

## Écologie Microbienne des Aliments

= écologie des microorganismes dans les aliments

### Contamination & Multiplication des Micro-organismes dans l'Aliment

Un cours de **Denis Corpet**  
sur la base d'un ppt de J.D.Bailly  
<http://Corpet.net/Denis>



#### Je vous conseille de ne bosser QUE mon POLY

Cette présentation PowerPoint aidera peut-être ceux qui ont assisté à mon cours, en leur rappelant de bons souvenirs ;o) Pour les autres ces diapos sont inutiles. Ils irons plus vite en apprenant mon "poly", rédigé exprès pour eux. Au contraire, les données du ppt vont les embrouiller. Bon travail ! Denis Corpet

## Objectifs du cours

- Connaître les bases de la **microbiologie** quantitative
- Et les bases de la physico-chimie des **aliments**
- Intégrer les deux domaines, pour comprendre les mécanismes à l'origine des TIAC (Toxi Infections Alimentaires Collectives)
- Savoir précisément comment maîtriser les dangers dans un plan HACCP (Hazard Analysis, Critical Control Points)
- Comprendre les contraintes **technologiques et réglementaires** liées aux procédés de conservation des aliments

## Écologie microbienne

- Êtres vivants & Environnement = Microorganismes & Aliments
- Facteurs environnementaux qui déterminent la croissance (ou non croissance) de chaque microorganisme
- Utiliser ces facteurs comme « barrières » pour conserver l'aliment

## Pourquoi, Keski, Comment ?

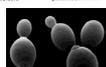
- **Pourquoi** veut-on conserver les aliments ?
- **Qu'est-ce-qui** dégrade les aliments ?
- **Comment** résister aux microbes ?
  - *Nobody in - Kill them - Stop growth*



I- Les micro-organismes des DAOA

### Nature des Micro-Organismes (microbes, germes)

- **Les Bactéries**
  - Organismes procaryotes unicellulaires
- **Les Moisissures**
  - Champignons microscopiques (micromycètes)
  - Organismes pluricellulaires eucaryotes
  - Capables de différenciation
- **Les levures**
  - Groupe intermédiaire
  - Champignons microscopiques peu différenciés: colonies formées de cellules isolées



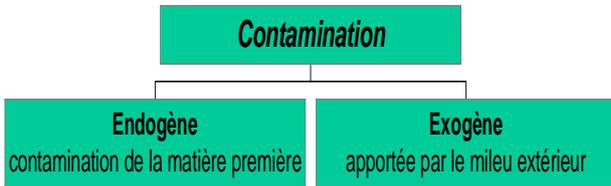
Et aussi **Parasites & Virus** : pas de multiplication, mais danger sanitaire

I- Les micro-organismes des DAOA

### Conséquences de la présence de micro-organismes dans les aliments

- **Amélioration des qualités organoleptiques**  
Flore utile, auxiliaire de fabrication (yaourt, fromage, vin, saucisson, choucroute)
- **Détérioration des qualités diététiques et organoleptiques**  
Flore banale de contamination (pourri, moisi, ramolli, poissons...)
- **Danger pour le consommateur**(cf. cours TIAC)  
Accumulation de micro-organismes pathogènes  
Accumulation de métabolites toxiques
  - Toxines bactériennes
  - Mycotoxines
  - Produits de dégradation (histamine)

## Origine des micro-organismes des aliments



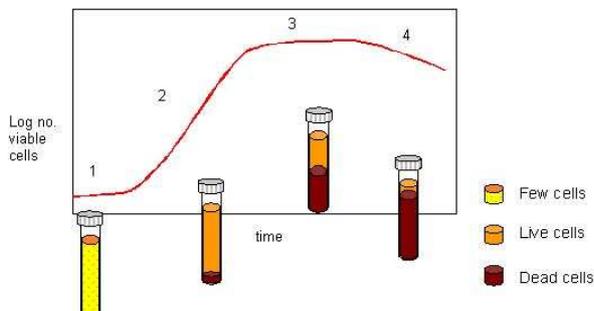
## Contamination exogène

- **Micro-organismes présents sur l'animal**
  - Peau, plumes
  - Tube digestif
- **Contamination par l'environnement : (cours Hygiène)**

Les « 5 M » : Matière I, Matériel, Milieu, Méthode, Main d'oeuvre

  - Fluides: Eau & Air contaminés
    - Eau potable (directive 93/43 CEE)
  - Surfaces de travail et autres matières premières
    - Contamination croisée
  - Personnel
    - Hygiène, porteurs sains (AM du 10/03/77)

## Devenir des Bactéries dans les Aliments



## Contamination endogène

- **L'animal est malade avant l'abattage**
  - AM du 9 Juin 2000: l'abattage des animaux malades interdit
  - Lésions sur la carcasse
  - Rôle de l'inspection sanitaire
- **Contamination endogène par bactériémie**
  - Bactériémie digestive/bactériémie d'abattage
  - Importance de la diète hydrique et de la saignée

*Remarques:* - l'éviscération tardive  
- contamination verticale des oeufs par *Salmonella enteritidis*

## Contamination des aliments

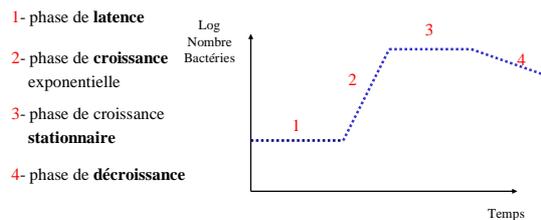
- Contamination inévitable, donc toujours présente « un peu », mais cela « pèse lourd » dans l'hygiène
- Règle des « 5 M » @ *ma ma mi mes mains*  
matière I<sup>ère</sup>, matériel, milieu, méthode, main d'oeuvre)

**Objectif:**

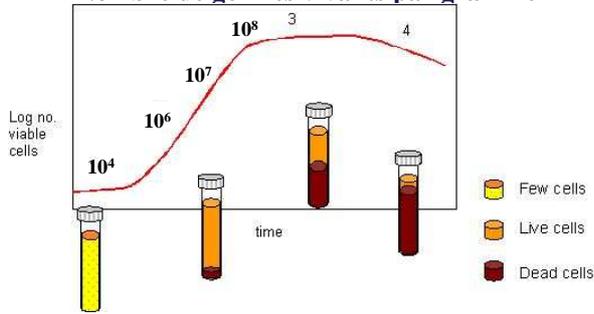
**limiter au maximum la contamination initiale**

## Devenir des Bactéries dans les Aliments

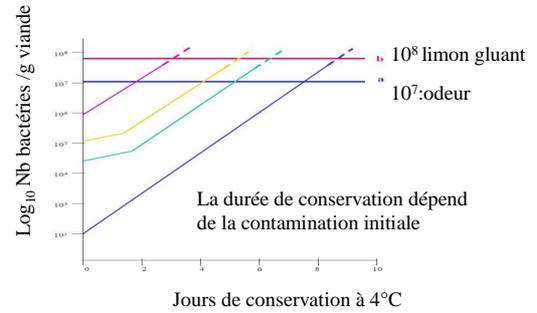
**Multiplication :**  
Courbe de croissance bactérienne



