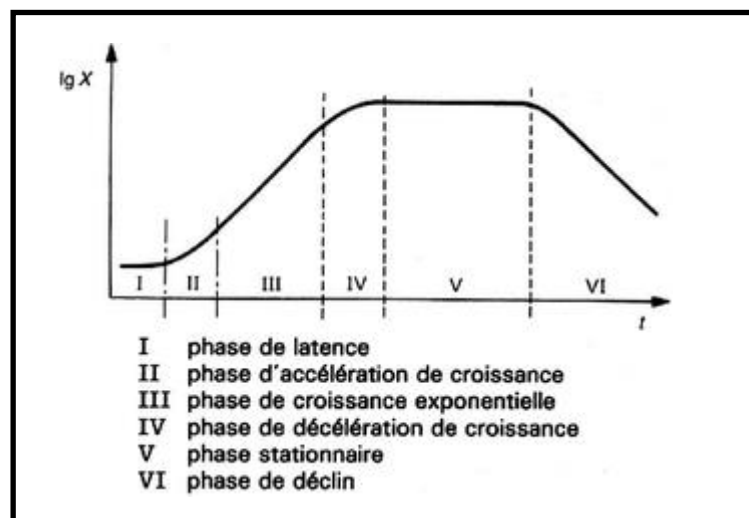


## DESTRUCTION THERMIQUE DES MICROORGANISMES

### I. Rappel sur la croissance et les facteurs de développement des microorganismes

Dans les conditions favorables, les microorganismes ont une remarquable vitesse de croissance. En général, la reproduction d'un germe demande de 10 à 30 min. Lorsqu'on ensemence un milieu, la croissance se fait en 04 phases schématiques :



→ **Phase de latence [AB]** : Aucune croissance n'est observée. Elle correspond à l'adaptation au milieu où la multiplication est très faible. Cette phase évolue avec le temps et dépend de la contamination du produit (charge initiale en microorganismes). Elle correspond à la mise en route des systèmes enzymatiques des bactéries.

→ **Phase de croissance [BC]** : Ou phase exponentielle, elle correspond à une accélération considérable de la reproduction.

→ **Phase stationnaire [CD]** : Dite aussi phase de sélection, elle correspond au point où le milieu nutritif est épuisé ou à l'apparition de nouvelles substances qui inhibent la reproduction cellulaire. Dans cette phase, les microorganismes survivent sans avoir la faculté de se multiplier.

→ **Phase de déclin [DE]** : Dite aussi phase d'autolyse, elle correspond à la destruction des cellules par leurs propres enzymes hydrolytiques.

**Exemple de m'évolution de la flore microbienne du lait en fonction de la durée de stockage à 20°C**

Temps de stockage (Heures)	Nombre de microorganismes (germes/ml)
0	14*10 <sup>4</sup>
24	25*10 <sup>6</sup>
48	650*10 <sup>6</sup>
92	5.5 milliards

**Conclusion :** La qualité du produit fini dépend de sa charge microbienne initiale, qui va déterminer l'importance de son altération. Pour arriver à une bonne qualité du produit fini, il faudra donc réduire sa charge microbienne initiale.

## II. Choix et efficacité des techniques de préservation des aliments par la chaleur

Le choix des techniques et de leur efficacité est étroitement lié aux conditions que présentent les aliments durant leur traitement et leur stockage. Par exemple, la présence d'ingrédients osmotiquement actifs (sel, sucre) ou inhibiteur (acide), détermine jusqu'à quelle limite le traitement thermique est nécessaire.

**L'acidité** de l'aliment est particulièrement importante. L'effet inhibiteur des acides sur les microorganismes d'altération commence à devenir apparent à pH= 5.3.

**Exemple :** Les spores de *Bacillus* et de *Clostridium* peuvent être fortement thermoresistantes. Cependant, si ces spores se trouvent dans un milieu alimentaire dont le pH < 4, elles ne pourront ni germer ni se développer. Pour des pH entre 4 et 4.5 (4.5 ≤ pH < 5), certaines bactéries sporulées non pathogènes et modérément thermorésistantes peuvent se développer : *Bacillus coagulans* et *Bacillus thermoacidurans*. Il existe certaines *Salmonella* pathogènes qui arrivent à se développer à des pH de l'ordre de 4.

