

OFFICE NATIONAL DE SECURITE SANITAIRE DES PRODUITS ALIMENTAIRES
CONCOURS DE RECRUTEMENT D'UN ADMINISTRATEUR 2^{ème} GRADE

EN OPTION : CHIMIE

EPREUVE ECRITE-SESSION DU 02 DECEMBRE 2018

DUREE : Trois(03) Heures - Coefficient : Deux(02)

Consignes à lire impérativement :

- Cette épreuve se décompose en 4 exercices en 7 pages
- Les différentes parties étant indépendantes les unes des autres, vous pouvez répondre dans l'ordre qui vous convient.
- Seule la calculatrice **NON PROGRAMMABLE** est autorisée, aucun autre matériel électronique (téléphone portable, tablette ...) n'est autorisé
- Il sera tenu compte de la présentation, de la concision des réponses et du respect des consignes.
- Les feuilles de brouillon ne seront pas notées.

Le barème est structuré comme suit :

Exercice I : 4pts, Exercice II : 3pts, Exercice III : 6pts, Exercice IV : 7pts

Exercice I : 4points

Choisir la bonne réponse.

1) Une phase inversée en LC, utilise traditionnellement :

- a/ L'hexane comme mobile phase
- b/ La silice comme phase stationnaire
- c/ L'acetonitrile comme phase mobile
- d/ Gel de silice sur lequel on a greffé des groupes octadécyle

2) Combien de points est à minima à obtenir pour bien caractériser un pic chromatographique :

- a/ 1 est suffisant
- b/ 10 – 15 est optimal
- c/ 100 est parfait
- d/ 1000 est un minimum

3) Comment calculer le rapport signal sur bruit pour le pic chromatographique

- a/ Mesurer la hauteur d'un pic chromatographique et la diviser par trois
- b/ Mesurer la surface d'un pic chromatographique et la diviser par trois
- c/ Mesurer la hauteur d'un pic chromatographique et la diviser par l'amplitude du bruit de fond
- d/ Mesurer la surface d'un pic chromatographique et la multiplier par la hauteur du bruit

4) Conformément à la décision 2002/657/EC, le nombre minimal de points d'identification (IP) nécessaire à l'identification non ambiguë de composés interdits est de

- a/ 0, l'identification n'est pas nécessaire pour des composés interdits
- b/ 2 sont suffisants
- c/ 4 sont suffisants
- d/ 10 au moins sont nécessaires

5) Une méthode de dépiégeage dédiée à des composés interdits doit absolument éviter des conclusions type

- a/ Faux positif
- b/ Vrai positif
- c/ Faux négatif
- d/ Vrai positif

6) Une méthode de confirmation dédiée à des composés interdits doit absolument éviter des conclusions type

- a/ Faux positif
- b/ Vrai positif
- c/ Faux négatif
- d/ Vrai positif

7) Dans le mode d'ionisation électrospray positif (ESI +), l'analyte (M) est principalement ionisé en:

- a/ $M + \bullet$
- b/ $M - \bullet$
- c/ $(M + H) +$
- d/ $(2M) ++$

8) Dans le mode d'ionisation par impact électronique (EI), l'analyte (M) est principalement ionisé en:

- a/ $M + \bullet$
- b/ $M - \bullet$
- c/ $(M + H) +$
- d/ $(2M) ++$

9) Un bon ion diagnostique est :

- a/ Un ion mort
- b/ Un ion intense de m/z élevé
- c/ Un ion intense de masse impaire
- d/ l'ion moléculaire quelle que soit son intensité

10) Quel est le dwell time à programmer sur le spectromètre de masse si on désire 10 points par pic chromatographique et que 10 transitions doivent être enregistrées sur un pic dont la largeur à la base est de 10 secondes :

- a/ 10 millisecondes
- b/ 100 millisecondes
- c/ 1 secondes
- d/ 10 secondes

11) Qu'est-ce qu'une molécule à défaut de masse

- a/ Une molécule dont la masse possède une grosse erreur
- b/ Une molécule dont la formule brute contient par exemple du chlore
- c/ Une molécule dont la formule brute contient en proportion beaucoup d'hydrogène
- d/ Une molécule contenant beaucoup de carbones

12) Identifier les abréviations correctes qui impliquent des modes d'enregistrement utilisés en MSMS :

- a/ SRM
- b/ SIM
- c/ STM
- d/ SOS

13) Les deux meilleures options pour un étalon interne utilisent en GCMSMS

- a) Un analogue structural
- b) L'analyte cible marqué par du deutérium
- c) L'analyte cible marqué par du carbone 13
- d) Un isomère radioactif

