADH formé par les réactions combinées de l'ADH et de l'ALDH.	Spectrophotomètre. Bain ultrasons. Dispositif de filtration.	NaOH (0,1 mol.L <sup>-1</sup> )	De 0 à 8 % v/v.	0,10 mL d'échantillon.
Méthode chromimétrique.	Distillation d'un volume d'échantillon et dosage de l'éthanol par oxydo-réduction.	Sorbonne. Colonne à distiller. Chauffe-ballon.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (33 g.L <sup>-1</sup> )	0,5 % à 1,2 % v/v.	10,0 mL de distillat.
Méthode infrarouge.	Spectroscopie d'absorption moléculaire à des longueurs d'onde spécifiques du groupe-OH.	Spectromètre proche infrarouge.	-	0 à 40 % v/v. (Sous réserve de calibration adéquate)	Quelques mL d'échantillon.
Réfractométrie.	Détermination de l'angle limite de réflexion entre deux milieux. (Pas de sucres présents ni coloration)	Réfractomètre.	Eau distillée.	0 à 80 % v/v. (Avec une précision de 1 %)	Quelques mL d'échantillon.

## DOCUMENT 6

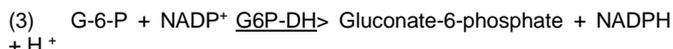
### Extraits de la notice du kit pour le dosage enzymatique du glucose-fructose (R-Biopharm)

#### Principe

Le D-glucose et le D-fructose sont phosphorylés en glucose-6-phosphate (G-6-P) et en fructose-6-phosphate (F-6-P) par l'enzyme hexokinase (HK) et en présence d'adénosine-5'- triphosphate (ATP), avec la formation de d'adénosine-5'- diphosphate (ADP),



En présence de l'enzyme glucose-6-phosphate deshydrogénase (G6P-DH), le G-6-P est oxydé par le nicotinamide-adénine- dinucléotide phosphate (NADP) en gluconate-6-phosphate. Il se forme du nicotinamide-adénine-dinucléotide phosphate réduit (NADPH) (3) :



La quantité de NADPH formée au cours de la réaction est proportionnelle à la quantité de D-glucose. On la mesure par l'augmentation de l'absorption à 334 nm, 340 nm, ou 365 nm.

Lorsque la réaction (3) est terminée, F-6-P est convertie en G-6-P grâce à l'enzyme phospho-glucose-isomérase (PGI) (4).



G-6-P réagit à son tour avec NADP pour former du gluconate-6-phosphate et NADPH. La quantité de NADPH formée au cours de la réaction est proportionnelle à la quantité de D-fructose. Cette augmentation est mesurée par l'absorbance.

#### Composition du coffret

Flacon n°1 contenant env. 5 g de réactif en poudre composée : tampon triéthanolamine à pH 7,6 ; NADP env. 64 mg ; ATP env. 160 mg ; sulfate de magnésium

Flacon n°2 contenant env. 0,7 mL de suspension composée de : hexokinase env. 200 U ; Glucose-6-phosphate déshydrogénase env. 100 U

Flacon n°3 contenant env. 0,7 mL de suspension de phospho- glucose-isomérase, env. 490 U

Flacon n°5 contenant une solution de contrôle (standard) de D-glucose (le contrôle n'est pas nécessaire pour le calcul des résultats). La solution de contrôle ne contient pas de D-fructose à cause de son instabilité en solution aqueuse. Utiliser le contrôle sans le diluer (concentration sur l'étiquette). Péréemption: voir étiquette du coffret.

#### Préparation des solutions

Dissoudre le contenu du flacon 1 avec 27 mL d'eau bi-distillée.

Utiliser le contenu du flacon 2 sans diluer.

Utiliser le contenu du flacon 3 sans diluer.

#### Stabilité des solutions

Le contenu des flacons 1 est stable entre 2 et 8°C (voir péréemption du coffret). Après reconstitution, la solution 1 est stable 4 semaines de +2 à +8°C ou 2 mois de -15 à -25°C. Ramener la solution 1 à 20-25°C avant utilisation.

