

**Document
d'accompagnement
du référentiel de
formation**

Enseignement agricole
Formations grandeur nature



Inspection de l'Enseignement Agricole

Diplôme :

Baccalauréat professionnel Laboratoire Contrôle Qualité

Module :

MP5 Le travail en laboratoire

Objectif général du module :

Mettre en œuvre les activités d'analyse et de contrôle dans le respect des procédures, de l'environnement et des recommandations en matière de santé et de sécurité au travail

**Indications de contenus, commentaires,
recommandations pédagogiques**

Cet objectif traité en lien avec le module MP4 sert de support à l'apprentissage des bonnes pratiques propres au métier de technicien de laboratoire : gestuelle, rigueur, précision et choix du matériel, organisation du poste de travail.

La critique objective des résultats obtenus lors des différentes étapes d'un protocole donné doit être un souci permanent. Chaque résultat doit toujours être accompagné de son incertitude.

Objectif 1. - Raisonner les opérations d'analyse en fonction des instructions et des modes opératoires fournis

Objectif 1.1 - Identifier les étapes de l'analyse

L'opération d'analyse se décompose en 3 étapes :

- L'étape pré-analytique au cours de laquelle sont réalisés : l'échantillonnage, le prélèvement, le stockage et la préparation de l'échantillon
- L'étape analytique au cours de laquelle sont réalisées les opérations de pré-enrichissement, d'enrichissement, de dilution, de concentration d'analytes, de mise en œuvre des techniques d'ensemencement, d'incubation, de dosage..... On y effectue également les opérations de calibrage des appareils de mesures puis les mesures elles mêmes.
- L'étape post-analytique qui comprend l'expression du résultat, l'appréciation de sa cohérence, son interprétation et sa transmission.

L'identification de ces étapes peut se faire soit au cours de travaux pratiques, soit en travaux dirigés. Il est intéressant de montrer que quel que soit le type d'analyse mis en œuvre (physique, chimique, biologique ou microbiologique) les étapes restent les mêmes.

Objectif 1.2 - Choisir et préparer le matériel

L'apprenant est amené à choisir lui même le matériel dont il doit se servir. Il est sensibilisé à ce choix en prenant en compte la nature de l'objet à analyser ainsi que la technique à mettre en œuvre, déduite de la méthode choisie.

Il réalise la préparation, le calibrage et/ou l'étalonnage des matériels dont il va se servir.

Il est souhaitable que les apprenants puissent participer à la préparation préalable des travaux pratiques avant la séance elle même. Cette participation, sous l'encadrement de professeurs et/ou de techniciens de laboratoire, peut se mettre en place, à tour de rôle et hors du temps de face à face proprement dit.

Il est recommandé de revenir sur la maîtrise des calculs relatifs aux préparations des solutions, en particulier ceux mettant en œuvre des solutions commerciales concentrées compte tenu de la difficulté qu'en éprouvent généralement les apprenants. On rappelle les notions de pureté, de densité ...

Objectif 1.3 - Organiser le(s) poste(s) de travail

Il est indispensable de prendre en compte tous les problèmes liés à la sécurité et à l'environnement : connaissance des produits, des pictogrammes, (réglementation REACH), stockage, toxicité, tri et élimination des déchets, connaissance et utilisation des équipements de protection individuels.

L'accent est mis sur l'intérêt opérationnel de l'agencement de la paillasse.

Objectif 2 - Mettre en œuvre les analyses

Il s'agit de privilégier des types d'analyses réalisées en milieu professionnel.

Objectif 2.1 - Préparer les échantillons

On décrit les techniques de prélèvement aléatoire, avec homogénéisation ou non, par sonde, ... Et également les techniques réellement utilisées et celles préconisées par la réglementation. L'utilisation de matrices de textures différentes (liquide, solide, pulvérulente, homogènes ou non) est fortement souhaitable. On peut montrer à cette occasion l'incidence des prélèvements sur les résultats de l'analyse.

Objectif 2.2 - Réaliser les opérations d'analyse dans le respect des instructions reçues et des règles d'hygiène et de sécurité.

Les exemples sont pris dans différents domaines : agriculture, agroalimentaire, cosmétologie, pharmacie ...

Cette partie consiste en l'application d'un processus analytique ou d'une série de processus.

