



Espresso meeting (03/06/2014)
« *La durée de vie microbiologique des aliments* »

**Facteurs influençant
la conservation des aliments
+ « *Hurdle Technology* »**

Source : Antoine Clinquart, Univ. Liège
Dépt Sciences des Denrées alimentaires



Présenté par Nicolas Korsak, Univ. Liège
Dépt Sciences des Denrées alimentaires



**I. Modifications durant
le stockage et la conservation**



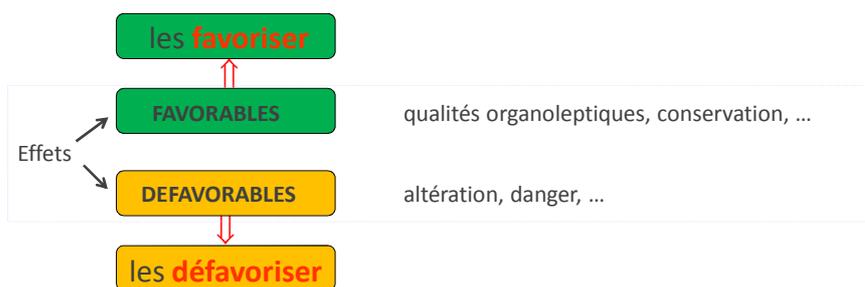
ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

2

Origine ?

- **Chimiques** (non enzymatiques)
- **Biochimiques** (enzymatiques)
- **Physico-chimiques** : physiques (+ chimiques/biochimiques)



Mécanismes ?

Origine	Mécanisme
Chimique	Oxydation des lipides Oxydation des pigments
Biochimique	Glycolyse Protéolyse Lipolyse Brûnisement enzymatique
Physico-chimique	Migration Evaporation 'Lésion' par le froid Synérèse

} ⇒ aussi par M.O.

Modifications biochimiques

=> enzymes¹ (+ catalyseurs)

- Glycolyse
 - Protéolyse
 - Lipolyse
 - Brûnisement enzymatique
- } => aussi par M.O. (ou ingrédients ajoutés ²)

Taux réaction ↗ lorsque concentration substrat ↗ (jusque max.)
 température ↗ (jusque dénaturation)
 conditions de pH optimales
 Fe libre ou hémoprotéines

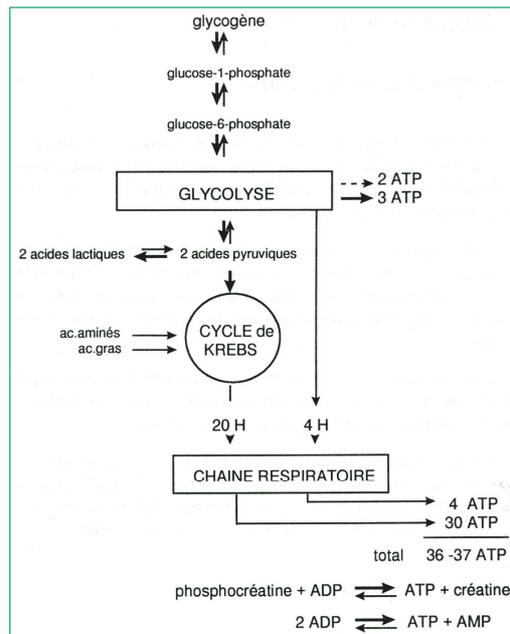
¹ Dénaturation possible si chaleur, acidité ou alcalinité extrêmes ou force ionique élevée

² Ex. : enzymes, épices, ...



Modifications biochimiques :

Glycolyse



Modifications **biochimiques** :

Protéolyse



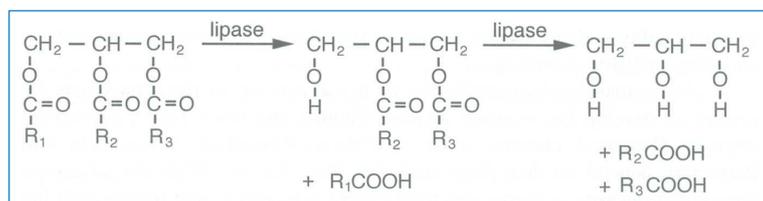
ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

7

Modifications **biochimiques** :

Lipolyse



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

8

Modifications biochimiques :

Lipolyse (suite)

Concentration en acides gras libres dans les produits laitiers et valeurs seuil de détection d'une flaveur rance [Allen 1989 cité par Stringer et Dennis 2000]

Product	Free fatty acid values (meq/g fat)	
	Normal	Likely to cause problems
Milk powder	0.3-1.0	1.5-2.0
Ice cream	0.5-1.2	1.7-2.1
Butter	0.5-1.0	2.0
Cheese:		
Cheddar	1.2	2.9
Brie	1.2	-
Blue	40.0	-



ULg-DDA (A.C.)