### Effets des Bactéries : f( Densité ) Nombre de germes vivants par gramme



### Densité bactérienne : Effets sur la viande bovine

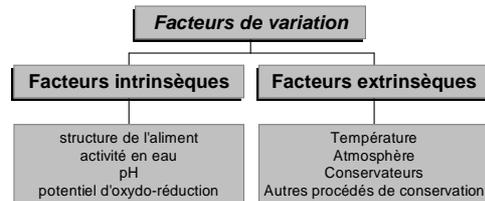


Diapo G. Bénard

### Qu'est-ce qui fait pousser une bactérie ? @Ettano Facteurs nécessaires à la croissance bactérienne

- Eau : humidité suffisante et activité de l'eau,  $a_w$
- Temps : durée suffisante dans conditions OK
- Température : >1°C mini, <1°C maxi /croissance
- Acidité : pH correct (voisin neutralité)
- Nutriments
- Oxygène (ou PAS d'oxygène pour anaérobies)

### Facteurs de variation de la croissance microbienne



### II- Facteurs de variation de la prolifération microbienne

#### Facteurs extrinsèques à l'aliment

1. Variation de la température
  - o Chaud TUE les bactéries
  - o Froid STOPPE les bactéries
2. Autres facteurs



Chaud TUE



Froid STOPPE



### Action de la chaleur sur les micro-organismes Le CHAUD peut TUER : comment ?

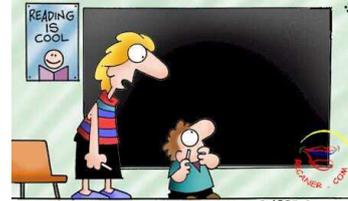
- Inactivation des enzymes
- Coagulation des protéines
- Arrêt de la réplication de l'ADN



**Pour tuer les bactéries, il faut chauffer plus ou moins suivant:**

- Thermorésistance des bactéries
- Nombre de bactéries à détruire
- Conditions de milieu (ex. pH)
- Type d'aliment voulu (stérile ou pasteurisé)

**Thermorésistance : D, temps de réduction décimale**  
Détermination pratique de D à une t°C donnée



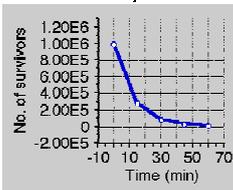
N

**Thermorésistance : D, temps de réduction décimale**  
Détermination pratique de D à une t°C donnée :

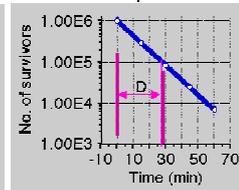


**Microorganisms & D values.**

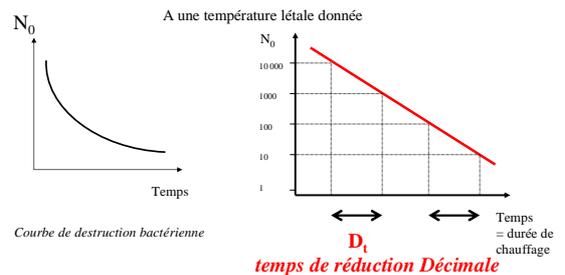
■ **Linear scale of population vs. time at one temperature.**



■ **Log scale for population vs. time at one temperature.**



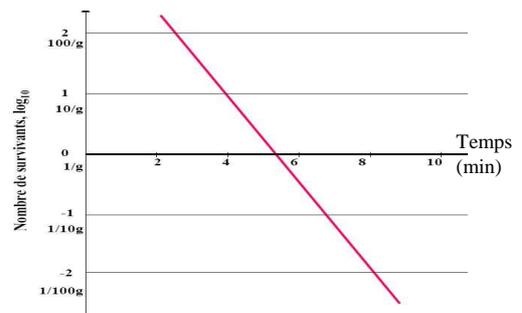
**Caractérisation de la thermo-résistance bactérienne**



**$D_t$  temps de réduction décimale**

- Pour un germe donné, à une température létale donnée, dans un milieu donné, le temps pour diviser la population bactérienne par dix (=que la droite descende d'un log) est une constante:
- C'est  $D_t$  = temps de réduction décimal à la température t Pour simplifier, on dit "D"

Pour stériliser: la droite log Nb germes / temps peut descendre en dessous de 1



Diapo G. Bénard

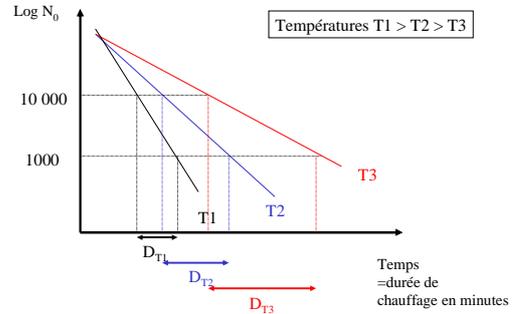


### Valeur $D_t$ de quelques germes

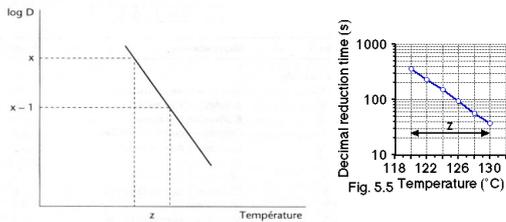
Température	Micro-organisme	D (min)
60°C	<i>Campylobacter jejuni</i>	1
60°C	<i>Salmonella spp</i>	2
60°C	<i>Listeria monocytogenes</i>	1-6
60°C	<i>Staphylococcus aureus</i>	2
60°C	<i>Aspergillus niger</i>	1
100°C	<i>Bacillus cereus</i>	0,05-30
121°C	<i>Clostridium botulinum</i>	0,21
121°C	<i>Clostridium sporogenes</i>	0,8
121°C	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	3



### Influence d'une modification de température sur la valeur D



### Définition de la valeur Z



z est l'augmentation de t°C divisant D par 10

### Utilisation pratique de $D_T$ et Z

z = augmentation de t°C divisant D par 10  
 $D_{FC}$  = temps de réduction décimale à t°C

- Calcul de l'efficacité comparée de deux traitements thermiques

– Ex 1: lait stérilisé UHT



– Ex 2: risque botulique



- Obtention des autorisations de commercialisation par les industriels

### D & z : Application d'un traitement thermique aux aliments

#### • Traitement de Pasteurisation

Destruction de tous les germes pathogènes non-sporulés

Valeur pasteurisatrice = temps en minutes à 70°C pour détruire 13 log de *Streptococcus faecalis*

=> Semi-conserves



#### • Traitement de stérilisation ou appertisation :

Destruction ou inhibition totale des enzymes et des micro-organismes (et spores)

=> Conserves



### Stérilisation = Appertisation Valeur stérilisatrice sanitaire

- Valeur stérilisatrice = temps nécessaire à une température létale pour obtenir une réduction définie du nombre de germes
- Traitement thermique minimal = 12D
- Traitement thermique permettant de détruire 12 log d'une population de *Clostridium botulinum*
- « N »
- C. botulinum*  $D_{121} = 0,21$
- $D_{t=121°C} = 0,21$  min
- $12 \times D_{121} = (12 \times 0,21) = 2,52 = 3$  minutes
- $F_0 = 3$  min       $F=3$





**Facteurs de variation de la thermorésistance des micro-organismes  
 facteurs liés à l'aliment**

- Acidité, pH
- Composition de l'aliment
- Activité en eau
- Volume & structure de l'aliment  
 question des transferts de chaleur



**Facteurs de variation de la thermorésistance des micro-organismes  
 facteurs liés aux germes**

- Nature des micro-organismes
- Nombre initial de germes
- Stade physiologique
- Association de germes