Elle donne l'occasion de

- raisonner les choix du (des) matériel(s) et d'en apprécier les qualités et les performances
- d'effectuer les calculs et les traitements permettant d'aboutir au résultat final (concentrations, teneurs...), On attire l'attention des apprenants sur la nécessité d'exprimer correctement les résultats et d'en faire une interprétation pertinente.

Afin d'enrichir la formation proposée, il est souhaitable de diversifier les techniques, de montrer différentes gammes de techniques mobilisables au laboratoire. Les méthodes modernes sont à privilégier dans la mesure du possible, sans délaisser toutefois les techniques plus anciennes mais qui présentent un intérêt pédagogique indéniable.

Biochimie, microbiologie, biologie

Utiliser les méthodes officielles, de références et les méthodes alternatives validées.

Les recherches microbiennes classiques (micro-organismes à 30 °C, entérobactéries, *E. coli*, *Staphylococcus* à coagulases +, salmonelles, ASR) sont mises en œuvre en y associant l'identification lorsqu'elle est nécessaire. *Listeria monocytogenes* fait l'objet de démonstrations, les élèves pouvant manipuler *L. innocua* (voir la note de service de 2006).

En santé animale et humaine l'utilisation des antibiogrammes est indiquée. Les analyses de produits d'origine humaine et animale doivent impérativement être réalisées dans le cadre des bonnes pratiques associées aux laboratoires d'enseignement.

Ces exemples sont proposés mais d'autres analyses peuvent être également réalisées en fonction du produit et des règlements associés.

Physique chimie

Applications des méthodes citées en MP4

La liste suivante, qui n'est en aucun cas exhaustive, donne quelques exemples d'analyses possibles :

- Préparation de solutions de concentrations précises :
 - préparation directe,
 - préparation indirecte : fabrication de la solution trop riche (à partir d'un solide, d'une solution), dosage, ajustage (par dilution) et vérification par dosage.
- Préparation d'un indicateur coloré (à partir d'une certaine masse, suivi du protocole).
- Dosage du SO₂ dans le vin, dans un jus de fruit.
- Dosage de l'alcool par aérométrie.
- Dosage des oses dans un lait (méthode de Bertrand)
- Chromatographie d'acides organiques dans le vin.
- Dosage de l'acidité totale : dans un vin, dans un lait (détermination du d° Dornic), dans un vinaigre.
- Dosage de l'acidité volatile d'un vin.
- Dosage de l'azote total par la méthode de KJELDAHL (application à un foin)
- Dosage des ions nitrates (dans la terre)
- Réfractométrie : dosage des sucres dans un jus de raisin (alcool en puissance)

Objectif 2.3 - Gérer les produits et les déchets

Repérer les circuits de gestion des déchets. (Toxiques, organiques, minéraux, acides, bases, métaux lourds. Déchets biologiques...)

En lien avec le MP2.

Appliquer les règles de sécurité. Savoir utiliser les fiches sécurités, les catalogues fournisseurs. Utiliser les pictogrammes, repérer les circuits de gestion de déchets.

Objectif 3. - Traiter les résultats

Cet objectif permet de déterminer les incertitudes associées aux résultats, de les interpréter et de traiter des ensembles de données.

Objectif 3.1 - Utiliser des indicateurs statistiques pour interpréter des résultats

Il s'agit de mettre en œuvre dans le contexte du « travail de laboratoire » les compétences développées dans l'objectif 1 du module MG4 concernant les séries statistiques à une variable.

Objectif 3.2 - Exploiter et faire une analyse critique d'un résultat d'échantillonnage

L'objectif est de sensibiliser les élèves à la fluctuation d'échantillonnage, aux notions d'intervalle de fluctuation et d'intervalle de confiance et à l'utilisation qui peut en être faite.

En statistique, un **échantillon** de taille n est la liste des n résultats obtenus par n répétitions indépendantes de la même expérience c'est-à-dire relative au même modèle.

Pour l'estimation d'une fréquence, on se limite au modèle de Bernoulli qui affecte une probabilité p au nombre 1 et une probabilité $(1 - p)$ au nombre 0. On assimile un tirage sans remise d'un échantillon dans une population suffisamment nombreuse à la répétition d'un tirage avec remise.

Par expérimentation et simulation, on fait observer aux élèves que les échantillons de taille n obtenus à partir d'un modèle de Bernoulli ont, pour environ 95% d'entre eux, des fréquences d'apparition du nombre 1 qui fluctuent pour n assez grand dans un intervalle centré en p et d'amplitude $\frac{2}{\sqrt{n}}$.