14) Lorsque LC-MS est utilisé pour l'analyse du thiouracile, les deux meilleures options pour un standard interne sont :

- a/ Uracil
- b/ ^{13}C -thiouracile
- c/ ^3H -thiouracile
- d/ Dimethylthiouracile

15) L'assurance qualité en laboratoire est de préférence basée sur :

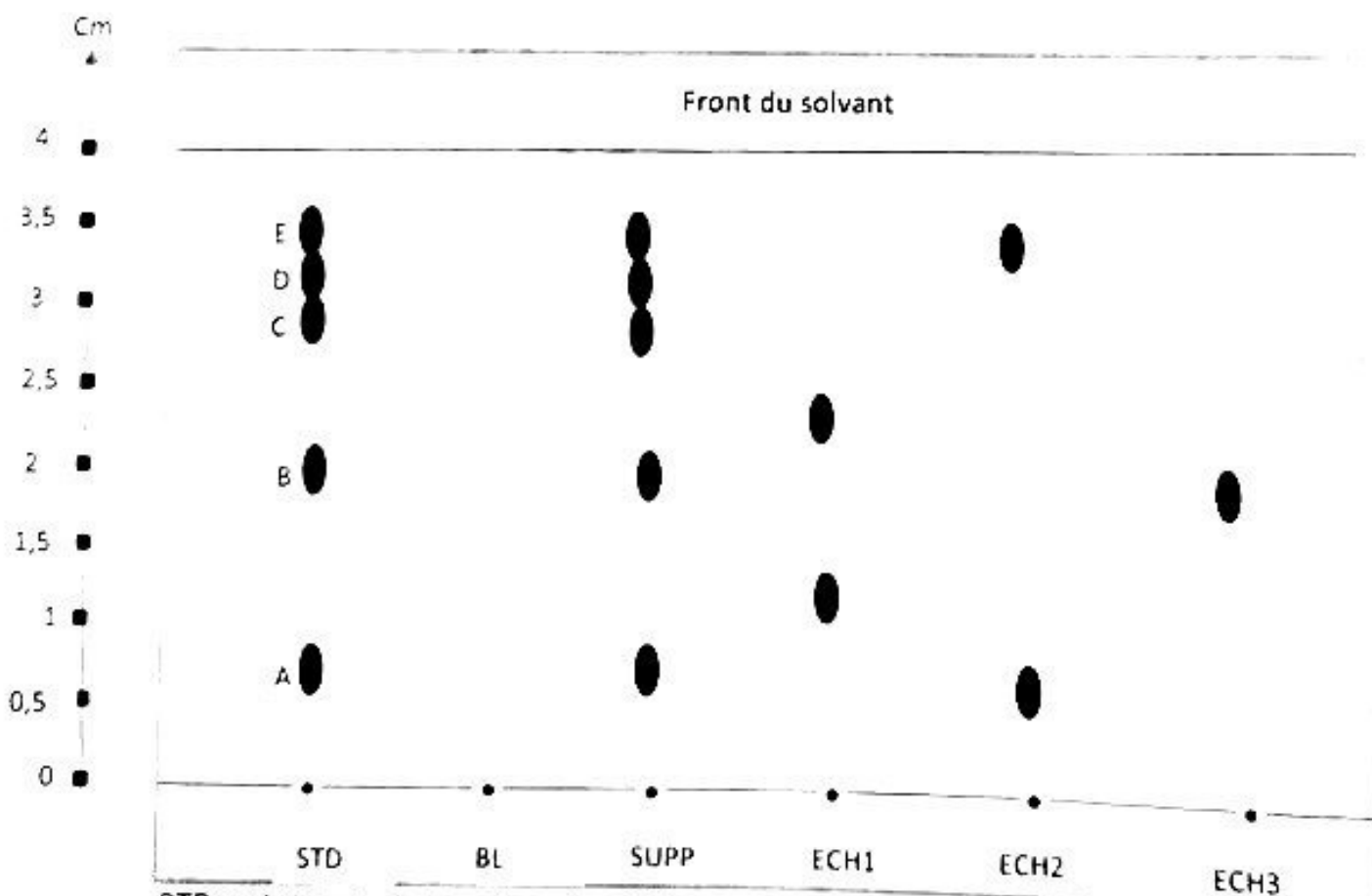
- a/ ISO9001
- b/ ISO17025
- c/ ISO2005 2008
- d/ ISO2002/657

16) Lesquelles de ces étapes ne sont pas utilisées dans SPE?