**Récapitulatif : Chaleur**

- Inhibition de la croissance et destruction possible
  - Formes végétatives: **pasteurisation**
  - Formes sporulées: **stérilisation = appertisation 12D**
- Intensité du traitement dépend de **T(min) x t°C**  
**Temps & Température**
- Déf. D<sub>t</sub> et z, et valeurs pour *C.botulinum*

**II- Facteurs de variation de la prolifération  
 microbienne**

**Facteurs extrinsèques à l'aliment**

1. Variation de la température
  - o Chaud TUE les bactéries
  - o **Froid STOPPE les bactéries**
2. Autres facteurs



Chaud TUE



Froid STOPPE

**Influence de la température  
 sur le développement microbien**

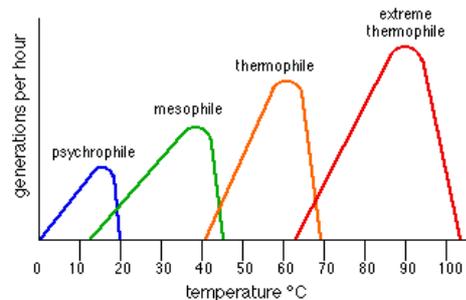


Catégories de Bactéries	Minimum	Optimum	Maximum
<b>Thermophiles</b>	35/45°C	55/75°C	60/90°C
<b>Mésophiles</b>	5/15°C	30/45°C	35/50°C
<b>Psychrotrophes</b>	-1/5°C	25/30°C	35/40°C
<b>Psychrophiles</b>	-5/5°C	12/15°C	15/20°C

**L'essentiel:** Psychro., t°C mini=0°C, croissance lente  
 Mésophiles: t°C mini 10°C, optimale 37°C, maxi: 50°C



**Psychrophiles poussent lentement,  
 Thermophiles très vite**





**Conservation des aliments par le froid: la frigorification**

- **Définitions technologiques**
  - **Réfrigération**: abaissement de la température à une valeur inférieure à la température ambiante mais supérieure au point de congélation du produit.
  - **Congélation**: abaissement de la température à une valeur inférieure au point de congélation (eau solide)  
Pour la viande : **-1,4 °C**

**Effets du froid sur les bactéries**

effets plus fort sur mésophiles que sur psychrophiles

- Froid diminue la vitesse de **croissance**  
= augmente le temps de doublement
- Froid diminue la vitesse de **démarrage**  
= augmente la phase de latence
- Froid **sélectionne** les bactéries psychrophiles : bien que lentes, elles sont avantagées
- **Congélation**: **arrêt complet** croissance (membranes solides, et pas d'eau libre)
- **Congélation**: **tue** certaines bactéries effet létal **partiel** (-1 log) et **sélectif** (Gram-)



Nous allons voir tous ces points sur des exemples précis



**Impact de la réfrigération sur la flore microbienne:**

**Ex.: inhibition de la croissance: VITESSE réduite**

Vitesse de division de *Clostridium perfringens* en fonction de la Température (à pH 7)

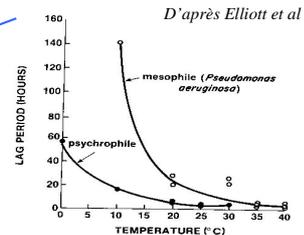
Température	Temps de doublement	Nombre de divisions par heures
39°C	13 min	4,5
37°C	<b>15 min</b>	<b>4,0</b>
35°C	21 min	2,8
33°C	27 min	2,2
30°C	43 min	1,4
25°C	2 h	0,5
20°C	<b>5 h</b>	<b>0,2</b>

D'après Ingram



**Impact de la réfrigération sur la flore microbienne:**

**Ex.: Phase de LATENCE plus grande**



Effet de la température sur la **phase de latence**  
Ex.: à 35°C, démarrage en 1h, à 20°C en 30h.



**Impact de la réfrigération sur la flore microbienne:**

**Ex.: Effet sélectif: sélection des psychrophiles**

D'après Tomkin

	15°C	10°C	1°C
<i>Pseudomonas sp</i>	5%	37	90%
<i>Acinetobacter</i>	34	26	7
<i>Enterobacteriaceae</i>	27%	15	3%
<i>Streptococci</i>	8	6	0
<i>Aeromonas</i>	6	4	0
autres	10	12	0

Nombre de bactéries en % de la flore totale (chair de poulet)



**Impact de la réfrigération sur la flore microbienne:**

**Ex.: Adaptation des bactéries au froid (ça prend longtemps)**

D'après Tomkin

- Adaptation des membranes cellulaires : Plus d'acides gras polyinsaturés (AGPI) = mobilité Mb  
Enzymes de transport adaptées au froid
- Production de pigments (colonies jaunes, rouges,...)
- *Pseudomonas* activent leurs lipases  
=> dégradation des MG du lait réfrigéré à long terme



**Impact de la congélation sur la flore microbienne:**

**Ex.: Arrêt de croissance, car pas d'eau disponible**

T°	-1°C	-5°C	-10°C	-15°C	-20°C	-25°C	-30°C
Aw	0,99	0,953	0,907	0,864	0,823	0,784	0,746

Variation de  $a_w$  de la viande en fonction de la température



**Impact de la congélation sur la flore microbienne:**  
**Effet léthal sélectif: la glace tue assez bien les Gram -**

- Passage de 10°C à -20°C:  
**destruction de 90% des entérobactéries**
- Coques et Gram+ résistent beaucoup mieux  
- => inversion du gram: 80% - 20%+ => 20% - 80%+
- Effet du stockage prolongé: *nothing!*  
*Destruction quand l'eau gèle. Ensuite, stabilité.*
- Congélation lente tue plus que congél. rapide

Même pas mal !



**Mécanisme de l'effet léthal de la congélation:**

- Perturbation de la perméabilité des membranes
- Modification de la concentration saline du milieu
- Action mécanique des cristaux de glace



**Conservation des aliments par le froid:  
la frigorification**

• **Définitions technologiques**

- **Réfrigération:** abaissement de la température à une valeur inférieure à la température ambiante mais supérieure au point de congélation du produit.
- **Congélation:** abaissement de la température à une valeur inférieure au point de congélation  
Pour la viande : **-1,4 °C**

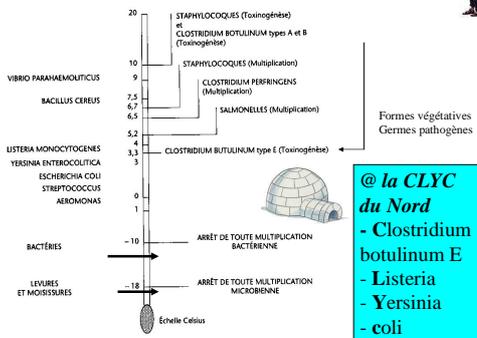


**Conservation des aliments par le froid:  
la frigorification**

• **Définitions réglementaires (seront revues dans cours techno)**

- **Réfrigération :** abaissement et maintien de la température à cœur à une valeur < 7°C pour la viande, <3°C pour les abats...
- **Congélation :** abaissement et maintien de la température à une valeur < **-12°C** (AM du 28/06/1974).
- **Sursélation :** abaissement le plus tôt possible après la récolte et maintien de la température à une valeur < **-18°C** (AM du 09/09/1964)

**Récapitulatif: croissance des psychrophiles**



**II- Facteurs de variation de la prolifération microbienne**

**Facteurs extrinsèques à l'aliment**

1. Variation de la température
  - o Chaud TUE les bactéries
  - o Froid STOPPE les bactéries
2. Autres facteurs
  1. Conservateurs
  2. Atmosphères modifiées
  3. Interactions entre micro-organismes