Le contenu des flacons 2 et 3 est stable entre 2 et 8°C (voir péréemption du coffret).

#### Mode opératoire

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

Cuvette<sup>2</sup> : 1 cm de trajet optique

Température : 20-25°C

Volume final : D-glucose 3,020 mL D-fructose 3,040 mL

Contre l'air (pas de cuvette dans le trajet optique) ou contre l'eau

1,0 – 100 µg de D-glucose et D-fructose par test (dans 0,1 à 2,0 mL de volume échantillon).

Pipeter dans les cuvettes	Blanc réactif	Échantillons
Solution 1	1,000 mL	1,000 mL
Échantillon	----	0,100 mL
Eau bi-distillée	2,000 mL	1,900 mL
Mélanger. Après env. 3 min, lire l'absorbance (A <sub>1</sub> ) des solutions. Déclencher la réaction par addition de :		
Suspension 2	0,020 mL	0,020 mL
Mélanger, attendre la fin de la réaction (env. 10 à 15 min.) et lire l'absorbance (A <sub>2</sub> ) des solutions		
Si la réaction n'est pas terminée après 15 min, continuer à lire les absorbances de 2 min en 2 min jusqu'à ce que l'augmentation d'absorbance soit constante sur 2 min.		
Ajouter ensuite:		
Suspension 3	0,020 mL	0,020 mL
Mélanger, attendre la fin de la réaction (env. 10 à 15 min) et lire l'absorbance (A <sub>3</sub> ) des solutions		

Si l'on observe pour A<sub>2</sub> des augmentations d'absorbance constantes, extrapoler les absorbances au temps de l'addition de la suspension 2 (HK/G6P-DH).

Déterminer les différences d'absorbances (A<sub>2</sub> – A<sub>1</sub>) du blanc et des échantillons. Déduire la différence d'absorbance du blanc de celle des échantillons :

$$\Delta \text{Aglucose} = (A_2 - A_1) \text{Échantillon} - (A_2 - A_1) \text{blanc}$$

Déterminer les différences d'absorbances (A<sub>3</sub> – A<sub>2</sub>) du blanc et des échantillons. Déduire la différence d'absorbance du blanc de celle des échantillons :

$$\Delta \text{Afructose} = (A_3 - A_2) \text{Échantillon} - (A_3 - A_2) \text{blanc}$$

Les différences d'absorbance mesurées doivent être au moins égales à 0,100 pour obtenir des résultats précis

#### 1. Instructions pour la réalisation du test

La quantité de D-glucose + D-fructose dans la cuvette doit être comprise entre 2 µg et 100 µg (mesure à 365 nm) ou 1 µg et 50 µg (mesure à 340 ou 334 nm). Diluer l'échantillon de manière à ce que la concentration en D-glucose + D-fructose se situe respectivement entre 0,15 et 1,0 g/L ou 0,08 et 0,5 g/L.

#### Tableau de dilution

Quantité estimée de D-glucose + D-fructose par litre		Dilution avec de l'eau	Facteur de dilution F
340 ou 334 nm	365 nm		
< 0,5 g/L	< 1,0 g/L	---	1
0,5 – 5,0 g/L	1,0 – 10,0 g/L	1 + 9	10
5,0 – 50 g/L	10,0 – 100 g/L	1 + 99	100
> 50 g/L	> 100 g/L	1 + 999	1000

Si la différence d'absorbance mesurée (Δ A) est trop faible (< 0,100), il est nécessaire de refaire la préparation d'échantillon (augmenter la pesée initiale ou diluer moins), ou d'augmenter le volume d'échantillon dans le test jusqu'à 2,0 mL. Le volume d'eau à rajouter sera alors réduit de manière à obtenir le même volume final dans les cuvettes du blanc et des échantillons. Tenir compte du nouveau volume échantillon (v) pour le calcul.