**NB.** Les formes végétatives de *C. botulinum* produisent une toxine thermolabile.

**Conclusion :** En voyant donc le pH des aliments on peut apprécier le besoin en traitement thermique.

- En dessous d'un pH de 3.7 (très acide), seules les moisissures pourraient se développer
  - Pour les aliments acides ( $3.7 \leq \text{pH} < 4.5$ ), un traitement de pasteurisation est suffisant
  - Pour les aliments faiblement acides ( $\text{pH} \geq 4.5$ ), on juge qu'une stérilisation est nécessaire.
- Le point de démarcation se situe donc au pH de 4.5

Par ailleurs, les aliments (naturels) renferment des enzymes qui peuvent provoquer des modifications au cours du stockage. Ces enzymes peuvent être libérées par les microorganismes qui s'y sont développés. Une stabilisation de ces aliments par traitement thermique nécessite la destruction de ces enzymes (préformées ou microbiennes) ; Il s'en suit que même les aliments fortement acides ( $\text{pH} < 3.7$ ) nécessitent un certain traitement thermique pour inactiver les enzymes pouvant les abîmer.

### **III. Principaux traitements thermiques de préservation des aliments**

Il existe deux principaux groupes des méthodes de pasteurisation des aliments :

- a. Méthodes chimiques : agents chimiques
- b. Méthodes physiques :

- Filtration,
- Radiations
- Chaleur

En IAA, la préservation des aliments par la chaleur se base sur 02 principales méthodes :

- La pasteurisation
- La stérilisation

### **1. La pasteurisation**

Cette opération doit assurer la destruction de la totalité de la flore pathogène et de la majeure partie de la flore banale en altérant le moins possible le produit. Elle se fait à une température < 100°C et permet la conservation du produit pendant quelques jours ; Elle est surtout utilisée pour le lait mais aussi pour certaines boissons. Le fumage de la viande est parfois comparé à une pasteurisation. Il existe deux types de pasteurisation :

- Pasteurisation Haute : ou procédé HTST, 72 à 80°C /15sec
- Pasteurisation basse : 63°C/30 min.

### **2. La stérilisation**

En IAA, elle consiste en un traitement thermique choisi, appliqué pour tuer les microorganismes et leurs spores qui sont capables de se développer dans l'aliment dans des conditions de stockage données.

Cette opération vise donc à détruire tous les microorganismes y compris les spores microbiennes et les enzymes à une température  $\geq 100^\circ\text{C}$ , de manière à éviter sa dégradation.

Il existe deux grands types de stérilisations, selon que l'on dispose de produits déjà emballés ou de liquides susceptibles d'être stérilisé en flux continu et emballé ultérieurement.

