

Bases scientifiques et techniques de la conservation des DAOA : autres procédés de conservation

Autres moyens d'inhiber & détruire les bactéries des aliments

## Acidification – Ionisation – Pascalisation ...

### Introduction/Révision en 4 questions:

#### 1- Pourquoi conserver les aliments ?

Pour manger pour survivre, en ajustant production et consommation. *Rappelle toi le film "Into the wild" : Christopher tue un élan: il ne peut garder la viande et perd tout, jusqu'à sa vie !*

#### 2- Qu'est-ce qui gâte l'aliment ?

La dégradation des aliments est surtout due aux **germes** (bactéries, moisissures). Mais aussi aux "pests" (insectes, rats), aux **enzymes** (peroxydase pts pois, galacturonase tomates...), et à des facteurs chimiques (oxydation des lipides) et physiques (transfert de gaz dans l'oeuf).

#### 3- Comment résister aux microbes ?

Pour conserver les aliments, il faut combattre les germes, par 3 approches complémentaires :

- 1- Eviter la contamination,
- 2- Tuer les germes, et/ou
- 3- Inhiber leur développement =>



#### 4- Le plus important de **tout** ce cours (pas seulement ma petite part): @ChoTu-FRoiBlok

1- On peut **tuer les bactéries par la chaleur**. Retenir qq t°C critiques + expliquer D& z

2- On peut **inhiber les bactéries par le froid**. Il faut retenir quelques t°C critiques

3- Les aliments "**secs**" ou "**acides**" sont **protégés**. Il faut savoir quelques **a<sub>w</sub>** et pH critiques

Vous avez déjà vu comment tuer les germes ou limiter leur développement dans les aliments :

- par le froid (la frigorification avec Geneviève Bénard)
- par l'addition de sel et la baisse de l'Aw (la salaison avec Jean-Denis Bailly)
- par les atmosphères modifiées ou les changements redox (avec Geneviève Bénard)
- et leur destruction par la chaleur (pasteurisation et appertisation)

Nous allons voir des méthodes « mineures » (sauf l'acidification) qui vont compléter ces moyens par lesquels l'homme sauve « son steak » de ses microscopiques concurrents (les germes) :

- L'**acidification** et les modifications du pH des aliments
- L'utilisation d'autres **conservateurs** antimicrobiens
- La mise en place de « barrières » physiques (emballages au sens large)
- l'utilisation combinée de plusieurs « barrières » physico-chimiques agissant en synergie

Et des méthodes physiques récentes pour détruire (en fait décimer) les microbes d'un aliment

- l'**ionisation** (ou irradiation) de l'aliment
- la **pascalisation** (ou utilisation des hautes pressions)
- l'utilisation de champs pulsés (électromagnétique, lumineux, sonore, ...)

# Acidité, pH des aliments



**Les bactéries se multiplient bien vers pH 7**  
Chaque bactérie a un pH optimal (entre 4.5 et 9).

Même les pathogènes relativement acido-tolérants (Staphylocoques et Listeria, pH minimum de croissance 4.3), poussent très mal **sous pH 4.5**. Les bactéries lactiques, non pathogènes, ont un pH optimal de 5.

La réglementation dit que **Les aliments acides pH < 4.5 sont stables** (ou considérés comme tels : pas de croissance bactérienne)

Les **moisissures** (pH 1.5 à 10) et les levures (pH 2 à 9) ont des pH optimaux plus bas que les bactéries: **les aliments acides moisissent facilement** (pensez aux oranges) @pH BaMoi 4.5-1.5

**Quel est le pH des aliments ?**      **Yogourt pH 4.5**      **Jus et fruits pH 4 (3.5-4.9)**  
Citron pH 2.3, Vin pH 2, Coca pH 1.5, Estomac pH 1



Certains aliments sont "très" acides: pas de croissance bactérienne possible (mais les moisissures croissent lentement à pH 4)

*Attention ! Ne pas confondre le pH de l'aliment mesuré au pH-mètre, et l'effet « neutralisant » après métabolisation : quand les acides organiques des fruits et légumes ont été oxydés par les cellules en CO<sub>2</sub>, ce qui reste dans l'organisme sont les cations « basiques » (Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>) qui font monter le pH de l'organisme. Fruits et légumes sont donc considérés comme « neutralisants » ou « basifiants ». De même, la cendre est très basique.*

D'autres aliments sont aussi relativement acides et donc **relativement protégés**,

- **Viande pH 5.6** (après la phase de rigidité cadavérique, mais viande surmenée pH 6.2)
  - Légumes pH 5.2-6.2 moins bien protégés que les fruits. Mais leur structure "cellulaire" rigide et leur pauvreté en protéines limite le développement bactérien dans les légumes, sauf pour des bactéries spécialisées non pathogènes pour nous (ex : *Erwinia carotovora*).
  - Le blanc d'œuf monte à pH 9 (après quelques jours) : trop basique pour les salmonelles.
- Par contre les **aliments neutres, comme lait et poisson sont très "fragiles" : pH 6.6.**

## Les acides organiques sont-ils tous équivalents ?

- C'est la **forme non-dissociée des acides organiques qui inhibe les bactéries** (AH et non (A<sup>-</sup> & H<sup>+</sup>) car elle entre dans les cellules. La forme dissociée est ionisée (A<sup>-</sup> & H<sup>+</sup>) : les ions hydrosolubles ne traversent pas la membrane lipidique. La dissociation d'un acide faible diminue avec le pH (s'il y a plein d'H<sup>+</sup> dans l'eau, ils "se collent" à l'acide faible A<sup>-</sup> => AH).
- Donc, **à pH acide, les acides organiques sont plus efficaces** contre les bactéries, car moins dissociés qu'à pH neutre ils entrent mieux dans les cellules.

Mais tous les acides ne sont pas pareils, ainsi, à pH 4

- 20% de l'acide citrique est non-dissocié, alors que
- 85% de l'acide acétique est non-dissocié.

L'acide acétique sera donc plus antibactérien que l'acide citrique à pH 4  
Conséquence: une mayonnaise acidifiée au vinaigre a moins de risque de provoquer une salmonellose qu'une mayonnaise acidifiée au jus de citron.



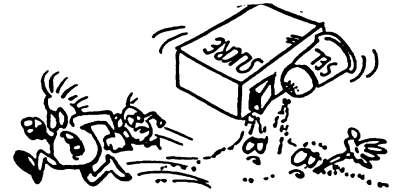
## Pourquoi les bactéries sont-elles inhibées à pH acide ?

- Modification de la **disponibilité des métaux** du milieu (co-facteurs enzymatiques)
- Modification de la **perméabilité membranaire** (perméases des cations bloquées par H<sup>+</sup>)
- Ralentissement du métabolisme enzymatique: si **les acides entrent dans la cellule** (cf. ci-dessus) le cytoplasme s'acidifie et les **enzymes** intracellulaires ne sont plus au pH optimum.