Chaud TUE

Froid STOPPE



## Utilisation de conservateurs

### • Additif conservateur:

- Substance non consommée normalement en tant que denrée alimentaire et incorporée à l'aliment en vue d'en accroître la salubrité et la stabilité par inhibition du développement microbien
- Certains ont une certaine toxicité propre (nitrites, sulfites,....)
- Pas d'effet assainissant (empêche croissance, ne tue pas)
- Effet psychologique néfaste (le consommateur n'aime pas « les produits chimiques » : Rumeur sur le E330 = acide citrique)



## Conservateurs minéraux

- Chlorures
  - Chlorure de sodium NaCl
- Nitrate et nitrite (NO<sub>3</sub> NO<sub>2</sub> / K Na)
  - Salaisons
  - Toxicité
- Sulfite de sodium
  - Vinification



## Conservateurs organiques

- Acides organiques: AGV (acétique, propionique)
- Acide sorbique & autres
- Fermentation: alcool & acides
- Fumage
- Sucre
- Antibiotiques: nisine (pas en France)
- Enzymes: lysozyme et autres (naturels dans lait & œuf)
- Condiments et épices (thym, menthe, ail)



## Chemical food preservatives

Additifs	Aliments
Sodium /calcium <b>propionate (E280)</b>	Pains (tranché, sous plastique)
Sodium <b>benzoate (E210)</b>	Boissons carbonatées, jus de fruit, pickles, margarine
Acide <b>sorbique (E200)</b>	Extraits d'agrumes, fromages, pickles, salades
<b>Sulfites</b> , bisulfites, SO <sub>2</sub> ( <b>E220</b> )	Fruits secs, vin
Formaldéhyde (from smoking process)	Viande & poisson fumés
Ethylène and propylène oxides	Epices, fruits secs, noix
Sodium <b>nitrite (E250)</b>	Jambon, bacon, saucisses, fromages

## Atmosphères Modifiées

- Conditionnement étanche (barquette)
- Suppression de l'oxygène (mais pas tout)
- Addition de CO<sub>2</sub> = antimicrobien
- Addition d'N<sub>2</sub> = remplissage inerte
- Favorise les lactobacilles par rapport /autres
- Inhibe oxydation des lipides
- Attention: microaérophiles et anaérobies strictes non inhibées (*Clostridium*, *Campylobacter*, *Listeria*)
- « Sous-Vide »:  
bonne conservation, mais pb d'odeur et de couleur



## II- Facteurs de variation de la prolifération microbienne

### Facteurs extrinsèques à l'aliment

1. Variation de la température
  - o Chaud TUE les bactéries
  - o Froid STOPPE les bactéries
2. Autres facteurs
  1. Conservateurs
  2. Atmosphères modifiées
3. Interactions entre micro-organismes



Chaud TUE

Froid STOPPE



### Interactions entre micro-organismes

- **Coopération** (mutualisme, symbiotisme)  
exemple: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* du yaourt



- **Compétition** (antagonisme)  
ex.: bactéries poussent avant levures



- **Inhibition** (amensalisme)  
ex.: lactobacilles synthétisant des bactériocines actives contre *Listeria* (recherches en cours, non utilisé en routine)



Antagonisme



### II- Facteurs de variation de la prolifération microbienne

#### Facteurs extrinsèques à l'aliment

1. Variation de la température
  - o Chaud TUE les bactéries
  - o Froid STOPPE les bactéries
2. **Autres facteurs**
  1. Conservateurs
  2. Atmosphères modifiées
  3. Interactions entre micro-organismes
4. **IONISATION - IRRADIATION**



Chaud TUE

Froid STOPPE



### Ionisation: Conserver les Aliments par Irradiation

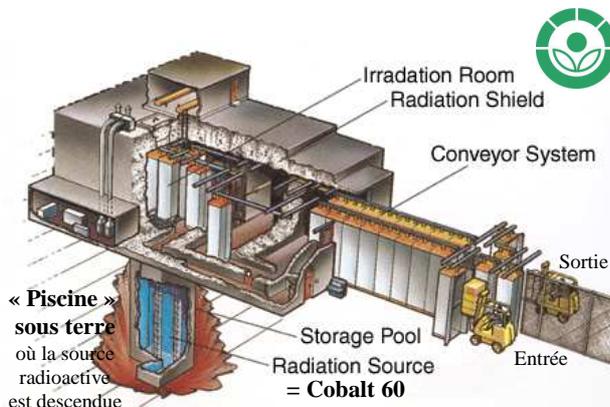


- Procédé physique consistant à exposer les aliments à l'action directe de **rayonnements électromagnétiques**, électroniques ou photoniques dans le but :
  - d'augmenter leur **durée de conservation**,
  - d'améliorer leur **qualité sanitaire** ou encore
  - de modifier certaines propriétés technologiques

#### Données générales les types de rayonnement



- **Rayonnement gamma ( $\gamma$ ):**
  - Flux de photon gamma
  - Source: **Cobalt 60** (Co radioactif)
  - Énergie des photons: 1,3 MeV (méga électron volt)
  - Excellent pouvoir **pénétrant**
- **Les électrons:**
  - Flux d'électrons accélérés
  - Énergie < 10 MeV
  - Faible pénétration



#### Intérêts de l'ionisation:

- Traitement à **froid** = respecte produits fragiles
- Traitement de produits **déjà conditionnés** = pas de recontamination
- Traitement physique = **pas de résidus** chimiques
- L'**innocuité** des aliments irradiés fait l'objet d'un consensus scientifique





## L'innocuité des aliments irradiés est un consensus scientifique

- L'aliment ne peut pas devenir radioactif: pour toucher les noyaux des atomes, il faut énergie > 13MeV (Cobalt 60: 1 MeV)
- Le cobalt est confiné dans source scellée (acier inox)
- Les rayons seraient très dangereux pour les ouvriers: piscine souterraine + labyrinthe béton+ circuit automobile
- Aliments irradiés n'ont montré aucune toxicité sur les animaux
- Produits de radiolyse: aucun n'est spécifique (ce sont les mêmes que produits chauffés). **Sauf Alkylcyclobutanones** (from acide palmitique), dans les viandes en dose très faible. Facteur de sécurité supérieur à 2000
- « **Absence complète de risque pour l'homme** des aliments traités (<10kGy & 10MeV)»: conclusions OMS 1980, FAO 1997, AFSSA 2007



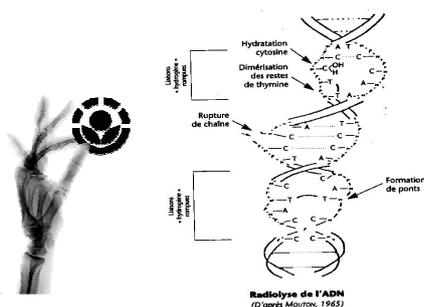
## Mécanismes d'action des rayonnements ionisants

- **Ionisation du milieu:**
  - Collision directe du faisceau d'électrons
  - Apport d'énergie

Apparition d'électrons et de radicaux libres
- **Radiolyse de l'eau et des lipides**
  - OH, H, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>



## Effet des rayonnements ionisants sur les acides nucléiques



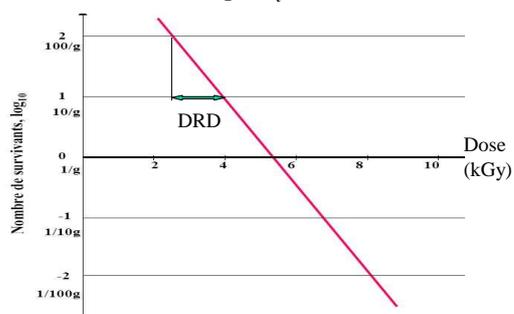
## Radio-résistance des micro-organismes en kilo Gray