## DOCUMENT 6 (suite et fin)

### 2. [...]

### 3. Sensibilité et limite de détection

La plus petite différence d'absorbance mesurable est de 0,005 (A). Ceci correspond, pour un volume d'échantillon maximum  $v = 2,000$  mL et une mesure à 340 nm, à une concentration en D-glucose ou D-fructose de 0,2 mg/L (si  $v = 0,100$  mL, ceci correspond à 4 mg/L).

La limite inférieure de détection de 0,4 mg/L en D-glucose ou D-fructose est calculée à partir de  $\Delta A = 0,010$  (mesuré à 340 nm) et d'un volume d'échantillon maximum  $v = 2,000$  mL.

### 4. Linéarité

Le test est linéaire de 1  $\mu\text{g}$  de D-glucose + D-fructose par test (soit 0,4 mg/L pour  $v = 2,000$  mL) jusqu'à 100  $\mu\text{g}$  de D-glucose + D-fructose par test (soit 1 g/L pour  $v = 0,100$  mL).

### 5. Précision

Si l'on teste un échantillon en double, on peut observer une différence de 0,005 à 0,010 (A). Avec un volume  $v = 100$   $\mu\text{L}$  et une mesure à 340 nm, ceci correspond à une concentration en D-glucose ou D-fructose de env. 4 à 8 mg/L. (Si l'échantillon est dilué durant la préparation de l'échantillon, le résultat doit être multiplié par le facteur F. Si l'échantillon est pesé lors de la préparation, par exemple à 1 g / 100 mL = 10 g/L, on peut s'attendre à une différence de 0,04 à 0,08 g / 100 g).

Les données suivantes ont été publiées dans la littérature:

### 6. [...]

### 7. Manipulation des réactifs

Les réactifs utilisés pour la détermination du D-glucose ne sont pas dangereux pour la santé au sens des "Hazardous Substances Regulations", de la directive européenne CE 67/548/EEC, ou de leurs modifications, suppléments ou guides d'applications. Néanmoins, il faut appliquer les précautions habituelles pour la manipulation de substances chimiques.

Après utilisation, les réactifs doivent être éliminés comme déchets de laboratoire en respectant les règlements en vigueur localement. Les emballages peuvent être recyclés.

### 8. Informations générales sur la préparation des échantillons

Utiliser des échantillons clairs, transparents et au pH pratiquement neutre tels quels, ou après une dilution effectuée selon la table de dilution, avec un volume jusqu'à 2,000 mL.

Filtrer ou centrifuger les solutions troubles.

Éliminer le gaz carbonique des échantillons gazeux par agitation ou filtration.

Ajuster les échantillons acides à env. pH 8 avec KOH ou NaOH.

Ajuster les échantillons acides et faiblement colorés à env. pH 8 avec KOH ou NaOH et incubé pendant env. 15 min.

Mesurer les échantillons colorés (ajustés si nécessaire à env. pH 8) contre un blanc échantillon (= tampon ou eau distillée plus l'échantillon), ajuster le photomètre à 0,000 avec le blanc.

Les échantillons très colorés, lorsqu'ils sont testés sans dilution ou avec un volume augmenté, doivent être décolorés avec du PVPP (Polyvinyl Polypyrrolidone) ou avec du polyamide à raison de 1 g / 100 mL.

Broyer et homogénéiser les aliments solides ou pâteux. Après extraction ou dissolution dans l'eau, filtrer si nécessaire ou éliminer la turbidité ou la coloration par une clarification de Carrez.

Déprotéiniser les échantillons contenant des protéines par la clarification de Carrez.

Extraire les échantillons riches en matières grasses avec de l'eau chaude (à une température supérieure au point de fusion des graisses). Refroidir pour obtenir la séparation des graisses, compléter avec de l'eau jusqu'à la marque. Conserver le flacon sur la glace ou au réfrigérateur pendant 15 min, éliminer la phase lipidique et filtrer la phase aqueuse. On peut aussi, après l'extraction, clarifier ces échantillons avec la réaction de Carrez.