**Peut-on acidifier un aliment « neutre » ?** Oui, par ajout d'acide acétique, lactique, citrique... ou par **fermentation** (lactiques, alcoolique, ...) : yaourt, pain, vin, choucroute, saucisson

## Conservateurs / antimicrobiens

Ils peuvent être **extrinsèques** si on y plonge l'aliment (cerises à l'eau de vie, "petit salé"), ou si on les ajoute à l'aliment. Pour certains d'entre eux ils sont **aussi intrinsèques** lorsqu'ils sont présents naturellement dans l'aliment.



**Chlorure de Sodium** : NaCl Un conservateur essentiel.

L'utilisation du sel vous a été déjà bien exposée en cours.

Son effet majeur sur les bactéries est d'inhiber la croissance en **diminuant l'activité de l'eau  $a_w$**

**Nitrates NO<sub>3</sub> et nitrites NO<sub>2</sub>** (de Na ou K, E250 et suiv.). Utilisés en salaison (**max 150 ppm**) pour **inhiber *Clostridium botulinum*** (germination et croissance) et pour donner avec la myoglobine une belle **couleur rouge** et bon goût. Utilisé aussi sur certains fromages (Hollande) pour inhiber la germination des clostridies gazogènes qui les font exploser. Mode d'action antibactérien mal connu. Toxicité mineure (sauf pour nouveau-nés) vue ailleurs.



**Sulfite** de sodium (E220): Contrôle la vinification (inhibe bactéries et moisissures en épargnant les bonnes levures), Anti-oxydant du vin. Ajouté aux fruits secs (pruneaux). Toxico: cf. TD Etiquetage des aliments

### Acides organiques

- **Acides gras volatils**: acide **acétique** CH<sub>3</sub>-COOH et acétates (E260) : conserve de *pickles*, cornichons, marinades (poisson) dans le vinaigre. **Propionate** CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-COOH de calcium (E280 antifongique / pâtisseries sous plastique, sans effet sur levure boulanger).
- **Acide sorbique** (E200 avec 6 C & 2 =) et acide benzoïque (E210 cycle C<sub>6</sub>-COOH) inhibent moisissures et levures. Acide **ascorbique**, **citrique** (E330) et **lactique** ajoutés: baisse du pH.
- **Fermentations** : **Acide** propionique naturel du gruyère anti-moisissures. Acide lactique naturel du yogourt. Acide acétique de la choucroute. Toxicité nulle.
- **Alcools** : les produits fermentés se conservent (le vin contient plus de 10% d'alcool et son pH <4). Les pâtisseries contenant un peu d'alcool (ajouté) ne moisissent pas. Toxicité assez forte.

**Fumage**: traitement par la chaleur et élimination d'eau et dépôt de substances antiseptiques, notamment acides, phénols, et aldéhydes (mais risque de dépôt de cancérigènes comme le benzo-a-pyrène si fumage mal conduit)

**Sucre** : utilisé dans **les confitures**, le sucre diminue l'activité de l'eau,  $a_w$  (comme le sel, mais moins fortement). De plus, la cuisson solubilise la pectine des fruits, qui se solidifie en refroidissant, mais uniquement s'il y a assez de sucre. Le gel formé limite la dispersion des contaminants et la progression des microbes.

**Antibiotiques** : en France, c'est interdit d'ajouter un antibiotique dans l'aliment (la Nisine, antibiotique produit par *Lactococcus lactis*, est ajoutée dans des fromages aux USA pour lutter contre *C. perfringens* et listeria. En Israël on ajoutait de la tétracycline aux fraises !)

### Protéines inhibitrices du lait et de l'œuf :

- **Lysozyme**: lyse la paroi des bactéries Gram+ (important dans lait de femme)
- Lactoperoxydase + eau oxygénée, détruit les streptocoques (utilisé pour pasteuriser à froid)
- Lactoferrine: chélate le fer => les bactéries en manquent. (important dans lait de femme)
- **L'œuf** aussi contient du lysozyme, et des globulines chélatant le fer.

**Condiments et épices**: Thym, menthe, poivre, clou de girofle, ail, oignon, citron, huile d'olive contiennent des molécules antimicrobiennes. Leur effet n'est pas très fort, mais s'ajoute aux autres facteurs. Ce sont souvent des anti-oxydants puissants, empêchant le rancissement.

## Interactions entre Micro-Organismes dans l'Aliment

On distingue, comme pour les interactions entre animaux ou végétaux, différents types d'interactions: neutralisme, coopération (croissance favorisée des 2 bactéries en présence), commensalisme (meilleur développement de A sous l'influence de B), compétition ou antagonisme (croissance défavorisée des 2 bactéries), amensalisme (B inhibe A sans en tirer de profit), parasitisme.

Trois exemples d'interactions importantes dans les aliments:

- **Coopération** (mutualisme): le **yaourt résulte de l'action de 2 ferments lactiques** à 40-45°C. *Streptococcus thermophilus* produit des facteurs de croissance favorables à *Lactobacillus bulgaricus*, et vice-versa. Au début de la fermentation, ce sont surtout les "streptos" qui agissent, puis ils laissent progressivement la place aux "lactos", plus résistants en milieu acide. Les 2 germes fermentent donc le lait plus vite et mieux qu'un seul germe.
- **Compétition** (antagonisme): les microorganismes ont besoin d'un même substrat pour croître. C'est donc le microorganisme le plus rapide au niveau de son métabolisme qui domine. On a ainsi: bactéries > levures > moisissures: les bactéries procaryotes se multiplient plus vite que les eucaryotes en conditions optimales ( $A_w$  élevé, pH neutre, aliment sucré).
- **Inhibition** (amensalisme): *Leuconostoc* et **Lactobacilles synthétisent des bactériocines**. Ces protéines, actives surtout contre les Gram-, **inhibent les Listeria** (G+). Ces interactions jouent un rôle en industrie laitière. Cependant, les industriels n'utilisent actuellement pas de souches spécifiquement sélectionnées sur ce critère (recherches actives aux USA).

## Structure physique et composition chimique de l'aliment

### Structure physique de l'aliment : Obstacles & barrières naturelles:

*La "peau" est un "emballage" naturel anti-contamination, qui bloque les microbes*

- Peau etaponévroses des animaux, et de leurs muscles
- Coquille et membranes coquillières de l'œuf entier
- "peau" des fruits, paroi des cellules végétales
- Graisse solide isolant les parties aqueuses (confit, rillettes, beurre, mayonnaise = émulsion)
- Inversement, les liquides (lait, sang) ne présentent pas d'obstacle à la diffusion des germes.

Souvent les **procédés technologiques conduisent à enlever ou fragiliser ces barrières**.

On doit donc les reconstituer si possible: emballages divers, "croûte" du pain et du fromage, gels et émulsions qui "immobilisent" les bactéries, emballages (verre, métal, plastique) et tous les autres procédés vus ici (pH,  $a_w$ , t°C)

### Nutriments favorables aux bactéries : Composition de l'aliment:

- Les aliments d'origine animale ou végétale sont a priori favorables au développement bactérien, car ils contiennent tous les nutriments nécessaires. Cependant l'équilibre de ces nutriments peut favoriser tel ou tel germe. Ainsi les produits **sucrés** (jus raisin) favorisent les levures.
- Les bactéries utilisent plus facilement le glucose que l'amidon, et les acides aminés que les protéines, mais beaucoup de micro-organismes ont des enzymes protéolytiques.
- Beaucoup de bactéries, les pathogènes notamment, se développent particulièrement bien sur les **denrées animales**, jus de viande et jaune d'œuf notamment (pH neutre et riches en protéines et facteurs de croissance).