Micro-organisme	D <sub>10</sub> (kGy)
<i>Clostridium botulinum</i> (Gram+ sporulé)	2,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+ coque)	1
<i>E. coli</i>	0,4
<i>Pseudomonas</i>	0,07
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,5
<i>Salmonelles</i>	0,7
<i>Penicillium spp</i>	0,4
<i>Candida spp</i>	3
Fièvre aphteuse	0,5
Polio	1,4

Unité de dose de rayonnement absorbé Gray (Gy): absorption d'1 joule/kg d'aliment

L'ionisation n'est pas magique

Dose de Réduction Décimale tue 90% (comme le temps D<sub>1</sub> à une t°C létale)



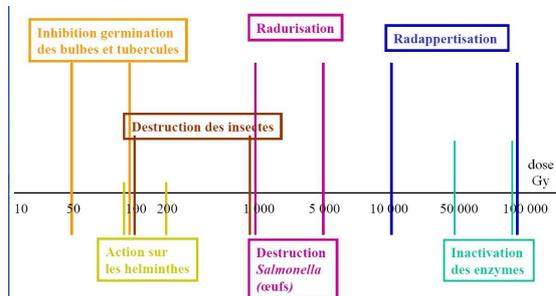
## DOSES ionisantes EFFETS biologiques

- | <b>kGy</b> | <u>Effet</u>                                | <u>Nommé</u>     |
|------------|---|------------------|
| • 0.1 kGy  | inhibe la germination (bulbes, tubercules)  |                  |
| • 1 kGy    | retarde maturation des fruits (ex: fraises) |                  |
| • 1 kGy    | tue insectes & parasites                    | Radurisation     |
| • 5 kGy    | pasteurise (tue pathog. non sporulés)       | Radacidation     |
| • >10 kGy  | stérilise (20-60kGy)                        | Radappertisation |

Gray, unité de dose absorbée : (1 Gy = absorp. 1 joule /kg)



### Ionisation des aliments: effet du rayonnement f(dose)



Diapo G. Bénard

## Ionisation : Règlementation Liste positive & étiquetage

- Directives Europ. 1999, Arrêté M. du 20/08/2002
- 1- liste positive (tout est interdit sauf la liste)
- 2- étiquetage obligatoire: logo Radura
- 3- Que des installations agréées
- 4- Seulement ionisation de produits salubres (l'AM précise germes et densités acceptables, par d'aliments)



## Effets Ionisation sur Nutriments



- Effets nettement moindres que la chaleur
- Protéines et Glucides : pas d'effet
- Lipides AGPI : rancissent (s'oxydent)
- Vitamines liposolubles (A & E) sensibles



### Ionisation des aliments en France:

#### Réglementation, liste positive (14 alim)

- **Epices** et herbes aromatiques **10 kGy** (tuer spores) (irradiées sèches ou surgelées: 100 tonnes/an)
- **VSM** Viande de volaille Séparée Mécaniquement ionisée à **5 kGy** (tuer salmonelles) 2000 t/an
- **Cuisses de grenouille**: **5 kGy** /salmonelles, 1000 t/an
- Viande de volaille hachée, Abats de volailles
- Blanc d'œuf
- Crevettes décortiquées
- Caséines et caséinates /alimentation humaine
- Gélatine alimentaire
- Oignon, ail: 0,1 KGy (stoppe la germination)



Logo Radura

Stérilisation non détectable:  
Exigence que les produits soient sains au départ !



## II- Facteurs de variation de la prolifération microbienne

- Facteurs extrinsèques à l'aliment (finis)
- Facteurs intrinsèques à l'aliment
  - Activité de l'eau,  $a_w$
  - pH
  - Potentiel d'oxydo-réductif
  - Nature de l'aliment



### Influence de l'activité en eau ( $a_w$ ) de l'aliment



L' $a_w$  est une quantification de l'eau disponible dans un milieu.

Comprise entre 0 et 1

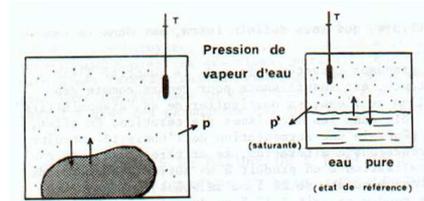
- $a_w$  = eau disponible pour les bactéries
- $a_w$  = eau "évaporable" à t°C ambiante

mais ce n'est PAS la "teneur en eau"

### Principe de mesure de l' $a_w$ d'un aliment



Définition réelle: rapport entre deux pressions de vapeur  
- la pression de vapeur d'eau (dans l'air) au dessus d'un aliment et  
- la pression de vapeur au dessus de l'eau pure à même température



$$\text{Humidité Relative \%} = \text{HR} = (p/p') \times 100$$

$$a_w = p/p'$$

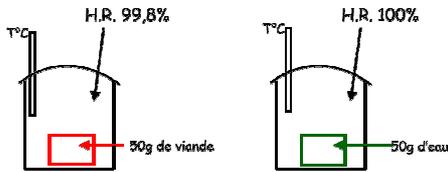
D'après Multon et coll

### Principe de mesure de l' $a_w$ d'un aliment



Définition  $a_w$ : rapport entre deux pressions de vapeur  
- la pression de vapeur d'eau (dans l'air) au dessus d'un aliment et  
- la pression de vapeur au dessus de l'eau pure à même température

D'après G. Bénard



$$\text{Humidité Relative} = \text{HR} = (p/p') \times 100$$

$$a_w = p/p'$$

### Mesure de l' $a_w$ d'un aliment



### $a_w$ observée dans les aliments

D'après Bourgeois et coll

Aliment	$a_w$
Viande de Bœuf, porc, poisson	0,99
Pommes, citrons	0,98
Charcuterie sèche	0,85-0,95
Confitures	0,75-0,80
Pain frais	0,78
Céréales, fruits secs	0,65-0,70
Nouilles, épices	0,30-0,50

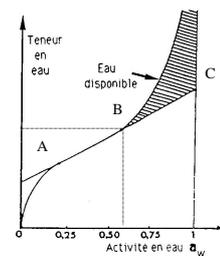
### Relation entre $a_w$ et teneur en eau d'un aliment

#### Courbe de sorption

D'après Multon et coll

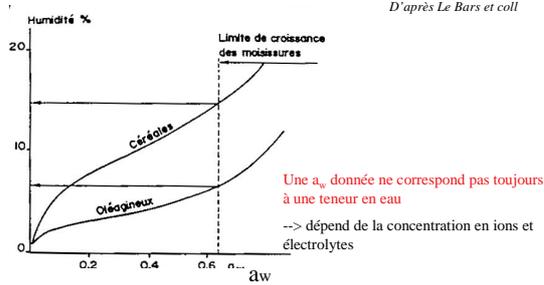
- 0-A: eau fortement liée
- A-B: eau liée indisponible
- B-C: apparition d'eau solvante

$$a_w > 0,65$$





### Variation des courbes de sorption en fonction des aliments



### Relation entre $a_w$ et teneur en eau d'un aliment



- **Ne pas confondre  $a_w$  et teneur en eau**, même s'il y a un lien entre les deux.
- Par exemple, **même**  $a_w = 0.7$ 
  - Fruits secs 20% d'eau (bcp de sucres)
  - Viande séchée 10% d'eau (un peu de sels)
  - Noix sèche 5% d'eau (des lipides).