### Clarification de Carrez :

Pipeter l'échantillon liquide dans une fiole jaugée de 100 ml contenant environ 60 mL d'eau. Ou, peser une quantité suffisante d'échantillon solide ou pâteux dans une fiole jaugée de 100 mL et ajouter environ 60 ml d'eau. Ensuite, ajouter 5 mL de solution I de Carrez (hexacyanoferrate-II de potassium; 85 mM = 3,60 g  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \times 3\text{H}_2\text{O} / 100$  mL), puis 5 mL de solution II de Carrez (sulfate de zinc heptahydrate; 250 mM = 7,2 g  $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O} / 100$  mL). Mélanger après chaque addition. Ajuster à un pH de 7,5 à 8,5 en ajoutant par exemple 10 mL de NaOH (0,1 M). Compléter jusqu'à la marque, mélanger et filtrer.

### Exemples d'applications :

#### Dosage du D-glucose et D-fructose dans les jus de fruits

Filtrer les jus troubles (ou clarifier selon la méthode de Carrez). Diluer les échantillons de façon à ce que la concentration en saccharose + D-glucose soit d'env. 0,1 à 1,0 g/L. Utiliser la solution diluée (même légèrement colorée) pour le test.

Seuls sont à décolorer les jus fortement teintés qui ne peuvent être dilués en raison de leur faible concentration en saccharose. Dans ce cas on procède de la façon suivante : mélanger 10 ml de jus avec env. 0,1 mL de poudre de polyamide ou de polyvinyl- polypyrrolidone, agiter pendant 1 min et filtrer. Utiliser la solution limpide (même légèrement colorée) pour le test.

#### Dosage D-glucose et D-fructose dans le vin :

Traiter l'échantillon comme décrit dans le paragraphe concernant les jus de fruits. Le vin rouge peut être utilisé directement sans étape de décoloration.

#### Méthode rapide: dosage du D-glucose + D-fructose (sans différenciation) dans les vins blancs > 5 g/L en sucre total

Dissoudre le contenu du flacon 1 avec 80 mL d'eau bi-distillée. Ajouter le contenu des flacons 2 et 3 et mélanger doucement. Cette solution est stable pendant 8 h à 20-25°C et pendant 3 jours à 2-8°C.

Placer 3,000 mL du mélange réactionnel, préalablement porté à 20-25°C dans une cuvette (par exemple avec une pipette multiple) et mesurer l'absorbance A1. Démarrer la réaction en rajoutant 0,100 mL d'échantillon préalablement dilué selon le tableau de dilution. Mélanger, attendre la fin de la réaction (env. 10-15 min) et lire l'absorbance A2. Calculer la différence d'absorbance  $(A2-A1) = \Delta A$ .

Calculer la concentration en D-glucose + D-fructose:

$$c = \Delta A \times 1,596 \times F \text{ (à Hg 365 nm) [g/L échantillon]}$$

$$c = \Delta A \times 0,9037 \times F \text{ (à Hg 334 nm) [g/L échantillon]}$$

$$c = \Delta A \times 0,8865 \times F \text{ (à Hg 340 nm) [g/L échantillon]}$$

#### Dosage D-glucose et D-fructose dans la bière :

Pour éliminer le gaz carbonique, verser 5 à 10 mL de bière dans un bûcher et agiter vigoureusement avec un agitateur en verre durant env. 30 secondes, ou alors filtrer sur papier plissé. Utiliser pour le test l'échantillon de bière pratiquement exempt de  $\text{CO}_2$ , sans le diluer.