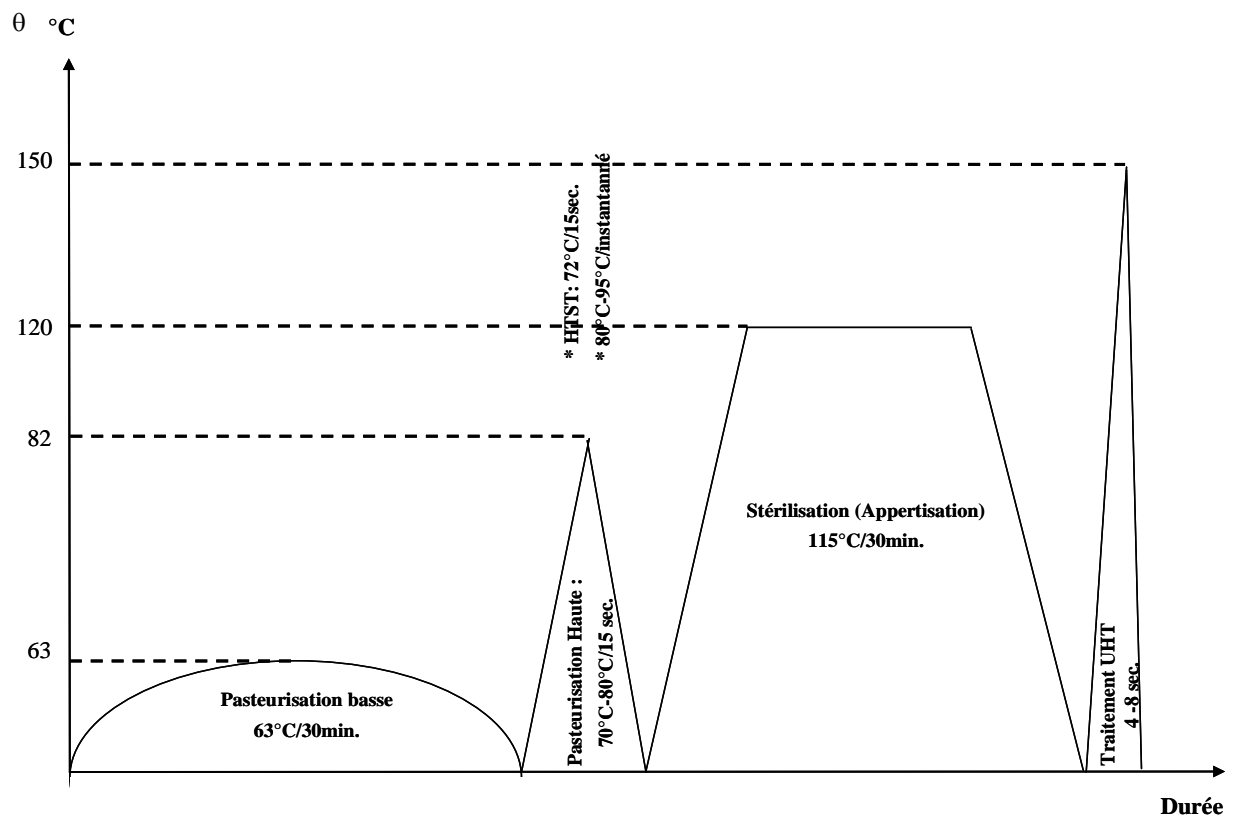
- a. ***Stérilisation en discontinu à l'autoclave*** : Le traitement thermique dure 20 à 50 min. à une température de 110 à 120°C. Cette opération appelée ***appertisation (par Nicolas Appert, 1800)***, consiste à traiter les aliments conditionnés dans des récipients hermétiquement clos. Les modalités exactes de l'opération sont fonction des dimensions des emballages. Plus celles-ci sont importantes et plus le laps de temps nécessaire pour stériliser le cœur du produit sera long.
- b. ***Stérilisation en flux continu*** : Cette technique s'applique principalement au lait et reçoit le nom de traitement UHT (Ultra Haute Température). Le lait est soumis à des températures élevées de l'ordre de 140 à 150°C pendant 4 à 8 sec., puis refroidi sous vide et emballé de façon aseptique. La réalisation de cette opération peut se faire selon deux techniques :

1- Par chauffage direct où soit on injecte une vapeur d'eau surchauffée dans le lait (Upérisation), soit on injecte le lait dans la vapeur. L'eau ayant servi à cette opération est récupérée en sa totalité après refroidissement ;

2- Par chauffage indirect où le lait (ou le liquide alimentaire) passe dans une tuyauterie portée à haute température. Cependant, cette technique entraîne certaines surchauffes

Un autre type de stérilisation en flux continu est la stérilisation par friction qui consiste au passage du liquide alimentaire entre deux plaques fixes avec un écart d'environ 0.3 mm. Le chauffage des plaques se fait par friction à l'aide de disques

tournant entre 4000 et 5000 tr/min. C'est une stérilisation ultra-rapide = ultra-flash. On l'utilise pour le lait, les crèmes, les laits aromatisés, entremets, crèmes glacées, jus de fruit ou de viande etc.



Schématisation des principaux traitements thermiques en IAA

#### IV. Destruction thermique des microorganismes d'altération : Nécessité de l'établissement de barèmes de stérilisation

La stabilité microbiologique et la qualité des aliments traités par la chaleur sont dépendantes de la Température et de la durée du traitement. Un traitement thermique *insuffisant* laisserait la possibilité d'une altération microbienne des aliments et traitement thermique *intense* risquerait d'altérer les *qualités nutritionnelles et organoleptiques* des aliments.