### $A_w$ et conservation des aliments

- **Déshydratation**
- **Lyophilisation**
- **Addition de soluté**
  - Sel
  - Sucre
- **Congélation**

Préparation alimentaire stabilisée si  $a_w < 0.91$



### Variation de l' $a_w$ de solutions en fonction de la teneur en sel et en saccharose

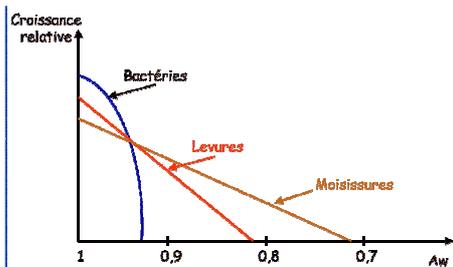
D'après Bourgeois et coll

$A_w$	NaCl (g/l)	Saccharose (g/l)
0,99	17	<b>100</b>
0,96	70	250
0,94	<b>100</b>	930
0,92	135	<b>1200</b>
0,90	165	1440
0,85	236	2080

Remarque 1: salée ou sucrée, les soupes à 90% d'eau n'ont pas même  $a_w$   
Remarque 2: jambon sec 10% sel (=100), confiture 61% sucre (=1200)



### Relation entre $a_w$ et micro-organismes



Dessin G.Bénard

Facile à retenir  $A_w$  @MoLeBac 7-8-9



### Relation entre $a_w$ et micro-organismes

- Non halophiles  $0,95 < a_w < 0,99$
- Halotolérants  $0,9 < a_w < 0,97$
- Halophiles et Xérotolérants  $a_w \approx 0,8$

#### LIMITES pour CROITRE

- **Bactéries**  
 $a_w > 0,9$
- **Levures**  
 $a_w \geq 0,8$
- **Moisissures**  
 $a_w \geq 0,7$

Facile à retenir  $A_w$  @MoLeBac 7-8-9



### $A_w$ minimum de croissance de certains micro-organismes

D'après Bourgeois et coll

Bactéries	$A_w > 0,9$	Levures	$A_w > 0,8$	Moisissures	$A_w > 0,7$
<i>C. perfringens</i>	0,95	<i>S. cerevisiae</i>	0,90-0,94	<i>Fusarium</i>	0,9
<i>Salmonella sp</i>	0,94	<i>Rhodotorula</i>	0,9	<i>Mucor</i>	0,8-0,9
<i>C. botulinum</i>	0,93			<i>P. Expansum</i>	0,85
<i>V. parahaemolyticus</i>	0,93			<i>Asperg. flavus</i>	0,78
<i>S. aureus</i> croiss.	0,90			( <i>A. flavus</i> synthèse d'aflatoxine ds les arachides et noix)	0,83
<i>S. aureus</i> survie	0,86				

La bactérie pathogène la plus halophile est le **staphylocoque doré** qui supporte un  $A_w$  de 0,86 et qui "pousse" bien à 0,90  
*D'autres bactéries plus xérophiles existent, mais elles ne sont pas pathogènes*

### $A_w$ : Bactéries & Aliments



Aliment	$a_w$
<b>Viande, poisson</b>	<b>0,99</b>
Pommes, citrons	0,98
Charcuterie sèche	0,85-0,95
Confitures	0,75-0,80
<b>Pain frais</b>	<b>0,78</b>
Céréales, fruits secs	0,65-0,70
Nouilles, épices	0,30-0,50

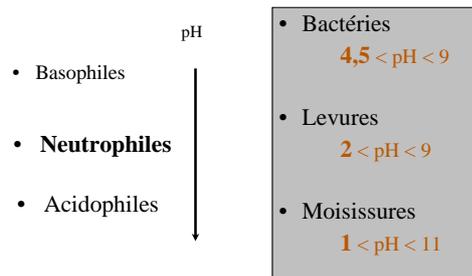
Bactéries	$A_w > 0,9$	Moisissures	$A_w > 0,7$
<i>C. perfringens</i>	0,95	<i>Fusarium</i>	0,9
<i>Salmonella sp</i>	0,94	<i>P. expansum</i>	0,85
<i>C. botulinum</i>	0,93	<i>Asperg. Flav.</i>	0,78
<i>Staph. croiss.</i>	0,90	(synth.aflatoxine)	0,83
<i>Staph. survie</i>	0,86		

### II- Facteurs de variation de la prolifération microbienne

- Facteurs extrinsèques à l'aliment
- Facteurs intrinsèques à l'aliment
  - Activité de l'eau,  $a_w$
  - **pH**
  - Potentiel d'oxydo-réduction
  - Nature de l'aliment



### Relation entre pH et micro-organismes



*Pas si facile à retenir pH @ MoLeBac1-2-4.5*

### Relation entre pH et micro-organismes



*pH @ MoLeBac1-2-4.5*



### pH de croissance de certains micro-organismes

D'après Bourgeois et coll

Micro-organisme	mini	optimal	maxi
<b>Moisissures</b>	1,5-3,5	4,5-6,8	8-11
Levures	2-3,5	4-6,5	8-8,5
Bactéries acétiques	2	5,4-6,3	9,2
Bactéries lactiques	3,2	5,5-6,5	10,5
<i>Pseudomonas</i>	5,6	7	8
<i>Salmonella sp</i>	4,5	7	8-9
<i>C. Botulinum</i>	4,8	7	8,2
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,3	6,5-7,5	9,5

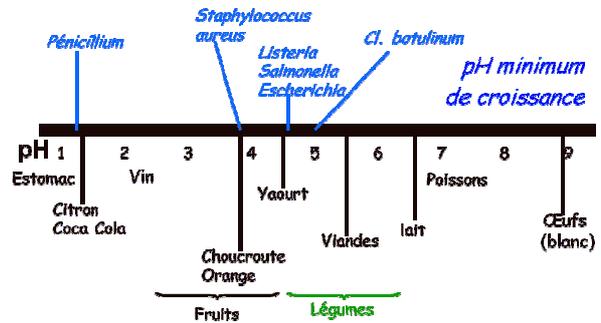


### pH des aliments

D'après Bourgeois et coll

Aliments	pH
Viande de bœuf	5,6 (5,3-6,2)
Viande de porc	5,3-6,4
Chair de poisson	6,5-6,8
Lait frais	6,3-6,8
Pommes de terre	5,4-6,2
Tomates	4,2-4,9
Pommes	2,9-3,3
Raisins	3,4-4,5
Yogourt	4,5
Citrons	2,3

### pH des Aliments vs. Minimum pH Bactéries



### Action des différents acides

- **équilibre dissocié (A- H+) / non dissocié (AH)**
  - Fonction du pH : à pH acide, dissociation moindre
  - Fonction du pKa
- **Acides forts:** dissociation rapide, acidification rapide et intense
- **Acides faibles**
  - Forme non-dissociée en proportion variable
  - C'est la forme non-dissociée qui entre dans les bactéries
  - C'est la forme **non-dissociée qui inhibe** les bactéries
  - Les acides organiques sont **plus inhibiteurs à pH acide**



### Pourcentage d'acide NON dissocié à différents pH

D'après Bourgeois et coll

Acides organiques	pH 4	pH 5	pH 6
Acétique	84	35	5
Sorbique	82	30	4
Benzoïque	59	13	1,4
Citrique	19	0,4	0,006
Lactique	6	6	0,6

#### Application:

Mayonnaise au citron ou au vinaigre ?