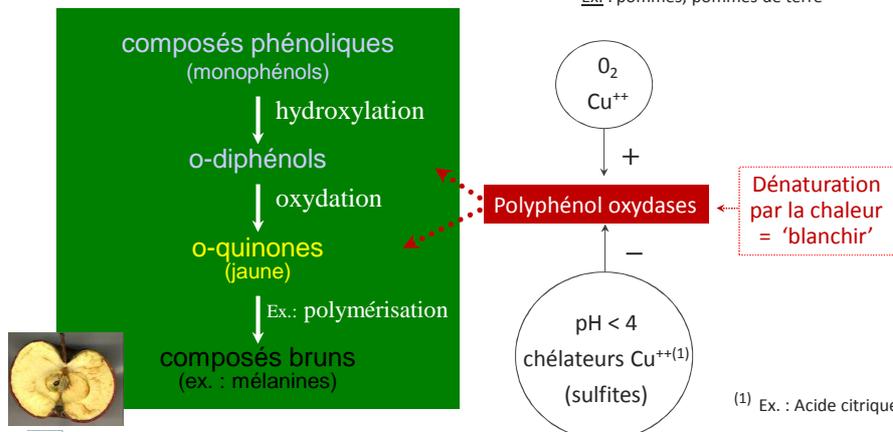
Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

9

Modifications biochimiques :

Brûnisement enzymatique → brûnisement des fruits et légumes

Ex. : pommes, pommes de terre



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

10

Modifications chimiques

=> autocatalytiques

- Oxydation des lipides
- Oxydation des pigments

Modifications chimiques

Autooxydation des lipides

Initiation



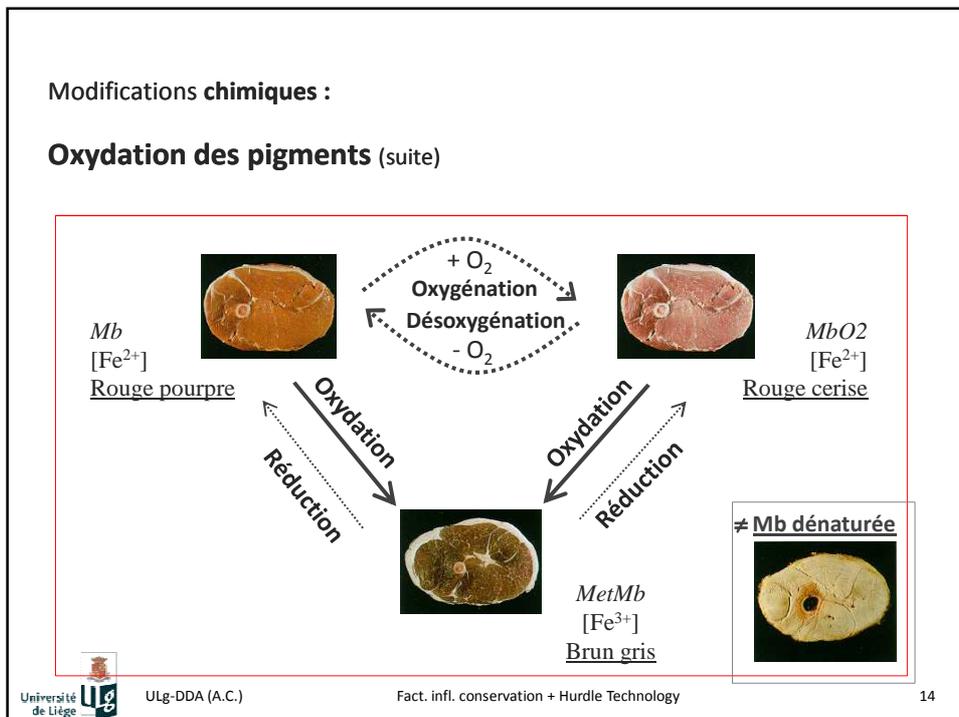
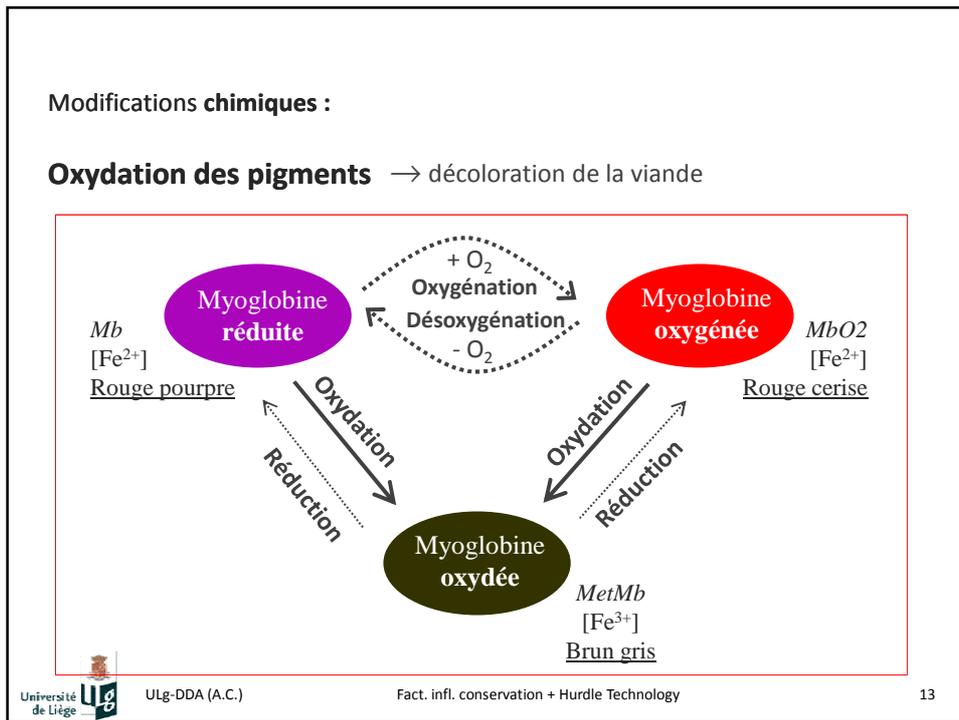
Propagation



