

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialité : Biotechnologies

SESSION 2015

Sous-épreuve écrite de Biotechnologies

Coefficient de la sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

**Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités
sur des copies séparées.**

L'usage de la calculatrice est autorisé.

Ce sujet comporte **8** pages.

REUTILISATION DES EAUX USEES EPUREES

(Extrait d'un rapport de l'observatoire régional de la santé Ile-de-France 2004)

La raréfaction des ressources en eau et la dégradation de leur qualité est un défi majeur pour le XXI^{ème} siècle.

Afin de préserver la qualité des masses d'eau et de diminuer les prélèvements dans le milieu naturel, il convient de chercher des approvisionnements alternatifs. La réutilisation des eaux usées épurées peut constituer l'un de ces moyens d'approvisionnement. Cependant, ces eaux usées épurées restent chargées en contaminants divers, ce qui pose le problème des risques sanitaires.

Des traitements supplémentaires permettent de réduire les risques liés aux microorganismes pathogènes.

Afin de déterminer la méthode optimale de traitement, une équipe d'ingénieurs se propose d'étudier trois méthodes permettant d'éliminer ou d'inactiver ces microorganismes :

- un traitement par filtration sur membrane ;
- un traitement thermique ;
- un traitement biologique.

Le traitement choisi doit être économiquement rentable et ne pas compromettre l'utilisation ultérieure des eaux usées.

1. TRAITEMENT PAR FILTRATION SUR MEMBRANE

La filtration sur membrane a pour objectif d'éliminer toutes les bactéries présentes dans les eaux usées épurées. Le **document 1** présente le schéma d'une filtration sur membrane.

Q1. Expliquer le principe de la filtration sur membrane en donnant le critère sur lequel repose la séparation des constituants d'un mélange.

Q2. A l'aide du **document 2**, identifier, en argumentant la réponse, la technique membranaire adaptée à l'élimination des bactéries des eaux usées épurées.

Donnée : taille minimale d'une bactérie = 0,5 µm.

Après un essai au laboratoire, les techniciens constatent un colmatage important du filtre, phénomène illustré dans le **document 3**.

Q3. Indiquer la conséquence du colmatage sur la filtration des eaux usées épurées.

Le colmatage peut être limité en éliminant préalablement les particules de très grosse taille.

Q4. Choisir dans le **document 2** la technique conventionnelle, préalable à la filtration, qui permet de limiter le colmatage. Argumenter la réponse.

2. TRAITEMENT THERMIQUE

Le traitement thermique, caractérisé par une durée et une température de traitement déterminées (appelé couple temps / température), réduit considérablement le niveau de contamination des eaux usées épurées. Le barème temps / température choisi dépend de la concentration initiale en bactéries pathogènes. *Staphylococcus aureus* est utilisé comme microorganismes de référence.

Un dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les eaux usées épurées est réalisé sur milieu solide. Les résultats sont présentés dans le **document 4**.

Q5. Etablir l'équation aux valeurs numériques et montrer que les eaux usées épurées contiennent $1,0 \cdot 10^4$ UFC de *Staphylococcus aureus* par millilitre.

Le **document 5** montre une courbe de destruction thermique de *Staphylococcus aureus* à 70 °C.

Q6. En utilisant la charge initiale déterminée à la question **Q5**, évaluer graphiquement la durée minimale de traitement nécessaire pour éliminer la contamination due à *Staphylococcus aureus* et expliquer la démarche.

Un traitement thermique de 5 minutes à 70 °C est proposé pour traiter les eaux usées épurées. Au-delà d'une de ces valeurs, le traitement thermique n'est pas suffisamment rentable.

Q7. Expliquer si la durée du traitement thermique calculée à la question **Q6** est compatible avec les contraintes économiques.

3. TRAITEMENT BIOLOGIQUE

Les eaux usées épurées sontensemencées avec des microorganismes épurateurs qui :

- acidifient le milieu en produisant de l'acide lactique ;
- libèrent des bactériocines qui peuvent inhiber la microflore pathogène.