On peut alors définir l'**intervalle de fluctuation** à 0,95, relatif aux échantillons de taille n , comme l'intervalle centré autour de p , où se situe, avec une probabilité égale à 0,95, la fréquence observée dans un échantillon de taille n .

Dans la pratique, on utilise l'intervalle $[p - \frac{1}{\sqrt{n}} ; p + \frac{1}{\sqrt{n}}]$, pour des probabilités p comprises entre 0,2 et 0,8 et des échantillons de taille n supérieure ou égale à 25.

On développe des exemples de **prises de décision sur échantillon** fondées sur la connaissance de l'intervalle de fluctuation. Pour apprécier si la fréquence observée f sur un échantillon de taille n est compatible ou non avec un modèle de Bernoulli de probabilité p , on regarde si cette fréquence est dans l'intervalle de fluctuation à 0,95 relatif aux échantillons de taille n du modèle. Si f est en dehors de l'intervalle de fluctuation, on considère que l'observation n'est pas compatible avec le modèle.

L'appartenance de f à $[\rho - \frac{1}{\sqrt{n}} ; \rho + \frac{1}{\sqrt{n}}]$ équivaut à celle de p à l'intervalle $[f - \frac{1}{\sqrt{n}} ; f + \frac{1}{\sqrt{n}}]$, ce qui permet de dire

que, parmi tous les échantillons de taille n possibles, 95% des intervalles associés $[f - \frac{1}{\sqrt{n}} ; f + \frac{1}{\sqrt{n}}]$ contiennent p . Une fois l'échantillon tiré, l'intervalle associé est un **intervalle de confiance** au niveau 0,95 de p .

Par analogie, pour estimer une moyenne μ dans une étude quantitative, on peut définir également un **intervalle de fluctuation** à 0,95, relatif aux échantillons de taille n , comme l'intervalle centré autour de μ , où se situe, avec une probabilité égale à 0,95, la moyenne observée dans un échantillon de taille n .

Dans la pratique, on utilise l'intervalle, $[\mu - \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}, \mu + \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}]$ où σ est l'écart type. Ce paramètre est supposé connu.

Les échantillons sont supposés de taille n supérieure ou égale à 30.

L'appartenance de \bar{x} à $[\mu - \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}, \mu + \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}]$ équivaut à celle de μ à l'intervalle $[\bar{x} - \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}, \bar{x} + \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}]$, ce qui permet

de dire que, parmi tous les échantillons de taille n possibles, 95% des intervalles associés $[\bar{x} - \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}, \bar{x} + \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}]$

contiennent μ . Une fois l'échantillon tiré, l'intervalle associé est un **intervalle de confiance** au niveau 0,95 de μ . Évoquer, sans entrer dans le détail, les cas (fréquents) où $n = 5$.

Objectif 3.3 - Déterminer une équation de droite d'ajustement pour interpoler ou extrapoler

L'objectif est d'étudier un lien éventuel entre deux caractères d'une même population et, **lorsqu'il est pertinent**, de déterminer une équation de droite d'ajustement pour interpoler ou extrapoler.

Le nuage de point est représenté au moyen des TIC.

Ajuster une courbe à un nuage de points, c'est déterminer la courbe « au plus près » des points

du nuage. Lorsque le nuage est très allongé, on cherche une fonction du type $x \mapsto ax + b$. On dit que l'on effectue un ajustement affine.

L'ajustement est réalisé à partir de l'équation affichée par une calculatrice ou un tableur grapheur, sans explication des calculs. On constate graphiquement que la droite obtenue passe par le point moyen.

L'équation de la droite d'ajustement est utilisée pour interpoler ou extrapoler. Citer les paramètres principaux de dispersion : coefficient de corrélation et écart type résiduel.

Selon les besoins, on abordera des exemples d'ajustements non affines fournis par le tableur.

Activités pluridisciplinaires

Thématiques

Application des méthodes à l'identification microbienne ;

Évaluation pratique des méthodes ;

Relation entre principe, objectif et contexte de l'analyse

84h : BMB (84h) ; physique-chimie (52h) ; biologie (20h) ; Maths (12h)

Ces thématiques sont traitées avec les modules MP4 et MP5.