- a/ Conditionnement
- b/ Lyophilisation
- c/ Échantillon de chargement
- d/ Elution de composés interférents
- e/ Elution d'analytes

Exercice II : 3 points

Le contrôle des échantillons (ECH1, ECH2 et ECH3) se fait par chromatographie sur couche mince (CCM). après extraction et purification et en utilisant un éluant Hexane/ acétonitrile (25%/75%) on obtient la plaque suivante



STD : solution standard contenant les différentes composantes recherchées (A, B, C, D et E)
 BL : échantillon blanc exempté des composés recherchés
 SUPP : échantillon supplémentés par une solution contenant les composés recherchés
 ECH1, ECH2 et ECH3 : échantillons à contrôler

- 1) Expliquer ce qui se passe pendant une chromatographie et décrire le principe de la COM
- 2) Définir et calculer le Rf de chaque composante et en déduire l'ordre de solubilité de chaque composant dans l'éluant
- 3) Sachant que les composantes recherchées sont interdites ; interpréter les résultats trouvés à partir de la plaque et donner une conclusion
- 4) Si les composantes séparées sont très polaires (ordre de polarité $E > D > C$) quel changement peut-on effectuer pour séparer mieux les composantes C, D et E

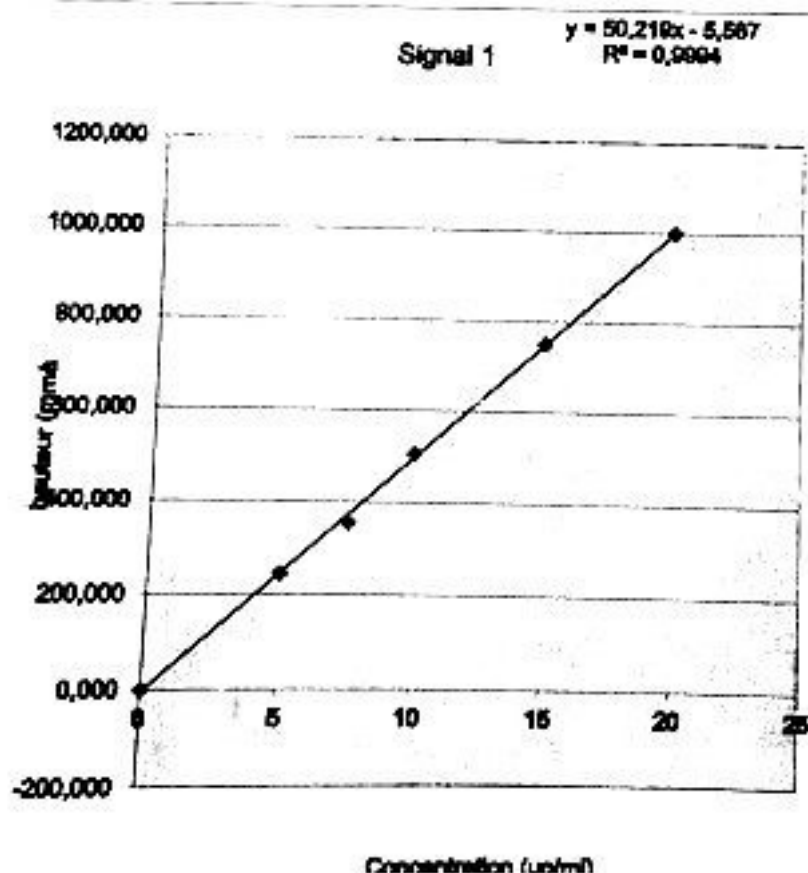
Exercice III : 6points

Le dosage d'une solution M de densité 1,05 contenant 5mg/ml d'oxytétracycline se fait par chromatographie liquide haute performance HPLC avec les conditions chromatographiques suivantes :

- Phase stationnaire : silice greffée C18, 150x4 mm 5 μ m avec précolonne C18, 4x4 mm 5 μ m
- Phase mobile : 80% acétonitrile et 20% H₂O
- Débit: 1.2 mL/min
- Détection UV à 272nm

Après préparation de deux échantillons (E1) et (E2) en diluant 2g de la solution M dans 10ml du méthanol puis une autre dilution dans la phase mobile de 1,5/100 ml et une gamme d'un standard d'oxytétracycline Hcl (Molecular Weight: 496.897 g/mol) de pureté 90%, on obtient les résultats suivants :

	S1	S2	S3	S4	S5	E1	E2
Concentration oxytétracycline (μ g/ml)	5	7,5	10	15	20	X	Y
Hauteur	245	355	505	750	999	745	749