Réaction en chaîne des radicaux libres [Stringer et Dennis, 2000]

Ex. : viande, poisson, produits laitiers

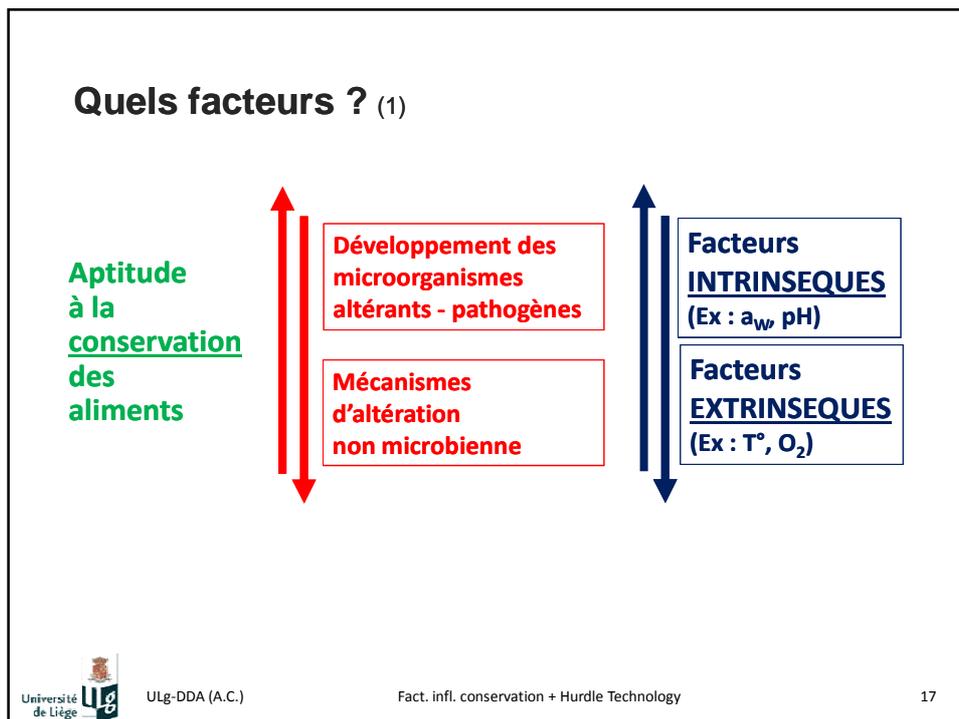
Oxydation ↗ lorsque teneur en ac. gras insaturés ↗
 oxygène ↗
 température ↗
 lumière ↗
 Fe libre ou hémoprotéines



Altérations physiques

Ex. : Lésions durant la capture
le transport
le nettoyage

II. Facteurs influençant la conservation



Quels facteurs ? (2)

Facteurs intrinsèques	Facteurs extrinsèques
pH Teneur en eau Activité de l'eau Pot. oxydo-réduction Structures biologiques Const. Antimicrobiens Nutriments	Température Humidité (H.R.) Atmosphère Lumière (Microorganismes)

Université de Liège ULg
ULg-DDA (A.C.)
Fact. infl. conservation + Hurdle Technology
18

pH (1)

$$\text{pH} = - \log [\text{H}^+]$$

dans laquelle [H+] est la **concentration en ions hydrogène**

La concentration en ions hydrogène de l'eau pure est très faible : 0,0000001 g par litre, soit 10⁻⁷ g/l. Le pH correspond à l'exposant dont le signe négatif a été « éliminé ». Le pH de l'eau pure est donc de 7. On considère dès lors que cette valeur correspond à la neutralité. En pratique, le pH d'une solution peut varier de 0 à 14. Lorsqu'un pH est inférieur à 7 (correspondant à une concentration en ions hydrogène supérieure à 10⁻⁷ g/l), on considère qu'il est « *acide* ». Lorsqu'un pH est supérieur à 7 (correspondant à une concentration en ions hydrogène inférieure à 10⁻⁷ g/l), on considère qu'il est « *basique* ».

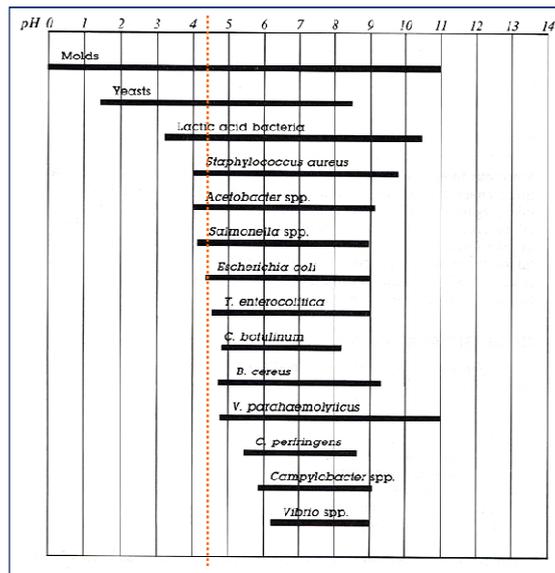
Remarque : On entend parfois le terme « degré d'acidité » au lieu du pH. Ce terme doit être évité parce que toute solution (ou produit) qui n'est pas acide a quand même un pH et parce que différents acides, même à une concentration identique, ont des valeurs de pH différentes.



pH (2)

Niveaux de pH approximatifs permettant la croissance de quelques bactéries responsables de toxi-infections alimentaires