C'est pourquoi les paramètres d'un traitement thermique convenable doivent être estimés sur la base de la *résistance des microorganismes à la chaleur* et à la *connaissance de l'historique thermique de l'aliment au cours de son élaboration*.

Expérimentalement, il a été constaté que les spores bactériennes ainsi que leurs formes végétatives, chauffées à une température suffisamment élevée et constante pour leur devenir nuisible (120°C), leur destruction suit la loi logarithmique suivante :

$$dN/dt = -K.N_0$$

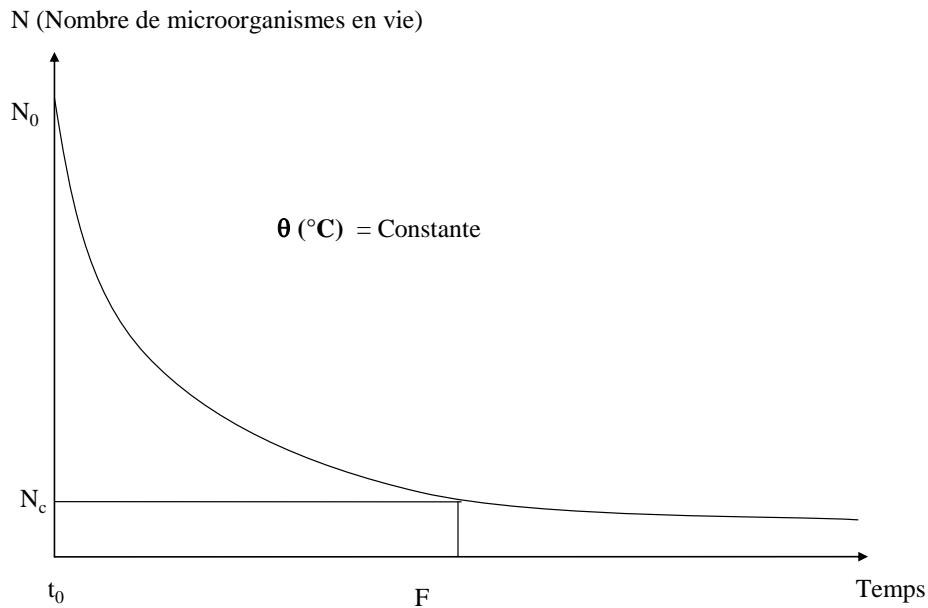
Où :

$N_0$  : Nombre de spores initiales avant traitement thermique

$N$  : Nombre de spores finales après traitement thermique

$k$  : Vitesse relative de destruction thermique

Le nombre de spores/unité de volume va décroître selon l'équation (1). L'intégration entre :



L'intégration entre  $t_0$  (avec  $N_0$ ) et  $t$  (avec  $N$ ) permet d'avoir la relation :

$$\ln N/N_0 = -K.t$$

Le passage au  $\text{Log } \chi$  se fait par l'équation :

$$\ln \chi = 2,303 \cdot \log \chi$$

Le remplacement du  $\ln \chi$  par le  $\log \chi$  donne :

$$\log N/N_0 = -(1/D_\theta).t$$

Où :

$$-1/D_\theta = -k/2,303$$

$D_\theta$  : c'est une durée donnée en secondes. C'est le temps nécessaire pour détruire au  $1/10^{\text{ème}}$  le nombre de spores ou de germes vivants. **C'est le temps de réduction décimale.**

$\theta$  : Température du traitement thermique ( $^\circ\text{C}$ )

$t$  : Durée du traitement thermique

- Pratiquement, on admet que D est indépendant. Il est fonction uniquement de la température de chauffage, du type du microorganisme et de la composition du milieu.
- Comme les équations montrent que N ne peut atteindre la valeur "0" que si le temps est infini, il apparaît qu'il est impossible de stériliser une suspension de spores avec certitude, de ce fait, le concept de **stérilité commerciale** est né.
- Si la concentration en bactérie donnée ou en spores d'un produit alimentaire est réduite jusqu'en dessous d'une certaine valeur ( $N_c$ ), suffisamment basse pour présenter un risque d'altération acceptable commercialement, le produit est dit commercialement stérile par rapport aux microorganismes ou aux spores en question.
- Comme  $D_0$  dépend du type de microorganisme et de la température, en général on exprime sa valeur à  $\theta = 121,1^\circ\text{C}$  soit  $250^\circ\text{F}$  pour des spores de *Clostridium* et de *Bacillus*.