- 1) Définir chaque paramètre de la phase stationnaire silice greffée C18-150x4 mm 5µm en indiquant les différentes phases qui existent en mentionnant laquelle est utilisée dans notre cas et quelle est l'utilité d'une précolonne
- 2) Sachant que les spécifications de la solution contrôlée sont entre 4,75 et 5,25 mg/ml, calculer la quantité d'oxytétracycline
- 3) Calculer la quantité d'oxytétracycline pour (E1) et (E2) en utilisant une autre méthode de calcul sachant qu'on a les données suivantes :
Une solution standard est préparée en pesant une quantité de 11.2mg d'oxytétracycline Hcl qu'on dissout dans 10ml du Méthanol puis on fait une dilution avant injection de 0,5/50 dans la phase mobile qui donne une hauteur de 931
- 4) Que peut-on conclure sur la conformité du produit? Donner une suite

Exercice IV : 7 points

La recherche des résidus du chloramphénicol (CAP), qui est une molécule interdite avec un LPMR =0.3 ppb dans les matrices biologiques se fait par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS / MS) en tenant compte des critères de la décision 2002/657 EC

Une série de 04 échantillons a été analysée au même temps, après extraction avec l'acétate d'éthyle, évaporation du solvant, ajout de l'eau et de l'isooctane, centrifugation et injection 10 µl de la phase aqueuse avec les conditions suivantes :

Les conditions chromatographiques et détection par LCMSMS :

Phase mobile : A: H₂O /B: ACN

Temps (minute)	A	B
0	80	20
2	20	80
4	20	80
6	80	20
8	80	20

Phase stationnaire : silice greffée C18, 150x4 mm 5µm avec précolonne C18, 4x4 mm

Débit : 400 µl/min

Volume d'injection : 10 µl

Temps d'analyse : 8 min

Ionisation : turbo Spray, mode négatif

Température de source : 500°C

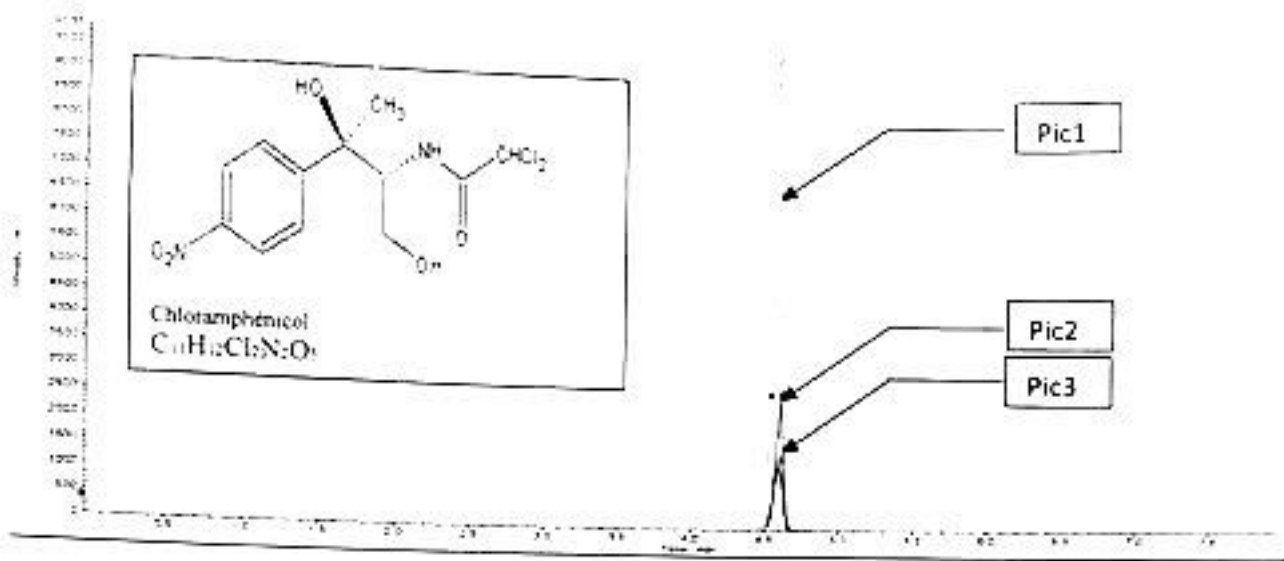
CUR = 25 GS1 = 35 GS2 = 45 IS = - 2500 V

CAD = Medium EP = - 15

Détection : mode MRM :