L'obtention d'une acidité titrable supérieure à 1,2 % et les bactériocines permettent une action efficace sur l'ensemble des micro-organismes à éliminer.

3.1. Contrôle de l'identité des microorganismes épurateurs

L'identité de deux microorganismes épurateurs est contrôlée par des examens microscopiques et par un isolement sur des milieux sélectifs. Le **document 6** présente les micrographies A et B de ces deux microorganismes épurateurs ainsi que la composition des deux milieux P et M sur lesquels chaque microorganisme sera isolé.

Q8. A l'aide du **document 6**, identifier et argumenter les types de microscopes utilisés pour obtenir chacune des micrographies A et B.

Q9. Indiquer sur quel milieu de culture P ou M sera isolé chacun des microorganismes épurateurs. Argumenter la réponse.

Q10. Dégager le caractère cultural commun aux deux microorganismes épurateurs.

3.2. Comparaison de l'activité antimicrobienne des *Lactobacillus*

L'activité antimicrobienne de trois souches de *Lactobacillus* est testée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les résultats obtenus figurent dans le **document 7**.

Q11. Après analyse du **document 7**, choisir la souche de *Lactobacillus* à utiliser préférentiellement pour traiter les eaux usées épurées par voie biologique. Argumenter ce choix.

3.3. Contrôle de l'efficacité de traitement des eaux usées par les deux microorganismes épurateurs

Les deux microorganismes épurateurs sont incubés ensemble pendant environ 48 h dans un fermenteur contenant un volume connu d'eaux usées épurées. L'efficacité du traitement est alors contrôlée par des analyses dont les résultats figurent dans le **document 8**.

Q12. Décrire l'évolution des paramètres physico-chimiques au cours du traitement biologique.

Q13. Décrire l'évolution des paramètres microbiologiques au cours du traitement biologique.

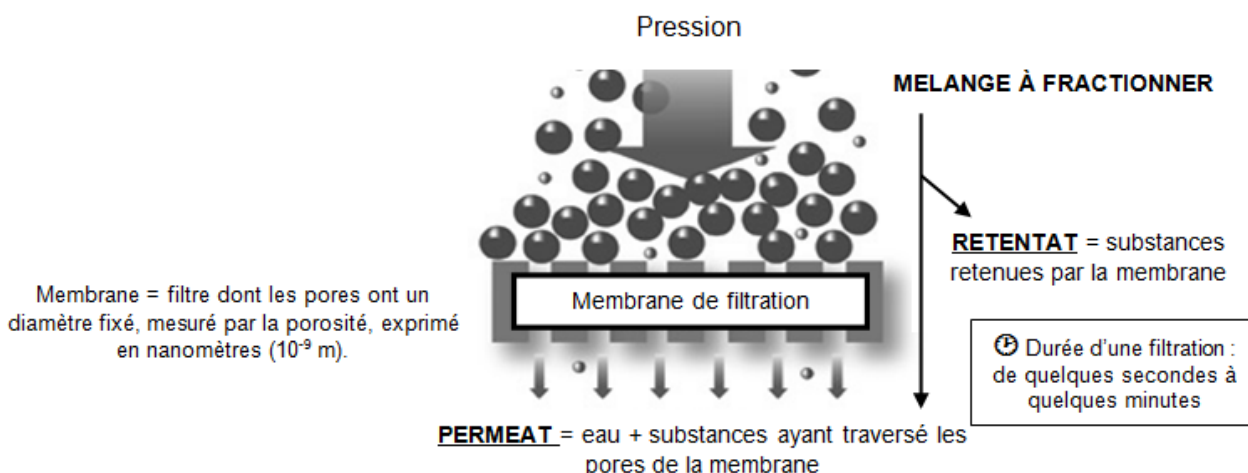
Q14. Proposer une explication à l'évolution des paramètres microbiologiques et physico-chimiques au cours du traitement biologique.