## DOCUMENT 7

### Résultats de la recherche d'une levure sauvage, effectuée sur une bouteille du même lot de Kéfir présentant des bouteilles éclatées

GeneDisc : Yeast ID 03\_03

Chargé par : admin admin le 23/03/21 02:25 PM

Attribut GeneDisc 1 :

Attribut GeneDisc 2 :

Echantillon 3 :

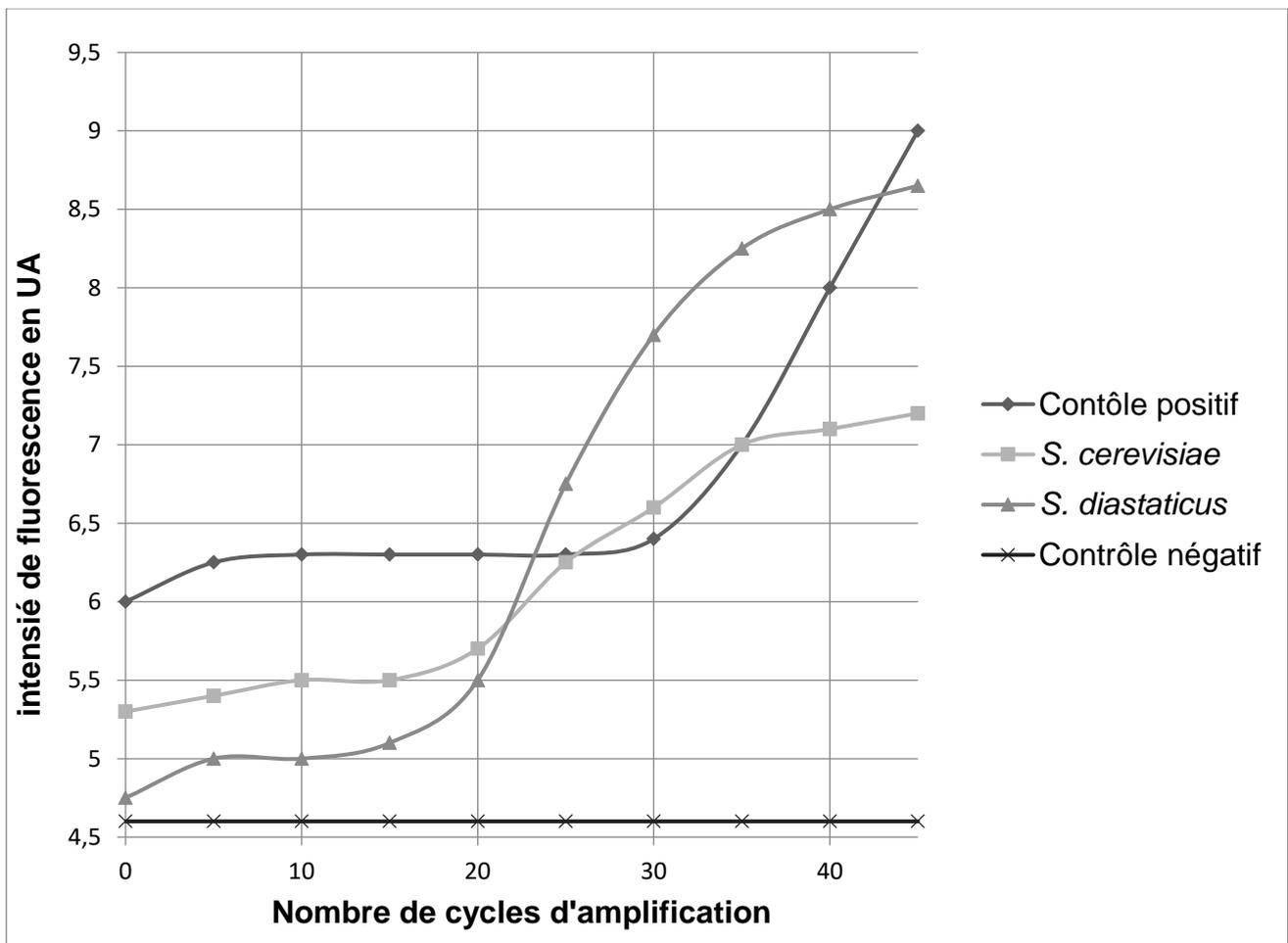
N° lot GeneDisc : 920982021113YI

N° de série du cyclor : 201552003

N° lot Master Mix : 502001

Version du logiciel cyclor : PR2933 Version:1.3.1 Feb 1 2012 14:14:10

N° de série de l'unité centrale : 201552003



Cibles analysées	Ct seuil	Ct observé lors de l'analyse
Contrôle positif	35	31
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	35	19,70
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> variété <i>diastaticus</i>	36	18,37

Un résultat est considéré positif si le nombre de cycles observés lors de la détection est inférieur au Ct seuil.