[Jay, 1986]



pH (3)

Niveaux de pH approximatifs permettant la croissance de quelques bactéries responsables de toxi-infections alimentaires

[IFT/FDA, 2003]

Table 3-5—Approximate pH values permitting the growth of selected pathogens in food

Microorganism	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Clostridium perfringens</i>	5.5 to 5.8	7.2	8.0 to 9.0
<i>Vibrio vulnificus</i>	5.0	7.8	10.2
<i>Bacillus cereus</i>	4.9	6.0 to 7.0	8.8
<i>Campylobacter</i> spp.	4.9	6.5 to 7.5	9.0
<i>Shigella</i> spp.	4.9	9.3	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4.8	7.8 to 8.6	11.0
<i>Clostridium botulinum</i> toxin	4.6	8.5	
growth	4.6	8.5	
<i>Staphylococcus aureus</i> growth	4.0	6.0 to 7.0	10.0
toxin	4.5	7.0 to 8.0	9.6
Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i>	4.4	6.0 to 7.0	9.0
<i>Listeria monocytogenes</i>	4.39	7.0	9.4
<i>Salmonella</i> spp.	4.2 ¹	7.0 to 7.5	9.5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4.2	7.2	9.6

Sources: Table 5.3 in ICMSF 1980, p 101.
¹pH minimum as low as 3.8 has been reported when acidulants other than acetic acid or equivalent are used.



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

21

pH (4)

pH des viandes et des produits à base de viande et comparaison avec d'autres denrées alimentaires d'origine animale (D.A.O.A.)

Viandes et prod. viande	pH	Autres D.A.O.A.	pH
Muscle (animal vivant)	7,0-7,2	Poisson (la plupart)	6,6-6,8
Viande (pH final normal)	5,3-5,8	Saumon	6,1-6,3
Viande « P.S.E. » (pH1)	<5,8	Crevette	6,8-7,0
Viande « D.F.D » (pH24)	>6,2	Huîtres	4,8-6,3
Volaille	6,2-6,4	Lait	6,3-6,5
Jambon cuit	5,8-6,2	Crème	6,5
Jambon cru (maturé)	5,3-5,8	Beurre	6,1-6,4
Pâté de foie	5,9-6,3	Fromage	>4,5
Saucisse de Francfort	5,8-6,3	Yaourt	3,7-4,3
Boudin noir	6,6-7,1	Oeuf	7,3-7,6
Saucisson sec	4,8-6,3		

(d'après Hofmann, 1988) (d'après Jay, 1986; Rosenthal, 1991)



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

22

pH (5)

pH de quelques denrées alimentaires d'origine végétale

Légumes	pH	Fruits	pH
Asperges	5,7-6,1	Pomme	2,9-3,3
Broccoli	6,5	Banane	4,5-4,7
Choux de Bruxelles	6,3	Citron	1,8-2,0
Carottes	4,9-5,2	Melon	6,3-6,7
Choux-fleur	5,6	Orange	3,6-4,3
Céleri	5,7-6,0	Pamplemousse	3,0
Laitue	6,0	Prune	2,8-4,6
Persil	5,7-6,0	Raisin	3,4-4,5
Pomme de terre	5,3-5,6	Olives	3,6-3,8
		Tomate	4,2-4,3

(d'après Jay, 1986) (d'après Jay, 1986)

Eau ?

Teneur en eau = « quantité d'eau perdue par le produit lorsqu'on l'amène en équilibre vrai avec une pression de vapeur nulle ($H.R. = 0\%$), dans des conditions telles que des réactions perturbatrices éventuelles soient évitées » [d'après Guilbot, 1949 et 1964].

Teneur en eau = « quantité d'eau présente dans le produit, constituée de molécules dans lesquelles le noyau d'oxygène et les deux noyaux d'hydrogène ont, dans des limites définies, les mêmes distances intermoléculaires que dans l'eau liquide » [d'après Stitt, 1958].

Eau ?

Néanmoins, il a été également observé que différents types de denrées alimentaires présentant la même teneur en eau ne présentaient pas la même sensibilité à l'altération. En conséquence, la teneur en eau, seule, n'est pas un indicateur fiable de cette sensibilité. Cette observation est attribuable, en partie, à des différences dans l'intensité avec laquelle **l'eau s'associe à des constituants non-aqueux** c-à-d le degré de fixation de l'eau : l'eau engagée dans des associations (liaisons ?) fortes subira moins d'activité de dégradation (telles que la croissance des microorganismes ou les réactions chimiques hydrolytiques) que l'eau qui est faiblement associée [Fennema, 1996].

Cette observation était traduite anciennement par les notions d'eau « *liée* » et d'eau « *libre* », l'eau libre étant disponible pour le développement des microorganismes [Baracco *et al.*, 1990].

A_w (1)

La notion d' « **activité de l'eau** » a été développée pour exprimer **l'intensité avec laquelle l'eau est associée avec divers constituants non aqueux**. L'abréviation a_w est issue des termes anglais « *activity of water* » ou « *water activity* ».

L'activité de l'eau s'exprime par la formule :

$$a_w = \frac{P}{P_o}$$

dans laquelle

- P est la pression de vapeur d'eau de la denrée alimentaire (ou de la solution) ;
- P_o est la pression de la vapeur d'eau pure saturée à la même température.

Il en résulte qu'elle s'exprime par un nombre compris entre 0 et 1.

A_w (2.1.)