## Synergie des inhibitions – technologie des Barrières

**Technologie des Barrières**, ou « haies » (*hurdles* en anglais): chacun des facteurs de maîtrise du développement microbien peut être considéré comme une "barrière". Les germes, pour se développer, pour arriver au but, doivent "sauter" successivement toutes les "haies". C'est une image, bien sûr, mais l'apposition de plusieurs barrières peut permettre d'éviter la multiplication microbienne:



**L'effet cumulé de plusieurs facteurs permet de préserver l'aliment, même si chacun est insuffisant** (non inhibiteur pris individuellement).

Ainsi, une préparation alimentaire est pratiquement **stabilisée si soit  $a_w \leq 0.91$**  (ex.: pain) **soit  $pH \leq 4.5$**  (ex.: yogourt)

elle est stable aussi si  **$a_w < 0.95$  –  $e_t$  –  $pH < 5.2$**  (ex.: saucisson)

**Synergie:** Un exemple simple est la baisse de thermorésistance des spores aux pH acides (*tu sais, le citron qu'on ajoute dans la boîte de sardines avant autoclavage*).

- **L'association de facteurs inhibiteurs permet d'inhiber les bactéries.** Par exemple pour inhiber *C. botulinum* dans les poissons fumés sous vide, on associe : (froid + sel + fumée + cuisson). Et pour les "Roll Mops" (petits poissons en "pickle") on associe (froid + sel + pH + acide sorbique). Mais ces facteurs multiples se prêtent moins à une réglementation précise et chiffrée qu'un inhibiteur unique. De plus ces facteurs évoluent souvent dans le temps (par ex. le taux de nitrite diminue peu à peu dans les saucissons, ce qui serait dangereux si en même temps le saucisson ne séchait (perte d'eau = baisse de l'  $a_w$ ). On fait donc des tests spécifiques, et on propose des modèles de **microbiologie prévisionnelle**.

- **Un exemple avec Six Barrières** (Leistner, 2000):

Chauffage F, Réfrigération t, Sécheresse  $A_w$ , Acidité pH, Oxydo-réd. Eh, Additifs Add



Pour « surmonter une barrière », la théorie postule qu'il faut un certain nombre de bactéries au départ dans l'aliment. C'est clairement démontré dans le cas du chauffage : une pasteurisation ne suffit pas à tuer toutes les bactéries pathogènes d'un aliment fortement contaminé (*cf. cours sur D et z*). **Il s'agit d'une image**, mais à chaque nouvelle barrière, il y a moins de bactéries « prêtes à sauter », et finalement aucune ne peut surmonter la succession de toutes ces « haies » : la dernière barrière arrête tout.

- Un phénomène participe à l'efficacité des « haies » c'est l'auto-stérilisation de l'aliment par épuisement métabolique des bactéries. Placées dans un environnement qui ne permet pas la croissance, mais qui exige une activité pour maintenir l'homéostasie (pH bas, pression osmotique élevée), les bactéries doivent « lutter » pour survivre et meurent assez vite à température ambiante (mais pas au froid qui au contraire « les économise »).

- Cette technologie prend de l'importance car (1) on cherche à diminuer l'intensité des facteurs de conservation (ex. jambon moins salé), et (2) les ordinateurs permettent de faire des plans d'expérience, et de visualiser les résultats simultanés de nombreux facteurs sur la croissance bactérienne ou la toxigenèse. On en reste cependant souvent (notamment dans ce cours) à des relations « dose-effet » simples modélisées sur une courbe (X-Y) en 2D.

# Microbiologie Prévisionnelle



On cherche à prévoir la vitesse de développement d'un germe dans des conditions écologiques données, et ainsi **déterminer une Date Limite de Consommation (DLC)**. Il ne s'agit plus de tuer ou d'inhiber "complètement" les bactéries, mais de **prévoir leur croissance**, pour vendre ou consommer l'aliment avant qu'il n'y ait danger ou dépassement des normes réglementaires.

**Exemple** : microbiologie prévisionnelle du développement de listeria sur du jambon de Paris

Jambon cuit :  $\text{pH} = 6.5$   $a_w = 0.98$  conservé à  $4^\circ$

Listeria : conditions minimales de croissance  $\text{pH} = 5.2$   $a_w = 0.92$   $t^{\circ}\text{mini} = 1^\circ$

Il y a donc risque de développement de listeria sur ce jambon (très lentement), qui, même s'il est stérile au départ, peut se contaminer chez le charcutier ou chez le consommateur, et qui est souvent gardé longtemps. Nous n'avons pas de moyen de bloquer ce développement de façon « absolue », et il y a eu des listérioses dues au jambon blanc. Il faut donc déterminer la DLC.

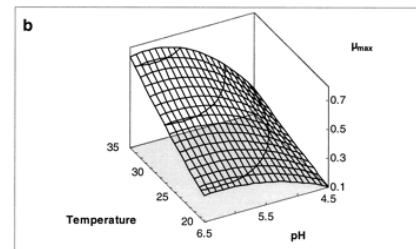
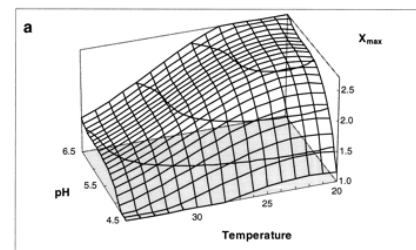
Cette DLC est fixée à partir de **tests expérimentaux**:

on **inocule** expérimentalement du jambon avec une listeria, et on **dénombre** les listeria après différents temps.

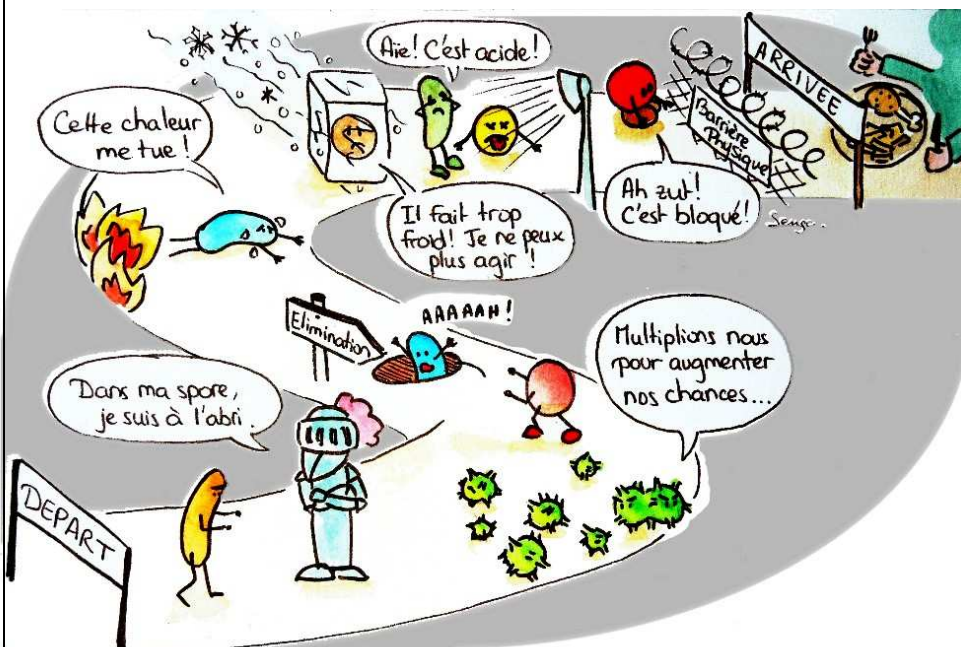
Mais on ne peut tester pas "toutes" les combinaisons des valeurs de pH,  $a_w$ , et température (sans parler des autres paramètres : sel, sucre, nitrite, ...).