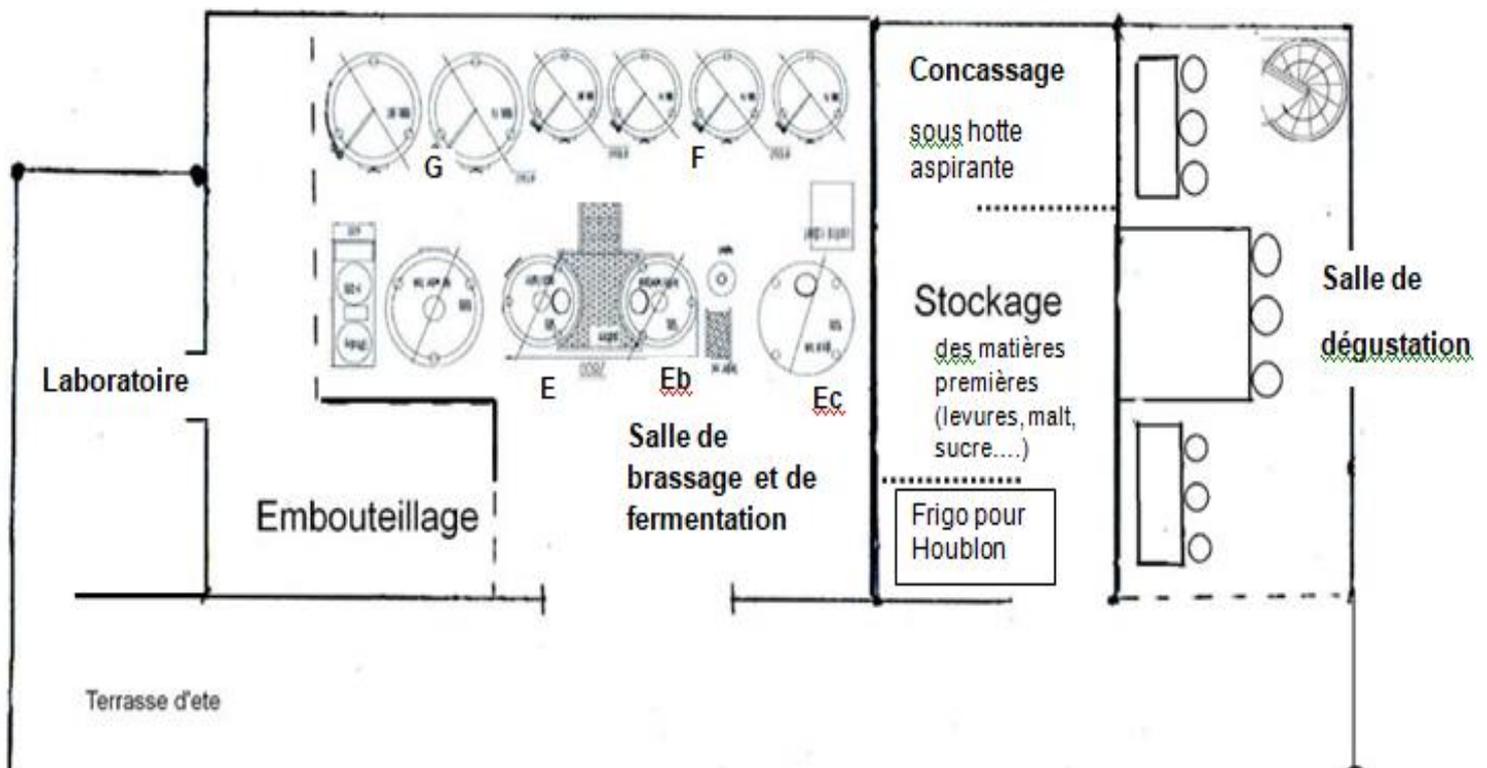
## DOCUMENT 8

### Plan de la brasserie

(d'après [http://www.afla.fr/promotion/brasserie\\_du\\_perche/brasserie\\_du\\_perche.htm](http://www.afla.fr/promotion/brasserie_du_perche/brasserie_du_perche.htm))

E : cuve d'empatage\* - Ec : alimentation en eau chaude - Eb : cuve d'ébullition - G : tanks de garde  
F : cuves de fermentation

\*Cuve d'empatage : cuve dans laquelle sont mélangés les différents ingrédients



## DOCUMENT 9

Extrait d'un rapport d'essai pour un contrôle libératoire de Kéfir de fruits bio



### BACTERIOLOGICAL ANALYSIS REPORT

Customer Informations			
Sample(s) nature	KEFIR	Collection date	
		Receipt date	26/05/21
Storage condition	-	Sample(s) T°	-
Fabrication batch / date		Lab informations	
Packaging date		Sample(s) T° at receipt	-
Packaging	bulk	Analysis date	26/05/21
Best by date		Selfcontrol / storage	SC
Sampling point			
Sampling date	24/05/21	criteria	

### MICROBIOLOGICAL RESULTS

	Unit	Method	21052235 « water »	21052236 « milk »
$\beta$ glucuronidase+ E.Coli (v)	ufc/g	3M 01/08-06/01 (v)	<10	<10
Salmonella (mobile) (v)	/25g	BKR 23/04-12/07 (v)	undetected	undetected
Listeria spp (v)	/25g	BKR 23/02-11/02 (v)	undetected	undetected



ASSOCIATION N°1-2020  
POUR LE DÉVELOPPEMENT  
WWW.COFRAC.FR

(\*) paramètre accrédité

(v) méthode validée afnor certification

MQ11/FOR03  
version 6-04/03/20  
1/1