Exemples : <i>Clostridium botulinum</i>	$D_{121,1} = 6 \text{ à } 12\text{sec}$
<i>Clostridium sporogenes</i> (Certains)	$D_{121,1} > 100\text{sec}$
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	$D_{121,1} = 250\text{sec}$

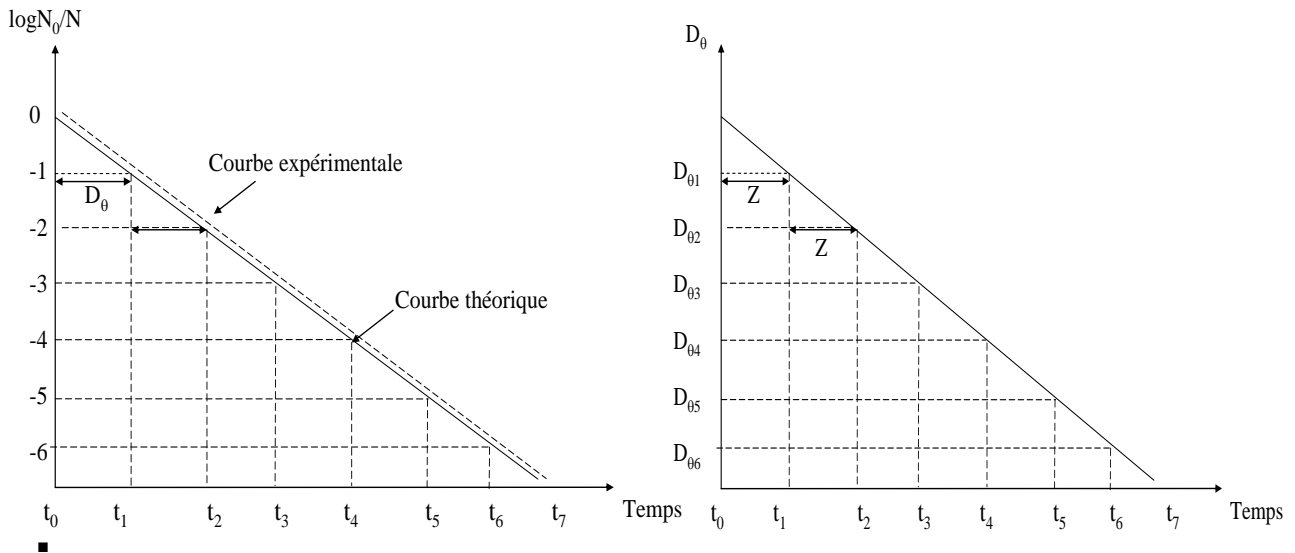
- Pour les bactéries non sporulées, les levures et les moisissures, on exprime  $D_0$  à  $\theta = 65^\circ\text{C}$ ,  $D_{65} < 30 \text{ sec}$ . L'exception se fait sur les bactéries thermophiles pour qui, cette température n'est pas létale.
- Par expérience, il a été montré que **la marge de sécurité** est largement suffisante lorsqu'on applique un traitement qui serait capable de réduire au  $1/10^2$  le nombre de spores initialement présentes dans les souches de *Clostridium botulinum*. Cependant, il existe d'autres formes de spores plus résistantes comme *Bacillus stearothermophilus* et qui ne sont ni pathogènes ni toxinogènes.