La microbiologie prévisionnelle cherche donc à établir, à partir des données expérimentales, un **modèle mathématique** prévoyant le développement d'un microorganisme en fonction des valeurs des paramètres.

On va établir des courbes et prévoir non seulement la **vitesse de croissance** (taux de croissance exponentielle), mais aussi la **phase de latence**, et le **maximum de densité** bactérienne possible. A partir de ces courbes, l'industriel va éventuellement revoir ses formulations et ses procédés de fabrication, dans le cadre de son plan HACCP, et pourra **proposer une DLC sur une base rationnelle**.



*La microbiologie prévisionnelle c'est l'avenir, mais ce n'est pas encore parfait !*



**En savoir plus** sur la microbiologie prévisionnelle ?

- Revue de synthèse *open access*  
Delhalle L et al. Les modèles de croissance en microbiologie prévisionnelle pour la maîtrise de la sécurité des aliments  
Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2012 16 (3), 369-381  
<http://www.pressesagro.be/base/ext/v16n3/369.pdf>

- Logiciel basé sur les modèles de microbiologie prévisionnelle pour aider les IAA à calculer DLC et DLUO et à raisonner le HACCP  
<http://www.symprevius.org/>

# Ionisation = Conserver les aliments par irradiation

**1- Principe.** Ioniser c'est soumettre des denrées alimentaires à l'action radiations ionisantes pour les assainir ou les stériliser, et augmenter durée de vie commerciale.

On peut utiliser trois types de rayonnements électromagnétiques :

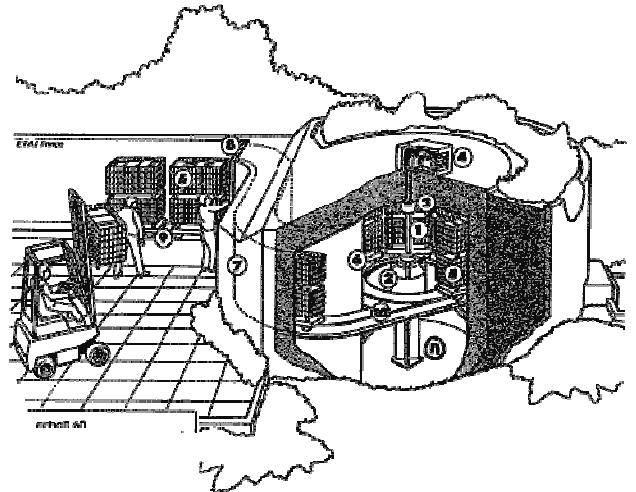
1. **Rayons gamma** émis par du **cobalt 60**, très **pénétrants** (énergie 1 MeV)
2. électrons accélérés de moins de 10 MeV ( $e^-$ , contrairement à R.gamma & R.X = photons)
3. Rayons X d'énergie inférieure à 5 MeV (millions d'électrons volts). Pas utilisé en pratique.

Ces rayons éjectent des électrons des atomes, sans toucher au noyau atomique, ce qui donne des radicaux libres et **lèse l'ADN** (effet direct, recherché, microbicide). Ils génèrent aussi des produits de radiolyse (à éviter), surtout dans l'eau ou en présence d'oxygène (on traite donc à sec, congelé ou sous vide).

Trois avantages de l'ionisation pour assainir ou stériliser:

- traitement **à froid** : respecte produits fragiles mieux que le chauffage.
- traitement de produits **déjà conditionnés** : pas de recontamination bactérienne.
- **pas de résidus** : les produits de radiolyse sont instables (contrairement aux conservateurs).

Concrètement: La source de radiations est une masse de **cobalt 60** incluse dans des "crayons" d'acier inox, gardée sous terre dans une piscine (11, *storage pool*, profondeur 8 m). Les produits à ioniser suivent un circuit autour de la source remontée par un treuil (4), sur des nacelles guidées par un rail (10, *conveyor system*), transportant les palettes ou des *boxes*. Le circuit traverse un labyrinthe de béton (2 m d'épaisseur, 7-8, *shield*) empêchant la sortie des rayons directs (portes inutilisées). Coût fixe important: il n'existe pas de mini-ionisateur (en France, **5 établissements** agréés de traitement par ionisation des denrées alimentaires sont en activité). Sur les emballages, on colle des dosimètres: ce sont des pastilles qui changent de couleur après irradiation.

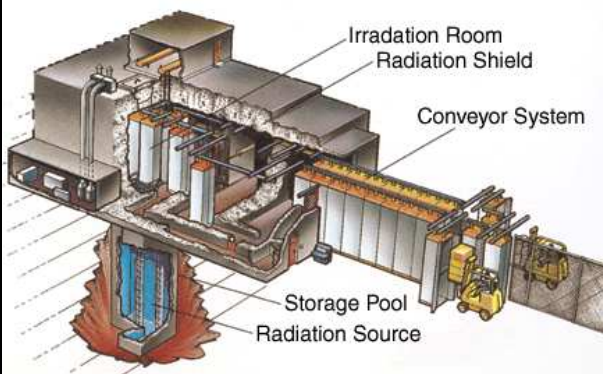


## 2- Une innocuité incontestée

**L'innocuité des produits irradiés est reconnue par tous les scientifiques**

Les produits irradiés ne peuvent devenir radioactifs que sous un rayonnement supérieur à **10 MeV** (le seuil d'action sur les **noyaux** atomiques est de 13 MeV). Même s'il y a surdosage, **les aliments ne peuvent donc pas devenir radio-actifs** (énergie cobalt: 1 MeV). La contamination par le cobalt radioactif est évitée par **confinement** du cobalt dans une double enveloppe en acier inox. Aucun contact = aucun danger "radioactif".

- **Aucune toxicité n'est détectée chez les animaux** nourris d'aliments ionisés, au contraire (animaux en meilleure santé que ceux qui mangent des aliments thermisés: moins de produits de Maillard dans les aliments). Facteur de sécurité de 2000 pour les produits de radiolyse eux-mêmes ("purs"), dont la durée de vie est brève. L'ionisation remplace l'usage de conservateurs toxiques (carbamate /germination, acide benzoïque /crevettes, oxyde d'éthylène & bromure de méthyle /fumigation).