## DOCUMENT 10

### Variables aléatoires de quelques tests statistiques

Moyennes	Tests de conformité	<p>Variance de la population connue</p> $U = \frac{\bar{X} - \mu_0}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$ <p>U suit la loi normale centrée réduite N (0 ; 1)</p>
		<p>Variance de la population inconnue</p> $T = \frac{\bar{X} - \mu_0}{\frac{s}{\sqrt{n-1}}}$ <p>T suit la loi de Student à n - 1 ddl</p>
	Test de comparaison	<p>(Variances supposées égales)</p> $T = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \text{ avec } S^2 = \frac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$ <p>T suit la loi de Student à n<sub>1</sub> + n<sub>2</sub> - 2 ddl</p>
Fréquences ou proportions	Test de conformité	<p><math>\pi_0</math> : fréquence ou proportion d'individus présentant un caractère dans une population.</p> <p>P : variable aléatoire d'échantillonnage de la fréquence ou la proportion d'individus présentant un caractère dans un échantillon de la population.</p> $U = \frac{P - \pi_0}{\sqrt{\frac{\pi_0(1 - \pi_0)}{n}}}$ <p>U suit la loi normale centrée réduite N (0 ; 1)</p>
	Test de comparaison	<p>P<sub>1</sub> et P<sub>2</sub> : variables d'échantillonnage des fréquences ou proportions d'individus présentant un caractère dans les échantillons respectifs de chaque population.</p> $U = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{\hat{P}(1 - \hat{P}) \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \text{ avec } \hat{P} = \frac{n_1 P_1 + n_2 P_2}{n_1 + n_2}$ <p>U suit la loi normale centrée réduite N (0 ; 1)</p>