## V. Facteurs influençant $D_0$

- En général,  $D_0$  s'abaisse de part et d'autre de la neutralité
- Une augmentation de la pression osmotique ou une diminution de l' $a_w$  peut diminuer fortement  $D_0$
- La présence de matière grasse dans le milieu augmente en général fortement  $D_0$



- Les protéines ont une légère action protectrice vis à vis des spores et des formes végétatives et donc, engendrent une augmentation du  $D_0$
- Certaines épices diminuent nettement  $D_0$



- Un traitement thermique visant la destruction des microorganismes est caractérisé par deux valeurs :

- La durée  $F$  : donnée en minutes appelée **valeur stérilisatrice** nécessaire pour obtenir à 250°F soit 121,1°C la stérilité pratique  $N_c/N$  qu'on se fixe (varie d'un produit à un autre).
- Le nombre  $Z$  : représente l'élévation de température en °C nécessaire permettant de réduire à 90% la durée de stérilisation  $D_0$ . Par exemple,  $Z$  est de 5°C (à 7°C) pour les formes végétatives et de 10°C pour les formes sporulées. C'est à dire que si on élève la température de chauffage de 5°C par rapport à la température létale, on réduit le temps nécessaire de réduction au 1/10<sup>ème</sup> de la valeur initiale.

- On peut également dire que  $Z$  est l'écart de température pour lequel le temps de réduction décimal  $D_0$  est modifié par un facteur de 10 ou encore  $Z$  est l'élévation de température qui permet la réduction de  $D$  au 1/10<sup>ème</sup> de sa valeur.
- $Z$  peut être déterminé graphiquement pour un microorganisme donné

- La condition pour l'obtention de la **stérilité commerciale**

$$N_f \leq N_c$$

- Pratiquement, il est impossible de réaliser une stérilisation complète d'un produit alimentaire (réduction complète de sa charge microbienne) suite à un traitement thermique à une température constante et pendant un temps donné.
- En fait, quand on plonge un corps dans un milieu à une température létale, la température d'un point de ce corps est variable dans le temps. Donc, en réalité, la destruction des microorganismes est assurée non pas par un traitement à une température donnée mais bien par une somme de traitements élémentaires, chacun réalisé à une température différente de celle qui précède.

## VI. Pénétration de la chaleur et établissement de barèmes de stérilisation

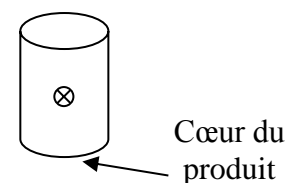
### a. Pénétration de la chaleur

La mise en œuvre du procédé Appert selon la méthode classique comporte :

1. l'introduction de produit convenablement préparé dans un récipient (boîte, bocal, flacon)
2. le traitement thermique du récipient avec son contenu
3. le refroidissement

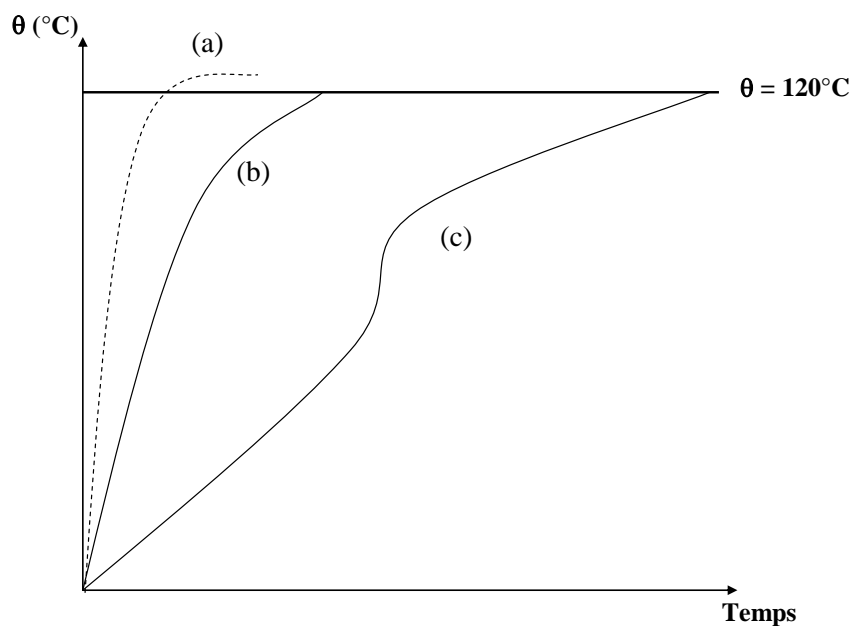
Ce qui est important de connaître est l'évolution de la température de la partie du produit subissant au total, phase de refroidissement comprise, le chauffage le plus faible. On parle dans ce cas de :

→ *point critique* : c'est le point qui met le plus de temps pour se chauffer. Il se situe au centre géométrique de la masse du produit.