- **Aucun produit de radiolyse n'est "spécifique"** du traitement = on retrouve les mêmes après chauffage, sauf les alkylcyclobutanones (issues de l'acide palmitique, trouvées dans les viandes irradiées en dose très faible : Facteur de sécurité supérieur à 2000). C'est un avantage pour la toxicité, mais un inconvénient réglementaire: c'est dur de prouver l'ionisation d'un aliment.
- En 1980 l'OMS concluait à l'absence de risque pour l'homme des denrées traitées à moins de 10kGy. En 1997, FAO/OMS concluent à l'innocuité de la technique quelque soit la dose!

Il y a cependant quelques **inconvénients** à l'utilisation des radiations ionisantes:

- l'excellente conservation des aliments irradiés **les fait apparaître plus frais qu'ils ne sont** : cette technique pourrait donc engendrer un avantage concurrentiel chez ceux qui l'utilisent de façon illicite. On peut considérer que c'est une « tromperie » du consommateur.
- l'utilisation de Cobalt 60 dans les « ionisateurs » impose des contraintes de sécurité sévères.
- les radicaux libres produits par l'irradiation sont en quantité très faible, et disparaissent rapidement, mais on ne peut exclure absolument des effets toxiques (non démontrés à ce jour).
- Enfin **l'identification** des produits traités est **très difficile**, puisque pratiquement aucun produit de radiolyse n'est spécifique, et ils sont labiles. Elle repose sur des méthodes complexes: résonance paramagnétique électronique, thermoluminescence, nature des lipides mineurs.

### 3- DOSES ionisantes et EFFETS biologiques (à savoir)



#### DOSES ionisantes et EFFETS biologiques (à savoir)

<u>kGy = kilo Gray</u>	<u>Effet</u>	<u>Nommé</u>
0.1 kGy	inhibe <b>la germination</b> (bulbes, tubercules)	
1 kGy	retarde maturation des fruits (ex: fraises)	
1 kGy	tue <b>les insectes</b> , les parasites	radurisation
<b>5 kGy</b>	<b>pasteurise</b>	radicidation
<b>&gt;10 kGy</b>	<b>stérilise</b> (25-50kGy, mais c'est interdit)	radappertisation

**Gray = unité de dose absorbée.**

1 Gy = absorption de 1 joule par un kg = 100 Rad, ancienne unité

*Les gens ont peur de l'ionisation, pourtant très sûre (d'après données actuelles). Mais 0.5 kGy tue une étudiante !*

L'ionisation n'est pas magique: si la contamination est trop forte, la stérilisation sera incomplète ! Comme pour les traitements thermiques, on parle de **dose de réduction décimale** (cette D<sub>10</sub> réduit la population bactérienne d'un log, donc de 90%, et dépend du germe). Suivant les produits, il faut 25 à 50 kGy pour stériliser vraiment. Mais c'est interdit d'ioniser à plus de 11 kGy un aliment pour l'homme (exception : viande des astronautes : 40 kGy). Pour les insectes, signalons l'éradication de la **lucille bouchère** en Afrique du Nord par lâcher de mouches stériles: irradiées à 0.06 kGy.

Pour les aliments, la dose moyenne doit rester **inférieure à 11 kilo Gray = 11 kGy**

Cette dose tue les non-sporulés, mais ne stérilise pas complètement. On ne peut donc pas utiliser l'ionisation pour des aliments trop contaminés, ni pour produire des aliments stabilisés.

**L'ionisation a peu d'effets sur les nutriments.** Protéines et glucides très peu affectés. **Les lipides rancissent** oxydation des Acides Gras PolyInsaturés (ioniser congelé ou sous vide). Les **vitamines sont sensibles**, surtout les vitamines liposolubles (A & E), mais **pas plus** qu'à un traitement par la chaleur.

**UNITES:** L'unité d'activité radionucléaire, le Becquerel (Bq) correspond à une désintégration par seconde.

C'est une unité minuscule : notre corps fait 7000 Bq! L'unité de **dose**, le Gray = absorption de 1 joule /kg L'unité d'**énergie** d'un rayonnement est l'électron-volt. 1 MeV= 1.6 10E-13 Joules. Si ionisation par électrons accélérés (peu utilisée en pratique), la loi impose une énergie inférieure à **10 MeV**, pour ne pas toucher le noyau.



#### 4- Réglementation: liste positive et étiquetage.

Premier décret du 8 mai 1970.

**Directives Européennes 99/2 & 3/CE**, du 22/2/1999, transcrites par Arrêté du 20 Août 2002.

**Liste positive:** Toute ionisation est interdite sauf celles autorisées.

**L'installation doit être agréée.**

**L'ionisation doit s'appliquer à des produits salubres** (normes sur nombre de germes dans l'aliment avant irradiation)



**Logo Radura.** Mention obligatoire d'étiquetage. La Directive Européenne de 1999 impose la mention "traité par ionisation" ou "traité par rayonnements ionisants" sur tout produit contenant un ingrédient ionisé (même en très faible quantité, par ex. herbes, épices & aromates).

Voici quelques produits parmi les 14 de la **liste positive** française (08/2002)

Produit	But	Dose	Tonnes**
<b>Herbes aromatiques, épices</b>	stériliser	10kGy	60 (2007)
<b>VSM* &amp; abats de volailles</b>	anti-salmonelles	5 kGy	1240 (2007)
Cuisses grenouille congelées	anti-salmonelles	5 kGy	687 (2007)
Légumes et fruits secs	anti-insectes	1 kGy	
Oignon, ail	anti-germination	0.1	
<b>Quantité totale irradiée en France</b>			<b>2140 (2007)</b>
Aliments /rongeurs de labo.	stériliser	60	25
Colostrum bovin /veaux	stériliser	10	

\* VSM, viandes séparées mécaniquement

\*\* Il est très difficile d'avoir des chiffres fiables, le tonnage d'aliments irradiés en France variant selon les sources et les années entre 3 000 et 20 000 tonnes par an.

Globalement la quantité irradiée baisse régulièrement, par ex de 5000 à 2000 tonnes de 2002 à 2007, mais c'est en partie remplacé par des importations de produits irradiés ailleurs (épices, crevettes et grenouilles congelées)

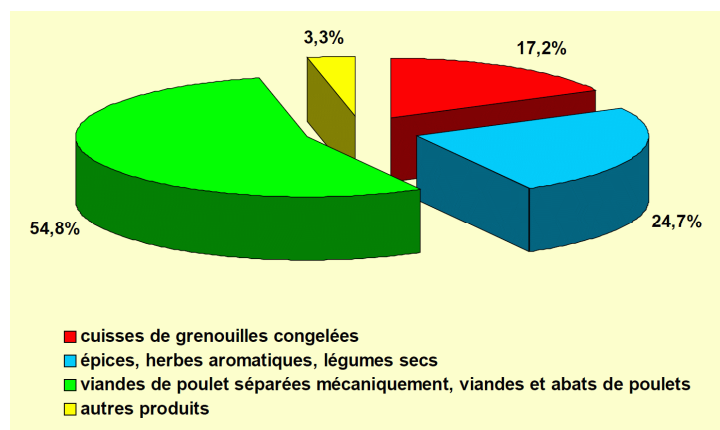
Les herbes aromatiques séchées et les épices sont fréquemment contaminés ou infestés par des micro-organismes, souvent sporulés. Cette contamination ne peut plus être traitées par des fumigants tels que l'oxyde d'éthylène ou le bromure de méthyle en raison des risques de toxicité de leurs résidus : L'ionisation semble la meilleure solution.