Table 3-4. Approximate minimum a_w values for the growth of microorganisms of importance in foods.

Organisms	a _w	Organisms	a _w
GROUPS		GROUPS	
Most spoilage bacteria	0.9	Halophilic bacteria	0.75
Most spoilage yeasts	0.88	Xerophilic molds	0.61
Most spoilage molds	0.80	Osmophilic yeasts	0.60
SPECIFIC ORGANISMS		SPECIFIC ORGANISMS	
<i>Clostridium botulinum</i> , Type E	0.97	<i>Candida scottii</i>	0.92
<i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
<i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
<i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Endomyces vernalis</i>	0.89
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Clostridium botulinum</i> , Types A and B	0.94	<i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Aspergillus glaucus</i> ^a	0.70
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Saccharomyces rouxii</i>	0.62
<i>Mucor spinosus</i>	0.93	<i>Monascus bisporus</i>	0.61
		<i>(Xeromyces bisporus)</i>	0.61

^a Perfect stages of the *A. glaucus* group are found in the genus *Eurotium*.

[Jay, 1986]



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

27

A_w (2.2.)

Table 3-2—Approximate a_w values for growth of selected pathogens in food

Organism	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Campylobacter</i> spp.	0.98	0.99	
<i>Clostridium botulinum</i> type E*	0.97		
<i>Shigella</i> spp.	0.97		
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0.97		
<i>Vibrio vulnificus</i>	0.96	0.98	0.99
Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i>	0.95	0.99	
<i>Salmonella</i> spp.	0.94	0.99	>0.99
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	0.98	0.99
<i>Bacillus cereus</i>	0.93		
<i>Clostridium botulinum</i> types A & B**	0.93		
<i>Clostridium perfringens</i>	0.943	0.95 to 0.96	0.97
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.92		
<i>Staphylococcus aureus</i> growth	0.83	0.98	0.99
toxin	0.88	0.98	0.99

ICMSF 1996.
**proteolytic
*nonproteolytic

[IFT/FDA, 2003]

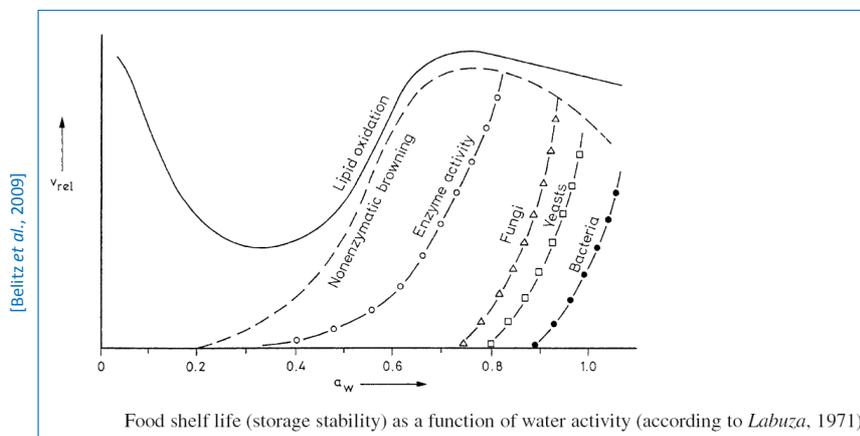


ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

28

A_w (3)



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

29

A_w (4)

$$a_w = \frac{\text{nbre de moles d'eau}}{\text{nbre de moles d'eau} + \text{nbre de moles des substances en solution}}$$

Activité de l'eau à 25°C d'une solution de NaCl

A_w	Concentration (g NaCl/100g solution)
0,99	1,7
0,95	8,1
0,90	14,2
0,85	19,1
0,80	23,1
0,75	26,5
< 0,75	solution saturée



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

30

A_w (5)

Activité de l'eau à 25°C de solutions aqueuses de saccharides

A _w	Concentration (g soluté/100g solution)				
	Saccharose	Glucose	Fructose	Lactose	Maltose
0,99	10	9	9	14,5 ^s	
0,95	44	31	33		49 ^s
0,90	59	48 ^s	47		
0,85	68 ^s		58		
0,80			64 ^s		
0,75					
< 0,75					

^s = solution saturée

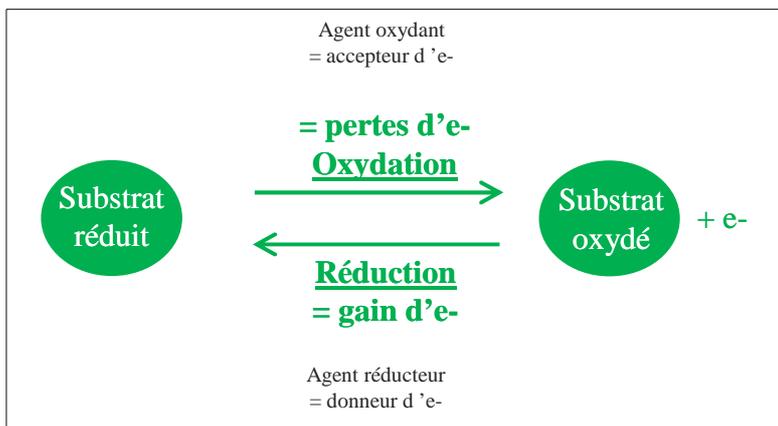


A_w (6)