→ Régions ou surfaces *iso-F* : Ce sont tous les points où la valeur de F est la même.

La mesure des variations de température en divers points et plus spécialement au point critique en fonction du temps peut être effectuée au moyen de couples thermoélectriques. Ce sont des thermocouples spéciaux fixés au récipient et reliés à un potentiomètre enregistreur. Cette mesure donne des courbes de formes différentes. On peut distinguer 03 cas de figures :



Evolution de la température au cœur de produits alimentaires de différentes natures

- Il s'agit là de produits très mobiles agités énergiquement (liquide, semi-liquide) : exple : jus de fruits chauffés en couche mince et en circulation rapide avec échange de chaleur. Dans ce cas, le chauffage se fait par convection, la température de traitement est atteinte instantanément et le refroidissement est également rapide.
- Cas des produits mobiles mais non agités : exple : petits pois, fruits en sirop léger. Le transfert de chaleur se fait essentiellement par convection. Il est plus long dans ce cas car il est du uniquement aux différences de températures mais pas à l'agitation
- Dans ce cas, les produits sont constitués :
  - soit par une masse solide compacte (viande, corned beef)
  - soit par un liquide de viscosité élevée, exple : sirop de sucre, gel d'amidon, ...

La propagation de chaleur se fait dans ce cas uniquement par convection : transmission de vibrations thermiques de molécule en molécule dans la masse du produit de proche en proche à partir des parois du récipient jusqu'au point critique. Ce transfert de chaleur est relativement long. Il faut en tenir compte au cours de la montée de température et aussi au cours du refroidissement.

***b. Etablissement des barèmes de stérilisation***

S'opère en plusieurs étapes :

1. Evaluation de la charge microbienne avant stérilisation sur les matières premières et les boîtes terminées de façon à déterminer la contamination des matières premières et l'hygiène de fabrication. Pour cela, on procède à la détermination :

- du nombre de germes aérobies et anaérobies
- du nombre de spores et de thermorésistants afin de connaître le microorganisme le plus thermorésistant, caractéristique du produit alimentaire et de sa population (c'est souvent *Clostridium botulinum*)

2. Etablissement du barème théorique minimum qui est donné par la cinétique de destruction :

$$F = D \times \log N_0/N$$

Où : F : Valeur stérilisatrice (min.), D : temps de réduction décimale, N<sub>0</sub> : population initiale de germes, N : population finale de germes, N<sub>0</sub>/N : la réduction que va appliquer l'industriel

3. Vérification au simulateur par la réalisation d'une stérilisation à l'échelle réduite en :
  - Utilisant les barèmes existant
  - Utilisant les barèmes modifiés

On peut ainsi approcher la valeur stérilisatrice à appliquer de façon à garantir la stérilité suffisante et des propriétés organoleptiques convenables.

4. Vérification sur un autoclave de fabrication se fait par l'établissement des courbes de destruction microbiennes et notamment par dégustation.

Pour suivre à l'autoclave la **valeur stérilisatrice** appliquée, il est nécessaire de comparer les traitements thermiques entre eux selon la formule :

$$t_2 = F \times 10^{[(\theta_2 - \theta_1)/Z]}$$

## TD

### Exercice 1

La réduction de 1 à  $10^{-9}$  d'une population initiale de spores de *Clostridium botulinum* est obtenue par chauffage à 120°C pendant 10 sec.

- 1- Calculez le temps de réduction décimale  $D_{120^{\circ}\text{C}}$  ?
- 2- Calculez la valeur du Z sachant que la même réduction est obtenue en 27,5min à 120°C ?

### Exercice 2

Une suspension de  $10^9$  spores/ml de *Clostridium* est chauffée à  $\theta = 116^{\circ}\text{C}$  pendant 3min. On donne  $Z = 8,26^{\circ}\text{C}$  et  $D_{120^{\circ}\text{C}} = 11,11$  sec

⇒ Déterminez la population résiduelle après chauffage