Autres aliments autorisés: crevettes surgelées (5 kGy), camembert au lait cru (contre listeria, depuis 1993), flocons & germes céréales (10 kGy), sang & plasma déshydraté (10), farine de riz (4), herbes aromatiques surgelées (10), blanc d'oeuf (3)

Demandes en cours: tisanes, poisson frais, VSM porc, charcuteries, plats cuisinés.

Autres applications importantes : **stérilisation du matériel médical plastique** (gants, seringues, tubes...), pharmaceutiques, de laboratoire. Décontamination des produits cosmétiques.

**France 2002 : 5000 t irradiées** (Foos 06)



Aux Etats Unis: steak haché bovin. En effet, ne pouvant de se dépêtrer des contaminations des viandes (par ex. 12 millions de Kg de viande hachées retirée du marché à cause d'*E.coli* O157:H7. Pb aussi avec *Salmonella* et *Campylobacter*), la FDA (food & drug administration américaine) a autorisé l'irradiation de la viande rouge fin 1997. En Belgique et aux Pays-Bas aussi, les quantités d'aliments irradiés sont plus importantes qu'en France alors que ces pays sont beaucoup plus petits.

Country	Tonnes/annum
Belgium	10,000
Chile	500
China	500
France	5,200
Japan	20,000
The Netherlands	18,000
Russia and former countries of USSR	400,000
USA	3,300

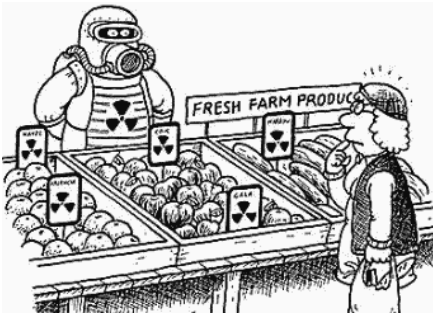
### Conclusion sur l'Ionisation

**En France, deux mille tonnes\* traitées par an dans 5 centres**, le double aux Pays-Bas et en Belgique, et 500 kt traitées en Russie pour désinsectiser des céréales.

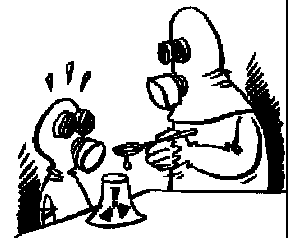
Mais pourquoi si peu en France ?

L'ionisation est techniquement au point (efficace et sans danger, rentable) mais elle est **mal acceptée** par le consommateur.

\* Il est difficile d'avoir des chiffres fiables, le tonnage d'aliments irradiés en France variant selon les sources et les années entre 2 000 et 20 000 tonnes: en tous cas, ça baisse régulièrement



**Peur** d'effets néfastes inconnus, confusion entre « irradié » et « contaminé par des radio-éléments », peur des accidents impliquant des matières radio-actives : amalgame avec Hiroshima, Tchernobyl, Fukushima ... La directive européenne qui impose d'étiqueter même si toute petite part irradiée dans l'aliment, pose un problème aux industriels utilisant des épices (pas d'alternative simple).



Récemment, des essais américains ont montré que les consommateurs bien informés préfèrent les fruits irradiés (fraises, papayes, mangues: plus "jolis" et se conservent plus longtemps) aux fruits frais. Les Américains n'ont pas "peur" de l'irradiation. Les européens ne sont apparemment pas pareils.

### Quiz ionisation

Qu'est-ce que l'ionisation des aliments ?

Irradier et ioniser des aliments, est-ce la même chose ?

Quel type de rayonnement est le plus utilisé? Pourquoi?

Comment l'ionisation agit-elle sur les germes ?

Avantages de l'ionisation pour conserver les aliments ?

Seuils maximaux d'énergie et de dose autorisés? why?

Les aliments irradiés peuvent-ils devenir radio-actifs ?

Les aliments irradiés sont-ils toxiques ?

Dose de rayonnement "pasteurisant" (ou stérilisant)?

Pour quels usages utilise-t-on l'ionisation ?

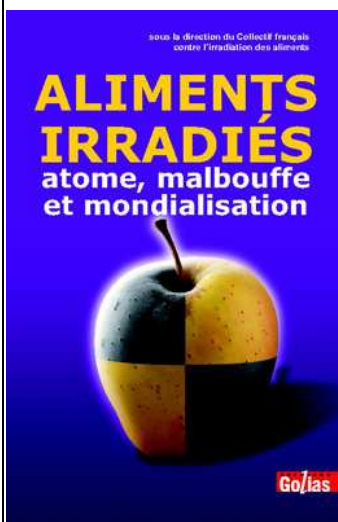
Quel effet néfaste de l'ionisation sur les nutriments ?

Citez 2 pts importants de la réglementation ionisation.

Citez 3 produits dont l'ionisation est autorisée. Dans quel but, à quelle dose ?

Est-il simple d'identifier un produit ionisé (pour le consommateur, pour le contrôleur)

L'ionisation est-elle au point ? Est-elle acceptée ?



# Pascalisation = traiter les aliments à Haute Pression

Introduction: Nombreux travaux des Japonais, longtemps hostiles à l'irradiation.

**1- Principe:** Soumettre des denrées alimentaires à de fortes pressions, de **3 à 5 kbar** ( $1 \text{ bar} = 1 \text{ atm} = 1 \text{ kg/cm}^2 = 0.1 \text{ MPa}$ ), donc quatre mille fois la pression atmosphérique, pour assainir et transformer les produits.

Concrètement, l'aliment est mis dans un **emballage hermétique souple, puis immergé dans de l'eau, comprimée** par une pompe hydraulique dans un cylindre d'acier. Cette pression s'exerce de façon **isostatique** (uniformément = partout pareil), **instantanée**, avec un léger échauffement. Le maintien en pression n'exige pas d'énergie supplémentaire.

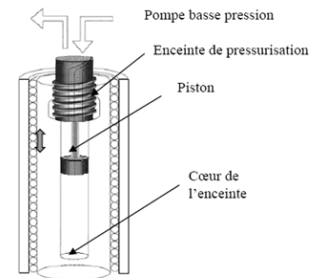


Figure 5 : principe d'une enceinte hautes pressions à compression directe

Trois étapes: Préparation = emballage des solides (les liquides sont pressurisés directement)  
Pressurisation = traitement discontinu  
Conditionnement des produits traités (aseptique pour préserver l'hygiène après)

**2- Effet sur les constituants des aliments** (aux pressions supérieures à 2 kbar):

- destruction des liaisons faibles: ioniques & hydrophobes (liaisons covalentes résistent)
  - augmentation de la température de fusion des lipides (= solidification)
  - gélification partielle des glucides
  - déplissement partiel des protéines, dissociation des structures IV, et gélification partielle.
- d'où **formation de gels** très digestes (amidon, chair de poisson) et léger attendrissement des viandes, sans modification de la couleur ni du contenu en vitamines.