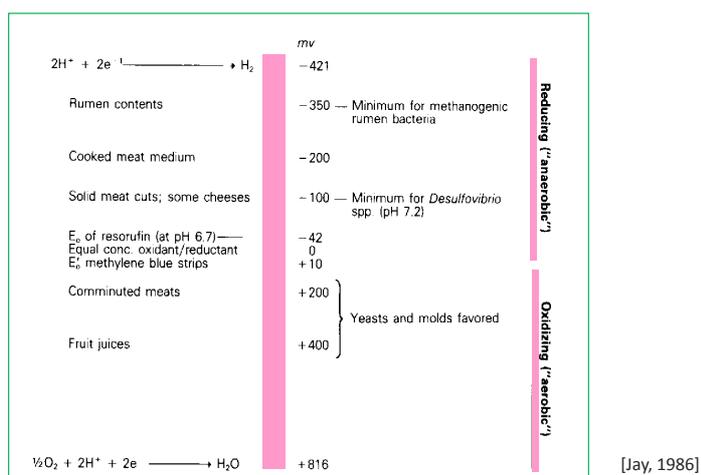
		Teneur dans les prod. viande	Effet dépresseur de l'a _w	Effet global
Sels minéraux	NaCl	+++	+++	+++++
	Polyphosphates	+	+	+
Ac. organiques	acét., lact., citr.	+	++	++
Glucides		++	+	++
Alcools		-	+++	-
Prot. et dérivés		+	+++	+++



Pot. Oxydo-Réd. (1)



Pot. Oxydo-Réd. (2)

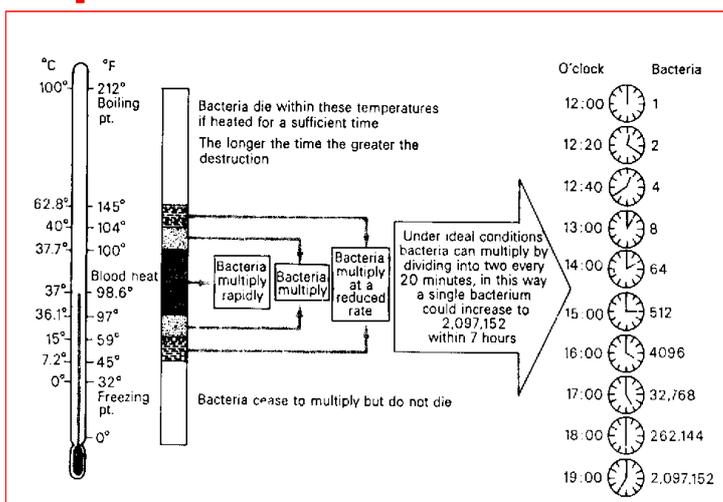


Fact. Antimicrobiens / Antioxydants

Quelques exemples de substances naturelles produisant des effets antimicrobiens ou anti-oxydants

- Polyphénols (vit. E, ...)
- Enzymes (lactoperoxydase, lysozyme, ...)
- Bactériocines (nisine, ...)
- Microorganismes = cultures protectives

Température (1)

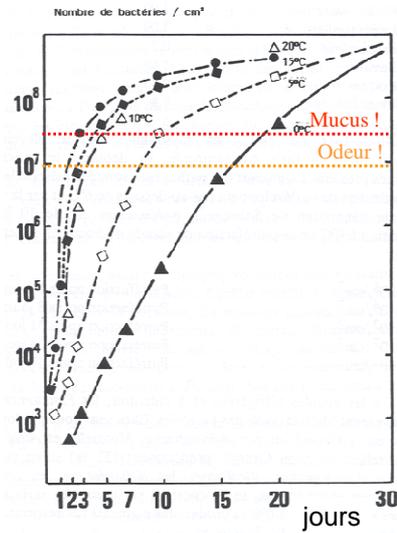


[Jay, 1986]

Température (2)

Vitesse de multiplication des bactéries / température

Ex. : en surface de la viande
[Larpent, 1992 (d'après Shaw, 1972)]



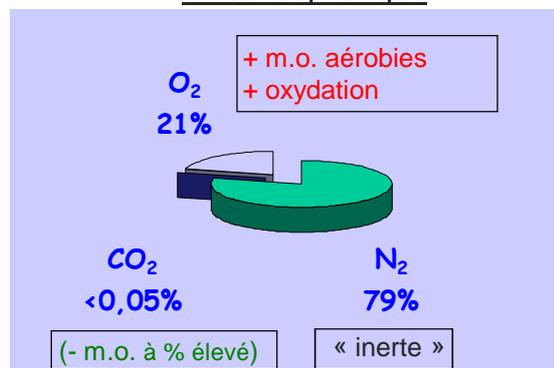
ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