### DOCUMENT 11

#### Valeurs critiques de la distribution de la loi normale centrée réduite

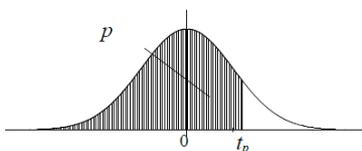
Seuil pour un test unilatéral								
	0,25	0,15	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,0005
Seuil pour un test bilatéral								
	0,5	0,3	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,001
Z	0,6745	1,0364	1,2816	1,6449	1,9600	2,3263	2,5758	3,2906

## DOCUMENT 12

### Valeurs critiques de la distribution d'une loi de Student à $k$ degrés de liberté

$T$  est une variable aléatoire de loi de Student à  $k$  degrés de liberté.

Pour chaque valeur de  $p$ , le tableau donne la valeur de  $t_p$  telle que  $P(T \leq t_p) = p$ .



	0,90	0,95	0,975	0,99	0,995	0,999	0,9995
1	3,08	6,31	12,71	31,82	63,66	318,29	636,58
2	1,89	2,92	4,30	6,96	9,92	22,33	31,60
3	1,64	2,35	3,18	4,54	5,84	10,21	12,92
4	1,53	2,13	2,78	3,75	4,60	7,17	8,61
5	1,48	2,02	2,57	3,36	4,03	5,89	6,87
6	1,44	1,94	2,45	3,14	3,71	5,21	5,96
7	1,41	1,89	2,36	3,00	3,50	4,79	5,41
8	1,40	1,86	2,31	2,90	3,36	4,50	5,04
9	1,38	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30	4,78
10	1,37	1,81	2,23	2,76	3,17	4,14	4,59
11	1,36	1,80	2,20	2,72	3,11	4,02	4,44
12	1,36	1,78	2,18	2,68	3,05	3,93	4,32
13	1,35	1,77	2,16	2,65	3,01	3,85	4,22
14	1,35	1,76	2,14	2,62	2,98	3,79	4,14
15	1,34	1,75	2,13	2,60	2,95	3,73	4,07
16	1,34	1,75	2,12	2,58	2,92	3,69	4,01
17	1,33	1,74	2,11	2,57	2,90	3,65	3,97
18	1,33	1,73	2,10	2,55	2,88	3,61	3,92
19	1,33	1,73	2,09	2,54	2,86	3,58	3,88
20	1,33	1,72	2,09	2,53	2,85	3,55	3,85
21	1,32	1,72	2,08	2,52	2,83	3,53	3,82
22	1,32	1,72	2,07	2,51	2,82	3,50	3,79
23	1,32	1,71	2,07	2,50	2,81	3,48	3,77
24	1,32	1,71	2,06	2,49	2,80	3,47	3,75
25	1,32	1,71	2,06	2,49	2,79	3,45	3,73
26	1,31	1,71	2,06	2,48	2,78	3,43	3,71
27	1,31	1,70	2,05	2,47	2,77	3,42	3,69
28	1,31	1,70	2,05	2,47	2,76	3,41	3,67
29	1,31	1,70	2,05	2,46	2,76	3,40	3,66
30	1,31	1,70	2,04	2,46	2,75	3,39	3,65
35	1,31	1,69	2,03	2,44	2,72	3,34	3,59
40	1,30	1,68	2,02	2,42	2,70	3,31	3,55
45	1,30	1,68	2,01	2,41	2,69	3,28	3,52
50	1,30	1,68	2,01	2,40	2,68	3,26	3,50
60	1,30	1,67	2,00	2,39	2,66	3,23	3,46
80	1,29	1,66	1,99	2,37	2,64	3,20	3,42
100	1,29	1,66	1,98	2,36	2,63	3,17	3,39
200	1,29	1,65	1,97	2,35	2,60	3,13	3,34
500	1,28	1,65	1,96	2,33	2,59	3,11	3,31
1 000	1,28	1,65	1,96	2,33	2,58	3,10	3,30
10 000	1,28	1,65	1,96	2,33	2,58	3,09	3,29