	Ion précurseur (m/z)	Ions produits (m/z)	Dwell time (msec)	DP	CE	CXP
CAP1	320,9	151,9	200	-60	-22	-10
CAP2	320,9	256,9	200	-60	-15	-10
CAP-D5	325,9	156,9	200	-60	-15	-10

On obtient les résultats suivants :



Sample Name	Analyte peak name	Analyte peak height(cps)*	Analyte retention Time (min)	IS peak height(cps)*	IS retention time (min)
Std équivalent à 0,1ppb	CAP1	1,72E+03	4,6	7,12E+03	4,58
Std équivalent à 0,1ppb	CAP2	1,01E+03	4,6	7,12E+03	4,58
Solvant (H2O)	CAP1	0,00E+00	0	0,00E+00	4,58
Solvant (H2O)	CAP2	0,00E+00	0	0,00E+00	4,58
Blanc	CAP1	0,00E+00	0	2,75E+03	4,58
Blanc	CAP2	0,00E+00	0	2,75E+03	4,6
Supp à 0,1ppb	CAP1	5,43E+02	4,6	2,76E+03	4,58
Supp à 0,1ppb	CAP2	3,09E+02	4,6	2,76E+03	4,58
Solvant (H2O)	CAP1	0,00E+00	0	0,00E+00	0
Solvant (H2O)	CAP2	0,00E+00	0	0,00E+00	0
ECH1	CAP1	0,00E+00	0	2,00E+03	4,58
ECH1	CAP2	0,00E+00	0	2,00E+03	4,58
ECH2	CAP1	2,30E+03	4,6	2,68E+03	4,58
ECH2	CAP2	1,59E+03	4,6	2,68E+03	4,58
ECH3	CAP1	1,10E+03	4,6	2,36E+03	4,58
ECH3	CAP2	7,50E+02	4,6	2,36E+03	4,58
ECH4	CAP1	7,30E+03	4,3	2,57E+03	4,59
ECH4	CAP2	4,50E+03	4,3	2,57E+03	4,59
Blanc	CAP1	0,00E+00	0	2,56E+03	4,59
Blanc	CAP2	0,00E+00	0	2,56E+03	4,59
Std équivalent à 0,1ppb	CAP1	2,22E+03	4,6	9,28E+03	4,59
Std équivalent à 0,1ppb	CAP2	1,16E+03	4,6	9,28E+03	4,59

* E+03 = 1000

- 1) Quels sont les deux modes de travail possibles en HPLC ? Expliquer brièvement ce qu'est chacun de ces modes et lequel est utilisé dans notre cas.
- 2) Expliquer le principe de la LC-MS-MS, donner un schéma simplifié et indiquer les différentes modes d'ionisation en expliquant quand on utilise chaque mode
- 3) Expliquer l'intérêt et l'indispensabilité de l'ajout d'un étalon interne, et lorsqu'un étalon interne marqué par un isotope stable est utilisé combien de positions doivent être marquées
- 4) Expliquer les différentes étapes d'extraction, le but d'ajouter un échantillon blanc et un échantillon supplémenté dans la série à contrôler, l'injection d'un solvant (H2O) et aussi l'intérêt de l'injection d'un standard au début et à la fin de la série

5) Que signifie le sigle MRM ? Interpréter le chromatogramme MRM en indiquant les transitions caractéristiques de chaque pic et le contrôle qualité qu'on doit vérifier concernant la série des échantillons à analyser. Lors d'une situation hors contrôle est détectée que peut-on faire ?

6) Sachant que CCalpha Trouvé lors de la validation de la méthode du cap est égale à 0.1 ppb, définir CC alpha et Calculer la quantité du cap pour chaque échantillon (E1, E2, E3 et E4), quelle décision peut-on tirer, décrire quelle stratégie a été utilisée pour analyser ces échantillons et laquelle peut-on faire pour confirmer les résultats trouvés.

Les critères définis dans la décision de la commission 2002/657/CE :

- Le temps de rétention relatif de l'analyte détecté doit être identique à celui des échantillons supplémentés dans la limite de $\pm 2.5 \%$.
- Au minimum 2 transitions spécifiques doivent être détectées dans les échantillons à analyser avec un rapport signal/bruit > 3 .
- Les intensités relatives des transitions dans les extraits doivent être comparées aux intensités relatives des échantillons supplémentés et respecter les limites de tolérance suivantes :

Ion m/z Intensité relative (% du pic de base)	CL/SM-SM
$> 50 \%$	$\pm 20 \%$
$> 20 \text{ à } 50 \%$	$\pm 25 \%$
$> 10 \text{ à } 20 \%$	$\pm 30 \%$
$\leq 10 \%$	$\pm 50 \%$