37

Atmosphère

Air atmosphérique

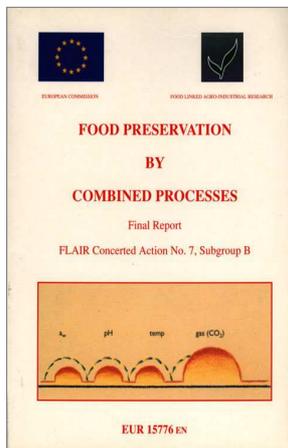


ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

38

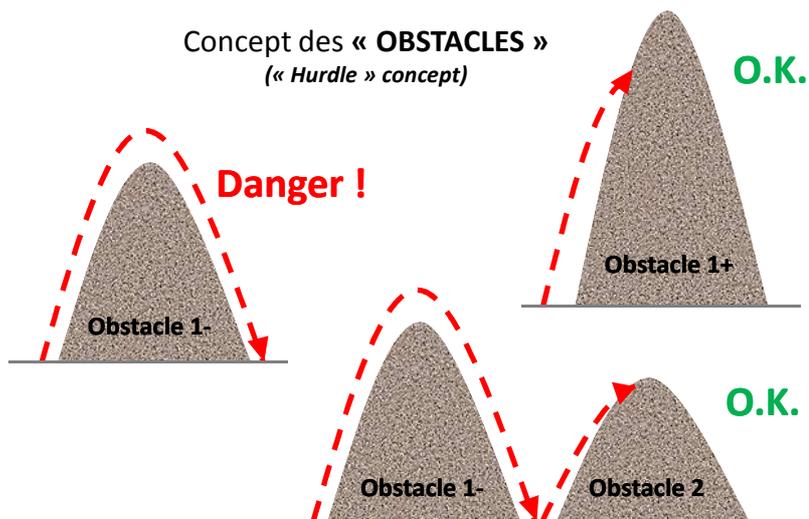
Effet combiné de plusieurs facteurs ? (1)



- Combined processes (FLAIR 1990-1994)
- Minimally processed foods (FAIR 1996-1999)

Effet combiné de plusieurs facteurs ? (2)

Concept des « **OBSTACLES** »
(« Hurdle » concept)



<i>Classification</i> <i>[d'après Bøgh-Sørensen, 1995]</i>	<i>Quelques valeurs</i> <i>« obstacles »</i> <i>[d'après Labuza et Fu, 1995]</i>
PHYSIQUES	
Chauffage (stérilisation, pasteurisation, 'blanchiment')	
Température de stockage	< 4 C ⁽¹⁾
Radiations (UV; ionisantes b,g)	
Energie électromagnétique (micro-ondes p.ex.)	
Inactivation photodynamique (lumière)	
Ultra-hautes pressions	
Ultra-sons	
Conditionnement-emballage	
Atmosphère (modifiée, contrôlée)	
Stockage hypobare	
Conditionnement aseptique	
Microstructure du produit	


 ULg-DDA (A.C.)
 Fact. infl. conservation + Hurdle Technology
41

<i>Classification</i> <i>[d'après Bøgh-Sørensen, 1995]</i>	<i>Quelques valeurs</i> <i>« obstacles »</i> <i>[d'après Labuza et Fu, 1995]</i>
PHYSICO-CHIMIQUES	
Activité de l'eau (a _w)	< 0,91 ⁽²⁾
pH	< 4,6 ⁽²⁾
Potentiel redox (Eh)	
Sel (NaCl)	> 2-3,5% ⁽²⁾
Nitrates (NO ₃ ⁻) et nitrites (NO ₂ ⁻)	≥ 120 ppm NO ₂ ⁽²⁾
Dioxyde de carbone (CO ₂)	> 10 – 20% ⁽²⁾
Oxygène (O ₂)	
Ozone (O ₃)	
Acides organiques (lactique, acétique)	
Acide ascorbique	
Sulfites (SO ₂)	
Fumée	
Phosphates	
Glucono-d-lactone	
Phénols	
Chélateurs	
Antifongiques	
Ethanol	
Propylène glycol	
Produits de la réaction de Maillard	
Epices et herbes	
Lactoperoxydase	
Lysozyme	


 ULg-DDA (A.C.)
 Fact. infl. conservation + Hurdle Technology
42

<i>Classification [d'après Bøgh-Sørensen, 1995]</i>	<i>Quelques valeurs « obstacles » [d'après Labuza et Fu, 1995]</i>
MICROBIOLOGIQUES	
Flore compétitive	
Cultures starter	
Bactériocines	
Agents antimicrobiens	


 Université de Liège

ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

43

Exemples d'obstacles + maîtrise

<i>Obstacle</i>	<i>Traitement</i>
1. Froid	Réfrigération, congélation, surgélation
2. Chaleur	Pasteurisation, stérilisation, etc...
3. Gaz	Sous vide, sous atm. modif
4. Activité de l'eau (a_w)	Agents dépr. a_w salage + déshydratation
5. pH acide	Fermentation, marinades
6. Radiations ionisantes	Irradiation


 Université de Liège

ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

44

Effet combiné de plusieurs facteurs ? (3)

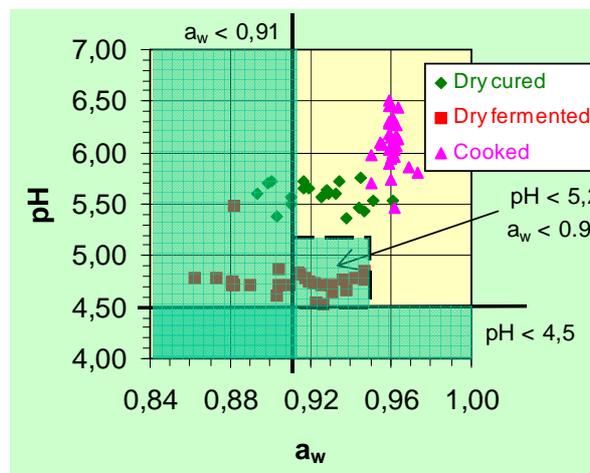
Safety barriers for shelf life extension of **refrigerated** foods (Labuza and Fu, 1995)