Q15. Conclure quant à la réussite ou à l'échec du traitement biologique des eaux usées épurées.

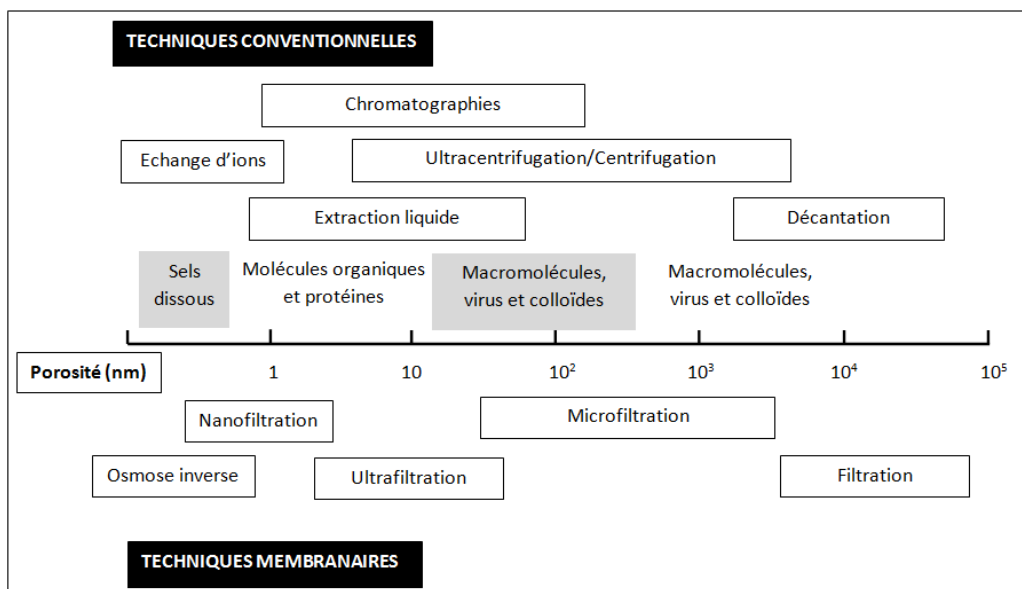
SYNTHESE

Q16. Récapituler dans un tableau les avantages et inconvénients des trois méthodes proposées pour le traitement des eaux usées épurées. En déduire le choix retenu dans l'objectif d'une réutilisation des eaux usées épurées.

DOCUMENT 1 - Filtration sur membrane

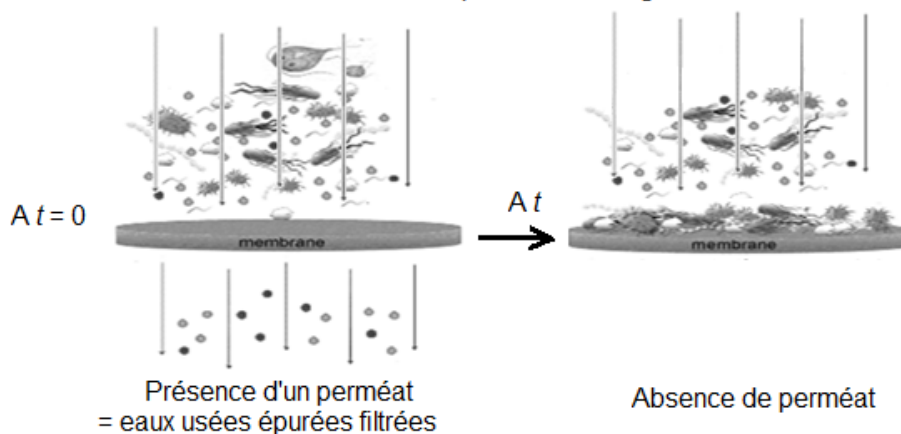


DOCUMENT 2 - Techniques membranaires et conventionnelles de séparation



DOCUMENT 3 - Colmatage des filtres

Eaux usées épurées = mélange à fractionner



DOCUMENT 4 - Dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les eaux usées épurées