-Rappel :

- C'est la forme **non-dissociée qui inhibe** les bactéries
- Les acides organiques sont **plus inhibiteurs à pH acide**



### Effet du pH sur les micro-organismes.

- Modification de la disponibilité de certains co-facteurs enzymatiques (métaux) et Modification de la perméabilité membranaire (l'ion H+ bloque les perméases des cations)
- Synthèse de protéines de défense anti-acide: amélioration de la pompe à proton pour expulser H+, synthèse de HSP (Heat Shock Proteins, les mêmes que pour défense anti-chaud)
- *Et, bien que le cytoplasme soit relativement protégé des variations du pH extérieur :*
- Ralentissement du métabolisme enzymatique : si l'acide entre dans la cellule (car non dissocié), il va baisser pH intracellulaire, les enzymes ne seront plus à leur pH optimum d'activité



### Modification du pH des aliments

- **Ajout d'acide faible**
  - 1% (ac lactique, acétique...) - 0,05 % (ac sorbique...)
- **Fermentation**
  - Fermentation lactique
  - Fermentation alcoolique

**Remarque:** cas du *faisandage*

## II- Facteurs de variation de la prolifération microbienne

- Facteurs extrinsèques à l'aliment
- **Facteurs intrinsèques à l'aliment**
  - Activité de l'eau,  $a_w$
  - pH
  - **Potentiel d'oxydo-réduction**
  - Nature de l'aliment



## Le potentiel d'oxydo-réduction des aliments

- **Définition:**
- Capacité des constituants d'un aliment à céder ou accepter des électrons.
  - Oxydation: perte d'électron
  - Réduction: gain d'électron
- rH & Eh= paramètres difficiles à mesurer et variables dans le temps
- rH = Log de la pression partielle en Oxygène
- Eh en milli-Volts: par définition le couple eau/H<sub>2</sub> est à 0 mV  
eau/air +500 mV / viande fraîche -55 mV / viande cuite -135 mV
- Marqueur
  - de la croissance des micro-organismes
  - de la présence de molécules réductrices (ex: cystéine)
  - et de la présence d'O<sub>2</sub> dans l'aliment



## Potentiel RedOx des Aliments

- Milieux biologiques "épais", pauvres en O<sub>2</sub> et riches en substances réductrices (ex: viande)
- Evolution dans le temps
  - Ex: viande après l'abattage
- Cuisson rend l'aliment réducteur
  - L'ébullition chasse l'air (les bulles du début)
  - La cuisson crée des substance réductrices (Maillard...)
- Au contraire, couche fine aérée = jamais réducteur



## Relation entre potentiel RedOx et micro-organismes

- **Aérobies stricts**
  - Besoin d'O<sub>2</sub>
  - Potentiel RedOx positif
- **Anaérobies stricts**
  - Métabolisme fermentaire
  - Inhibés par la présence d'O<sub>2</sub>
  - Potentiel RedOx négatif

- *Pseudomonas*, microcoques, *Bacillus*
- Bactéries acétiques, bactéries nitrifiantes
- Moisissures
- *Clostridium*,
- *Bacteroides*, *Propionibacterium*

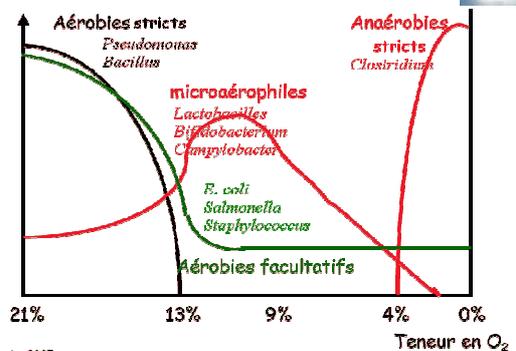


## Relation entre potentiel RedOx et micro-organismes

- **Aéro-anaérobies Anaérobies facultatives**
  - Peuvent utiliser l'O<sub>2</sub>
  - Croissance possible, mais ralentie en anaérobiose
- **Microaérophiles**
  - Faibles quantités d'O<sub>2</sub>

- Entérobactéries, Staphylocoques, levures
- Lactobacilles, Streptocoques lactiques, Campylobacter

## Relation entre potentiel RedOx et micro-organismes



Diapo G. Bénéard



### Influence de l'oxygène sur le métabolisme des micro-organismes

- Réactions d'oxydo-réduction --> énergie cellulaire
- Formation d'intermédiaires hautement réactionnels
  - Ion super-oxyde  $O_2^{\cdot-}$  détoxification/SOD
  - Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) détoxification/catalase
  - Radical hydroxyl (HO)
- Oxydation des constituants cellulaires
  - Lipides membranaires
  - Protéines et acides aminés
  - ADN



### Réactions des micro-organismes au stress oxydatif

#### Aérobies stricts et facultatifs

- Synthèse de SOD et Catalase
- Synthèse de polypeptides antioxydants

#### Anaérobies stricts

- Pas de catalase ni de SOD

#### Microaérophiles

- Catalase-moins, mais autres systèmes



### Applications du stress oxydatif

- Nettoyage-désinfection:  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, acide péracétique,  
oxydants chlorés, iodés
- Certains anti-cancéreux

Remarque: action du CO<sub>2</sub>



### Relations entre potentiel RedOx, conditionnement et danger microbiologique

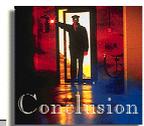
- **Sous air**
- **Sous vide**
- **Sous atmosphère modifiée/contrôlée**
- **Anaérobiose des grosses pièces de viande**



### Influence de la structure et la composition de l'aliment



- **Présence de barrières naturelles: peau = emballage protecteur**
  - Peau (animaux, fruits), aponévroses (viande), "cellules" (orange)
  - Cuticule, paroi, coquille
  - Aliments solides / liquides => gel (confiture), émulsion (beurre)
  - Influence des procédés de transformation = enlever la peau, trancher, broyer, mélanger, congeler/décongeler !
- **Composition de l'aliment: des nutriments pour l'envahisseur !**
  - Glucides > protéines > lipides
  - Eau, azote, sels minéraux, facteurs de croissance
  - +/- oxygène
  - Denrées animales particulièrement favorables aux pathogènes



## CONCLUSIONS

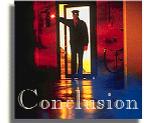
### Ecologie microbienne des aliments: Révision expresse

## Nature, origine et devenir des micro-organismes



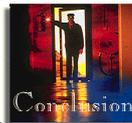
- **Nature:**
    - Bactéries: germes utiles, pathogènes, responsables d'altérations
    - Levures: fermentations, altérations
    - Moisissures: affinage, altérations
  - **Contamination:**
    - Matière première
    - Environnement
- } **5 M**
- **Développement:**
    - Conditionné par facteurs physico-chimiques
    - Pour chaque micro-organisme: conditions mini, optimale et maxi

## Ecologie microbienne: application en IAA



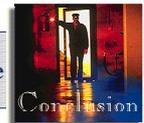
- **But pour l'industriel:**
  - **Éviter la contamination**
    - Hygiène, bonnes pratiques
    - Mesures préventives
  - **Détruire les germes indésirables**
  - **Maîtriser leur développement**
    - Favoriser les germes utiles aux dépens des germes indésirables
    - Inhiber le développement en jouant sur l'environnement du produit