Type	Barrier
Primary	Refrigeration (<4°C)
Secondary	$A_w < 0.91$
	pH < 4.6
	High levels of non pathogenic competing microorg.
	> 120 ppm nitrite (meat or poultry products)
	NaCl 2-3.5% (meat or poultry products)
	CO ₂ > 10-20%
	Antimicrobial agents (natural or synthetic)
Scavenger / emitter / active packaging	
Mild pasteurization (heat, μ -waves, irradiation, light)	

Effet combiné de plusieurs facteurs ? (4)

Influence des caractéristiques physico-chimiques intrinsèques (a_w , pH) sur la conservabilité des produits à base de viande (n=79)

(Clinquart et al., 1998)



m.o. en général :

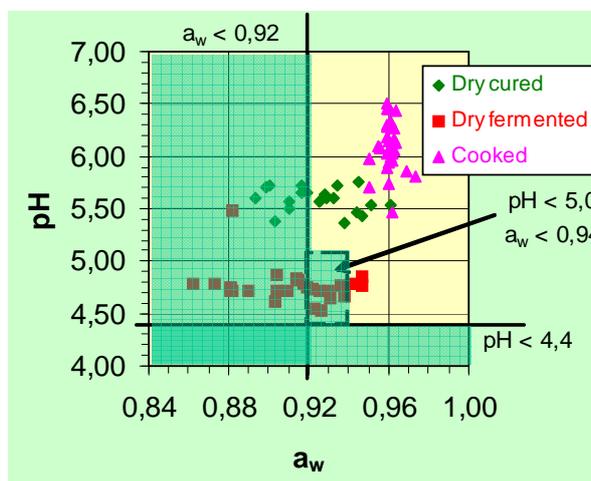
F.A.O., 1990
Dir. 77/99/CEE (*)

(*) Abrogée depuis la législation « paquet hygiène » (2004)

Effet combiné de plusieurs facteurs ? (4b)

Influence des caractéristiques physico-chimiques intrinsèques (a_w , pH) sur la conservabilité des produits à base de viande (n=79)

(Clinquart et al., 1998)



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

47

Conclusions ...



ULg-DDA (A.C.)

Fact. infl. conservation + Hurdle Technology

48

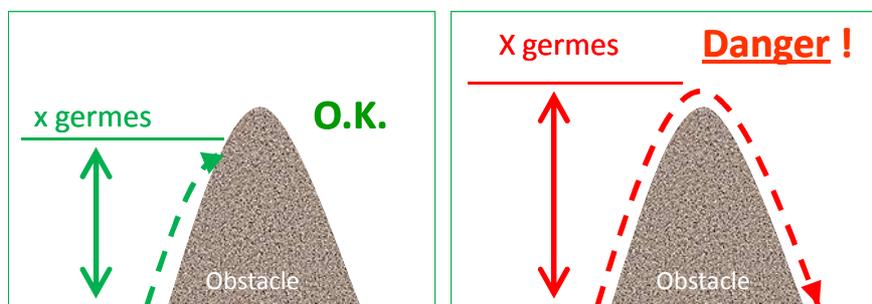
Conclusion (1)

- Les technologies « obstacles »
 - contribuent de manière très spectaculaire à (l'amélioration de) la conservabilité des aliments,
 - ne sont qu'un moyen parmi d'autres de contribuer à leur qualité et à leur sécurité sanitaire.

Conclusion (2)

Attention !

l'amélioration de la conservation des aliments
ne repose pas que sur les techniques de conservation
Ex. : le nombre initial de microorganismes



Conclusion (3)

- Un effet « obstacle » n'est **reproductible** (et donc sûr) que dans des conditions précises
 - Microorganismes : type et nombre
 - Fact. intrinsèques
 - aliment : composition, propriétés physico-chimiques,
 - Fact. extrinsèques
 - conditions d'ambiance, etc...

Conclusion (4)

- Une technique de conservation doit donc être **validée**
 - microbiologie prédictive
 - durée de vie microbiologique (D.L.C.)
 - *challenge-test* ('test de croissance')
- et **maîtrisée**
 - qualité des matières premières / ingrédients
 - conditions constantes
 - BPH (PrP), CCP, limites critiques, surveillance, ...

Conclusion (5)

- En dépit d'efforts de recherche intenses, peu de « **nouvelles technologies** » ont jusqu'à présent été (largement) implémentées dans l'industrie alimentaire
 - effet aliment
 - législation
 - coût : recherches, approbation

Quelques références

- IFT/FDA Report on Task Order 4. Factors that influence the microbial growth. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2003, 2 (Suppl.) : 21-32.
- Leistner L. Review : Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 55 : 181-186.
- Clinquart A., Daube G. Maîtrise des micro-organismes dans la filière viande par la « Hurdle Technology », Journée d'étude « Germes pathogènes dans la viande et les produits de viande », Belgian Association for Meat Science and Technology, Gembloux, 22 nov. 2000, pp. 33-41.
- Leistner L., Gorris L.G.M. Food preservation by combined processes, Final Report FLAIR Concerted Action no. 7, subgroup B., 1994, 100 p.

Contact

- **Prof. Antoine CLINQUART**

DMV

AES Sci. Vét. (≡ PhD)

Dipl. ECVPH (subsp. Food Science)



Université de Liège
Faculté de Médecine vétérinaire
Département des Sciences des Denrées alimentaires (DDA)
Secteur Technologie (TDA)

Sart Tilman B43b
B – 4000 Liège

Tél. : +32 4 366 40 40 (secrét.) ; +32 4 366 40 48 (labo.)

Fax : +32 4 366 40 44

E-mail : antoine.clinquart@ulg.ac.be

Website : www.dda.ulg.ac.be