- **Milieu utilisé** : gélose Baird-Parker
- **Technique de dénombrement** : en surface (volume d'inoculum : 0,1 mL)
- **Incubation** : 48 h à 37 °C

Dilution	10^0	10^{-1}	10^{-2}
Nombre de colonies	Non comptable	99	11

D'après la norme NF EN ISO 7218 :

$$\text{Equation aux grandeurs : } N = \frac{\Sigma c}{V \cdot 1,1 \cdot d}$$

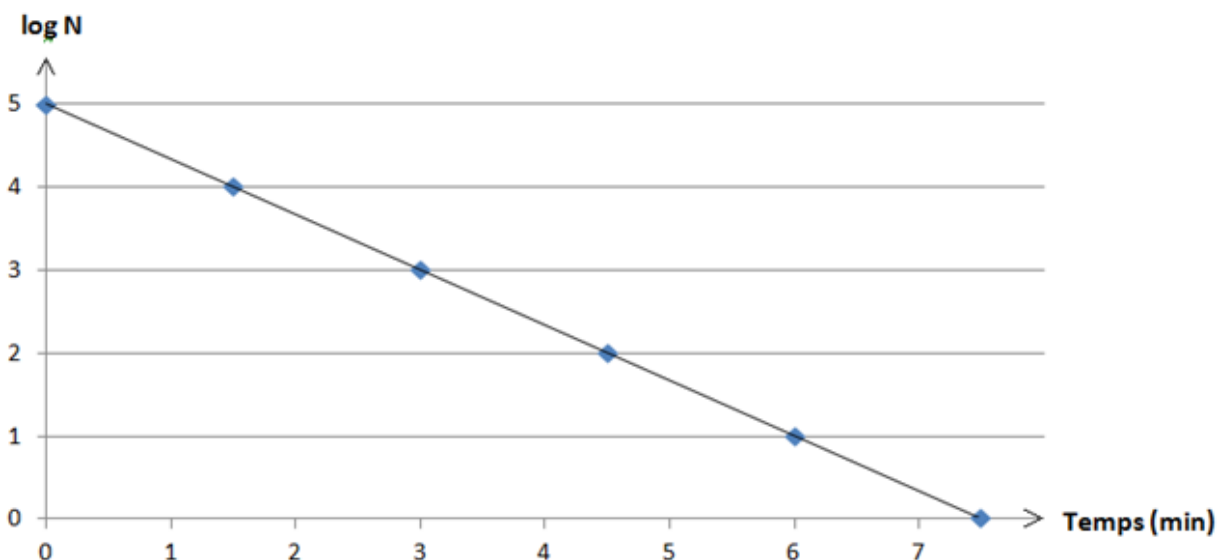
- N : nombre d'UFC (Unités Formant Colonies) par mL de produit initial
- Σc : somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient au minimum dix colonies.
- V : volume de l'inoculum déposé dans chaque boîte (en mL)
- d : dilution correspondant à la première boîte retenue (dilution la plus faible).

Expression du résultat de mesure :

Le résultat est arrondi à deux chiffres significatifs et exprimé par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée.

DOCUMENT 5 - Courbe de destruction thermique de *Staphylococcus aureus* à 70 °C

Le calcul du logarithme décimal de N permet de tracer une droite d'équation : $\log N = f(t)$



DOCUMENT 6 - Choix des microorganismes épurateurs pour le traitement biologique

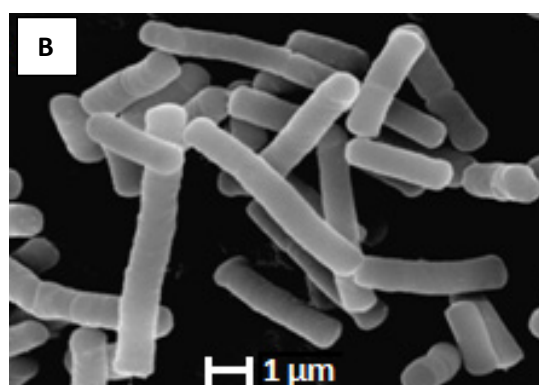
➤ Liste de microscopes fréquemment utilisés pour l'observation de microorganismes :