**3- Effet sur les microorganismes:**

la pressurisation à **4 kbar pendant 10 min**, soit à pH acide (2,5-4,5) soit à "chaud" (50°C), **réduit d'au moins  $10^5$**  la teneur en levures, moisissures et bactéries (mais pas les spores), par un effet sur les **membranes**:

- effet mécanique: écrasement, lésions de la membrane (surtout bacilles gram -).
  - effet physico-chimique: solidification des phospholipides membranaires, d'où fuites.
- **Bactéries: gram négatives détruites à 3 kbar**, les gram positives détruites à 5 kbar.  
Durée : 10-20 minutes nécessaires. Plus efficace à température élevée, et à pH bas.
  - **Spores: très peu sensibles**, car pauvres en eau et de forme sphérique
  - **Levures, moisissures très sensibles** (plus que les bactéries)
  - **Parasites et insectes, relativement sensibles** (bon assainissement viande et poissons)

La pascalisation est donc intéressante pour les aliments acides ou sucrés, où les **spores** ne peuvent germer: jus de fruit, confitures (en plus, la pression fait rentrer le sucre dans les fruits). La pascalisation pourrait être utile sur les ovoproduits (salmonelles non sporulées; pression nuit moins que chauffage aux propriétés technologiques des oeufs, même si coagulation si P trop forte).

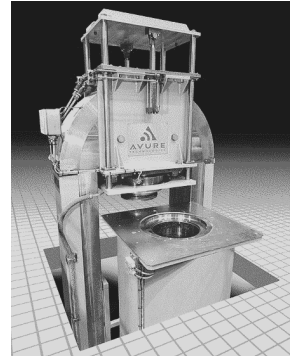
**Actuellement** au Japon, on "pasteurise" et stabilise à long terme des aliments "nouveaux":

- jus de fruits (mandarine, pamplemousse pas amer),
- confitures crues (framboise, kiwi, pomme), conservant saveur et couleur du fruit frais,

et fruits, jambons, et seiches en respectant l'arôme la couleur et la valeur nutritionnelle. Ces produits sont largement vendus **au Japon depuis 1990** (marque Meidi-Ya). En 1994 Espuña introduit sur le marché espagnol du jambon cuit traité aux hautes pressions.

En France, des essais en cours montrent que le fromages au lait pressurisé conserve les qualités des fromages au lait cru, que le **foie gras** pressurisé a la qualité d'un foie mi-cuit, que la viande pressurisé est plus appétente ("attendrie"), et que les "**purs jus**" de fruits réfrigérés sont biens meilleurs qu'après chauffage. Lancement en 1996, d'un jus de fruits Pampryl «fraîchement pressé» par la société ULTI.

Un appareil d'une capacité de 200 litres coute un million de dollars (0,5 à 2,5 10<sup>6</sup> US \$) ce qui le réserve, de fait, aux très grosses entreprises. A rendement optimal, il est supposé n'augmenter le prix de revient des produits pascalisés que de 3 à 10% par rapport à un traitement thermique classique.



**Conclusion:** La pascalisation (4 kbar, 10 min, 50°C) correspond donc à une **pasteurisation à froid** qui laisse intacte les **qualités organoleptiques** et nutritionnelles, et améliore les qualités technologiques de certains aliments. Technologie propre, multiples applications, produits nouveaux. La "**pascalisation**" doit cependant faire ses preuves de rentabilité économique (investissement nécessaire assez lourd): les industriels français attendent.

#### Coli-Free : Saucisson Norvégien sous Pression

23 fev.2011 - Le projet FermSafe du NOFIMA norvégien cherchait à minimiser la contamination des saucissons secs fermentés par des *E.coli* EHEC (shigatoxine). Un traitement thermique doux (24h à 43°C) tue *E.coli* mais dégrade les qualités gustatives. Une forte pression hydrostatique inactive les bactéries et prolonge la durée de vie de l'aliment, sans modifier le gout du saucisson. *Holk et al., Meat Science, may 2011.*

#### Quizz pascalisation, champs pulsés, atmosphères modifiées

Qu'est-ce que la pascalisation des aliments ? Quelles pressions sont utilisées pour pascaliser un aliment ?

Concrètement, comment applique-t-on la pression sur un aliment ?

Par rapport au chauffage, quels avantages des hautes pressions ?

Les hautes pressions modifient-elles les constituants des aliments ?

Quelles conditions sont nécessaires pour "pasteuriser" un aliment sous pression ?

Quels "germes" sont particulièrement résistants aux hautes pressions ?

Quels aliments sont pascalisés, ou pourraient l'être à court terme ?

Quels sont les traitements par l'électricité ou la lumière, qui permettraient de traiter les aliments pour mieux les conserver ? Certains d'entre eux sont-ils déjà utilisés ?

Principe des atmosphères modifiées? Trois grands types d'atmosphère modifiée?

Effets des atmosphères modifiées sur la viande? Utilisation principale de l'emballage sous vide?

**Biblio.:** **Bonjour**, P., 1992, Le traitement des denrées alimentaires par les radiations ionisantes. CES d'Hygiène IAA, ENVT. **Cheftel** J.C., Applications des hautes pressions en technologie alimentaire. IAA mars 1991: 141-153. **Federighi** M. et al. Traitement HP et denrées alimentaires Microbiologie-Aliments-Nutrition, 1995, 13: 115-126 et 225-239. **Guillou**, M. 1999. L'ionisation fait enfin l'objet d'une harmonisation européenne. Notre Alimentation (lettre d'information sur les réglementations et les contrôles relatifs à la qualité et à la sécurité de la chaîne alimentaire) 17:2-3. **Jolibert** F., Utilisation des HP en agro-alimentaire. Dossier scientifique de l'IFN (Inst.Français pour la Nutr.), Technologies agro-alimentaires: les hautes pressions, les atmosphères modifiées. 3, Sept.1993. **Jicquel** JL 1999 Dossier Ionisation, RIA, Janv.99. **Laizier** J., Thomas JC, Nairaud, D. 1998. l'ionisation des denrées alimentaires. Let. Sci. IFN. 61:1-6. **Moreau**, C., Lebas, J.M., La conservation des produits alimentaires par les HP : une réalité technologique et économique. IAA mai 1995: 293-297. **Petit**, B., Ritz, Federighi, 2002, Nouveaux traitements physiques de conservation des aliments: Champs électriques et magnétiques pulsés, ultrasons, ultraviolets, lumière pulsée. Rev. Méd. Vét., 153: 547-556 & 653-664. **Roux**, J.L. 1994, Conserver les aliments p.286-333. Lavoisier Tec&Doc. **Saint-Lebe**, L., Raffi, J.J., 1995, Le traitement ionisant des aliments. Cah Nutr Diét. 30 (2) 117-122. **Steele**, JH & Engel RE. 1992, Radiation processing of food. J.Am.Vet.Med.Assoc. 21: 1522-1529. **Vasseur** JP, 1991, Ionisation des produits alimentaires, Tec&Doc. Bon article sur pascalisation, [http://sci.agr.ca/crda/pubs/art12\\_f.htm](http://sci.agr.ca/crda/pubs/art12_f.htm) (site canadien)