## Paramètres influents sur le développement des micro-organismes



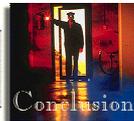
Paramètre	Effet
Aw	Survie
Diminution température	Survie
Conservateurs	Survie
pH	Mort possible
Potentiel rédox	Mort possible
Augmentation température	Mort
Radiations ionisantes	Mort

## Augmentation de température



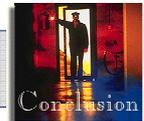
- **Valeurs seuils**
  - Aucun développement bactéries pathogènes si  $t^{\circ}\text{C} > 63^{\circ}\text{C}$
  - Destruction pathogènes f. végétatives si  $t^{\circ}\text{C} > 73^{\circ}\text{C}^*$
  - Destruction des spores pathogènes si  $t^{\circ}\text{C} > 100^{\circ}\text{C}^*$  (\*pendant un temps suffisant)
- **Paramètres de thermorésistance:**
  - Dt = temps de réduction décimale à température t
  - Z = augmentation de  $t^{\circ}\text{C}$  divisant D par 10
  - F =  $12D = 3 \text{ min}$  à  $121^{\circ}\text{C}$  = valeur stérilisatrice
- **Augmentation de la température**
  - Stérilisation --> conserves
  - Pasteurisation --> semi-conserves

## Diminution de température



- **Valeurs seuils**
  - Aucun développement microbien si  $t < -18^{\circ}\text{C}$
  - Pas de développement bactérien si  $t < -10^{\circ}\text{C}$
  - Pas de développement pathogène si  $t < +3.3^{\circ}\text{C}$
  - Pas de développement rapide pathogène si  $t < +10^{\circ}\text{C}$
- **Diminution de la température**
  - Réfrigération ( $0^{\circ}\text{C} < T^{\circ} < 7^{\circ}\text{C}$ )
  - Congélation ( $T^{\circ} < -12^{\circ}\text{C}$ )

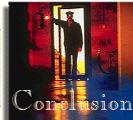
## Les radiations ionisantes



- **Valeurs seuils**
  - Destruction totale flore microbienne : **50 kGy**
  - Destruction totale germes pathogènes : **10 kGy**
- **Ionisation des Aliments**
  - Liste positive:
    - Viandes Séparées Mécaniquement 5 kGy
    - cuisse grenouille congelées, 5 kGy
    - Épices, 10 kGy
  - Dose  $\leq 10 \text{ kGy}$
  - Marquage explicite ou logo Radura



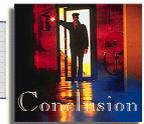
## Activité en eau



- **Valeurs seuils**
  - Aucun développement microbien si  $< 0,65$
  - Pas de développement bactérien si  $< 0,91$
- **DAOA**
  - $0,85 < a_w < 0,99$
- **Modification de l' $a_w$** 
  - Déshydratation, lyophilisation
  - Salage, sucrage
  - congélation



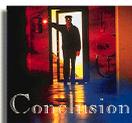
## Le pH



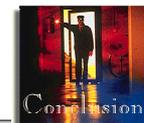
- **Valeurs seuils**
  - Aucun développement microbien si  $< 1,5$
  - Pas développement bactéries pathogènes si  $< 4,5$
- **DAOA**
  - $5,3 < a_w < 9$  (viande bœuf: pH 5.6)
- **Modification du pH**
  - Fermentation (lactique ou alcoolique)
  - Ajout d'acides faibles



## Le potentiel d'oxydo-réduction -



- **Valeurs seuils**
  - Dépend : aérobies, anaérobies...
- **DAOA**
  - Difficile à mesurer
  - Variations spontanées
- **Modification du potentiel Redox**
  - Conditionnement
  - Cuisson



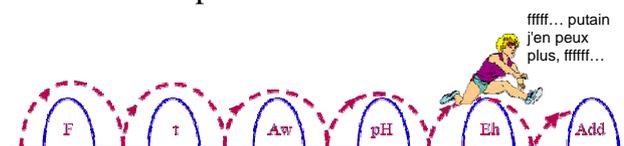
## Ecologie microbienne des aliments: Synergies & Prévisions



### Effet combiné des différents paramètres: la théorie des « Barrières »

- Chacun des paramètres évoqués peut être considéré comme **une barrière** (une **haie**) opposée au développement microbien
- La combinaison de plusieurs barrières peut permettre d'éviter la multiplication microbienne:  
**l'effet cumulé de plusieurs facteurs, non inhibiteurs pris individuellement, permet de préserver l'aliment**  
Ex: Aliment stable si  $pH < 4,5$  ou  $a_w < 0,91$   
OU si à la fois  $pH < 5,2$  **ET**  $a_w < 0,95$

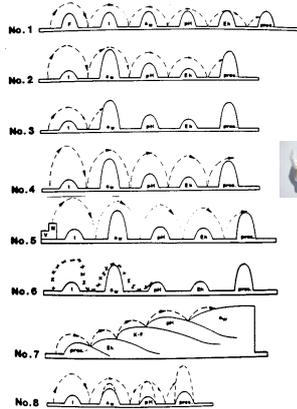
## Six facteurs protecteurs = 6 Barrières



- Chauffage F
- Réfrigération t
- Sécheresse  $A_w$
- Acidité pH
- Oxydo-réduction Eh
- Additifs anti-bact. Add

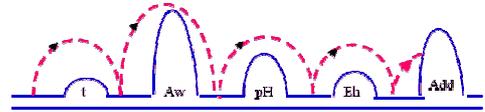


F: chauffage  
t: réfrigération  
Aw: activité hydrique  
pH: acidification  
Eh: potentiel redox  
Fres: conservateurs  
K-F: flore compétitrice  
V: vitamines  
N: nutriments

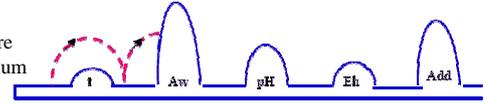


D'après Leistner

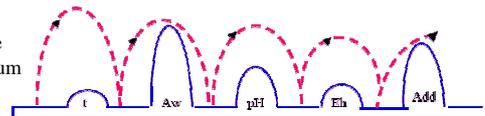
## Ex. deux barrières majeures Faible Aw + Additifs



Produit propre  
Faible inoculum



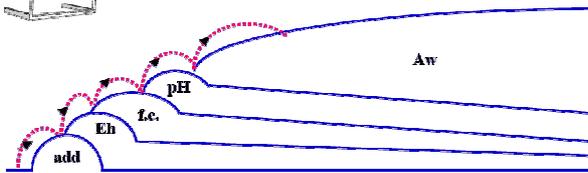
Produit sale  
Fort inoculum



Dessin G. Bénéard



Barrières accumulées lors de la fabrication et du séchage du saucisson

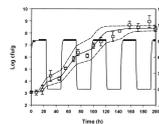
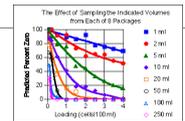


Dessin G. Bénéard d'après L. Leistner



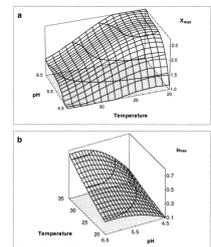
## Microbiologie Prévisionnelle

- Prévoir croissance bact. à partir de tests expérimentaux
- En fonction de pH, aw, température
- Durée latence, Vitesse croissance, & Densité maximum pour une bactérie : courbes & modèles mathématiques

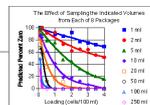


Fluctuations de température

Courbes 3D



## Microbiologie Prévisionnelle



- Ces courbes permettent de proposer une DLC raisonnée
- C'est l'avenir, mais ce n'est pas encore parfait !