- Microscope électronique à transmission
- Microscope photonique à fond clair
- Microscope électronique à balayage
- Microscope photonique à fluorescence

➤ Observation microscopique des microorganismes isolés



Grossissement x 15 000

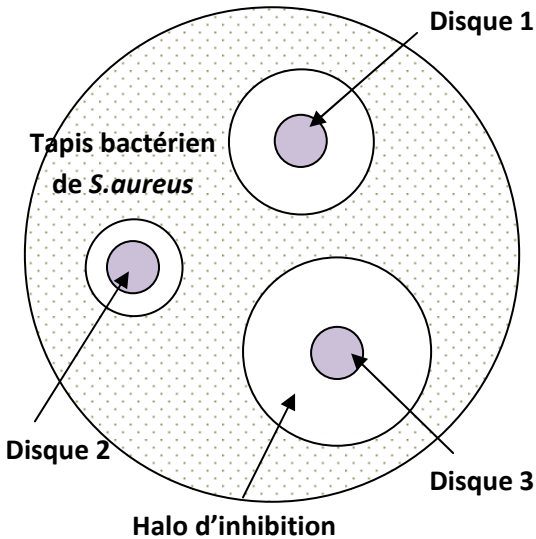


Grossissement x 15 000

➤ Milieux de culture utilisés pour l'isolement des microorganismes

Milieu	P	M
Nom	<i>Potato dextrose agar</i>	<i>Man Rogosa Sharpe</i>
Utilisation	Culture des mycètes (levures et moisissures)	Culture et dénombrement des bactéries du genre <i>Lactobacillus</i>
Caractéristiques	Le pH final de 3,5 est obtenu par l'ajout de 10 % d'acide tartrique. Cette acidité inhibe la totalité des bactéries.	Le citrate d'ammonium et l'acétate de sodium inhibent la plupart des contaminants comme les streptocoques et les moisissures. Le pH final du milieu de 5,7 favorise la croissance de <i>Lactobacillus</i> .

DOCUMENT 7 - Détermination de l'activité antimicrobienne de trois souches de *Lactobacillus*

Mode opératoire	Schéma de la boîte après incubation
<ul style="list-style-type: none"> • Ensemencer une gélose nutritive avec une suspension de <i>S.aureus</i> par écouvillonnage. • Imbiber trois disques de papier stériles avec différentes suspensions de <i>Lactobacillus</i> (LB) : <ul style="list-style-type: none"> - disque 1 : souche LB5 - disque 2 : souche LB10 - disque 3 : souche LB17 • Déposer à la pince chaque disque sur la gélose nutritive. Appuyer légèrement sur le disque pour le faire adhérer. • Retourner la boîte et incuber 24 h à 37 °C. • Mesurer les diamètres d'inhibition obtenus autour de chaque disque. 	

DOCUMENT 8 - Analyses des eaux usées épurées avant et après le traitement biologique

Analyses physico-chimiques			Analyses microbiologiques		
Paramètre	Eaux usées épurées avant traitement	Eaux usées épurées après traitement	Paramètre	Eaux usées épurées avant traitement (UFC.mL ⁻¹)	Eaux usées épurées après traitement (UFC.mL ⁻¹)
pH	6,72	3,87	<i>Lactobacillus</i>	3,0.10 ⁶	2,0.10 ⁷
			Levures	5,0.10 ³	7,0.10 ⁴
Acidité titrable	0,3 %	1,3 %	<i>Staphylococcus</i>	1,0.10 ⁴	0
			<i>Salmonella</i>	1,2.10 ¹	0

Donnée : 1 % d'acidité correspond à 1 g d'acide lactique pour 100 mL d'eaux usées épurées.