# Nouveaux traitements physiques de conservation des aliments

## Champs pulsés: électriques, magnétiques, sons, ultraviolets

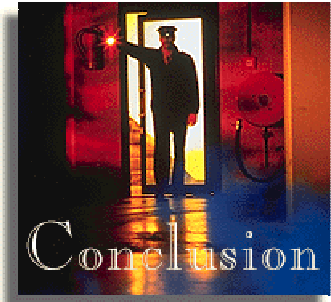
**Champs électriques pulsés** : Un champ électrique intense répété sur des temps très brefs ( $> 5000$  volts/cm, qq micro-secondes), détruit les microorganismes. Le champ est émis entre deux plaques (électrodes), entre lesquelles passe l'aliment (liquide). On obtient une réduction de 4 à 6  $\log_{10}$  de la population microbienne pratiquement sans échauffement (mécanisme probable : électroporation. La membrane forme un condensateur dont les deux faces s'attirent, elles se rapprochent et fusionnent formant un pore irréversible). Entre 1930 et 1960, des millions de litres de lait pasteurisé par champ électrique ont été vendus aux USA. Actuellement, presque aucun aliment traité par les champs électriques pulsés n'est commercialisé, mais l'entreprise californienne *Pure Pulse Tech.* pousse le procédé : une usine de pasteurisation de jus de fruits fonctionne aux Pays-Bas. Elle envisage aussi la pasteurisation de lait, de blanc d'oeuf, de soupes. Faible consommation électrique (10% d'un traitement UHT), mais investissement important.

**Champs magnétiques pulsés** : Un champ magnétique intense oscillant avec une fréquence importante ( $>5$  Tesla, 100 kHz) détruit partiellement les microorganismes (2 à 4  $\log_{10}$ ). Ce type de procédé est encore au stade de la recherche, peu active.

**Ultrasons** : Des ultrasons de très forte intensité (20 kHz et plus,  $>10\ 000$  W/m<sup>2</sup>), provoquent la "cavitation", formation de microbulles qui implosent avec libération d'énergie (très haute pression et température localement), ce qui tue les bactéries. C'est lent : une heure est nécessaire pour diminuer une population microbienne de plusieurs  $\log_{10}$ . Mais l'association des ultrasons avec chaleur et haute pression (pascalisation) permet de pasteuriser vite un aliment. Les ultrasons servent actuellement à dégazer des boissons, à émulsionner des sauces, à trancher pâtisseries. Mais les ultrasons ne sont pas utilisés pour pasteuriser des aliments, et ce procédé est encore du domaine de la recherche.

**Ultraviolets & lumière pulsée** : Les rayons UV C (UV les plus courts), sont germicides et sporicides (optimum 254 nm). Ils agissent sur l'ADN en induisant des mutations létales (dimères de thymine). L'efficacité germicide dépend de l'intensité (W/cm<sup>2</sup>) et de la durée, et augmente très fortement quand la lumière est pulsée (flashes répétés). Les UV sont efficaces, économiques, et très utilisés pour stériliser **les produits transparents (air, eau potable)**, et pour désinfecter la surface des produits lisses (**emballages** plastiques, métalliques). Ils sont peu efficaces sur les surfaces moins lisses des aliments (coquille d'oeuf, carcasse), même s'ils permettent d'augmenter la DLC de certains aliments (procédé « Pure Bright » sur pains ou jambons tranchés). Ils n'ont aucun effet "dans la masse" des aliments.

# Ecologie Microbienne des Aliments : CONCLUSION



En résumé, pour conserver les aliments, il faut combattre les germes, par 3 approches complémentaires :

- 1- Eviter la contamination,
- 2- Tuer les germes,
- 3- Inhiber leur développement

Le plus important c'est que:

- 1- On peut tuer les bactéries par la chaleur. Savoir expliquer D, z et certaines t°C critiques
- 2- On peut inhiber les bactéries par le froid. Savoir quelques t°C critiques
- 3- Les aliments "secs" ou "acides" sont protégés. Savoir quelques a<sub>w</sub> et pH critiques

## Express Review of Microbial Ecology

**ATTENTION !** Si le cours d'un autre prof donne une valeur différente, retenez plutôt la sienne (si c'est lui qui pose la question à l'examen). Ces différences sont normales : ces valeurs expérimentales ont été obtenues par différents labos sur des souches différentes. ça ne facilite pas les révisions, je l'avoue !

### Chaud tue : augmentation de la température

Valeurs seuils:           Aucun développement bactéries pathogènes si t°C > 63°C  
                                  Destruction pathogènes f. végétatives si T° > 70°C un temps suffisant  
                                  Destruction des spores pathogènes si T° > 100°C un temps suffisant

Paramètres thermorésistance:    D<sub>t</sub> = temps de réduction décimale à une température donnée  
  z = augmentation de t°C divisant D par 10  
  F = 12D = 3 minutes à 121°C = valeur stérilisatrice (*C. botulinum*)

### Froid stoppe : diminution de la température

Valeurs seuils:           Aucun développement microbien si t°C < -18°C  
                                  Pas de développement bactérien si t°C < -10°C  
                                  Pas de développement de pathogènes si t°C < +3.3°C (*C. botulinum* type E)  
                                  Pas de développement rapide des germes si t°C < 10°C

### Radiations ionisantes

Valeurs seuils:           Destruction germes pathogènes : 10 kGy  
                                  Ionisation DAOA : Liste positive (cuisses grenouilles congelées, VSM). Dose < 10kGy

### Eau : activité en eau, a<sub>w</sub>

Valeurs seuils :           Aucun développement microbien si a<sub>w</sub> < 0,65  
                                  Pas de développement bactérien si a<sub>w</sub> < 0,91  
                                  DAOA: 0,85 < a<sub>w</sub> = < 0,99  
                                  Modifier l' a<sub>w</sub> : Déshydratation (séchage), lyophilisation, salage, sucrage, congélation

### Acidité, pH

Valeurs seuils:           Aucun développement microbien si pH < 1,5  
                                  Pas de développement bactéries pathogènes si pH < 4,5  
                                  DAOA: 5,3 < pH < 9 (viande bœuf 5.6, viande surmenée 6.2)

### Potentiel d'oxydo-réduction

Valeurs seuils:   Dépend du micro-organisme (aérobies stricts, facultatifs, anaérobies stricts)

Tous mes cours d'Hydooa (et autres) sont en ligne sur <http://Corpet.net/Denis>  
J'espère vous revoir l'an prochain ! Bon courage pour apprendre tout ça !  
Denis

