Durée de conservation à 4° C et 8° C du lait pasteurisé conditionné aseptiquement

par

R. MOURGUES et J. AUCLAIR

avec la collaboration technique de N. DESCHAMPS

Laboratoire de Bactériologie Laitière, I.N.R.A. - 78350 Jouy-en-Josas

INTRODUCTION

En France, comme dans tous les pays industrialisés, l'évolution des techniques commerciales et les exigences des consommateurs conduisent les professionnels de l'industrie alimentaire à mettre sur le marché des produits dont la conservation est de plus en plus longue.

C'est le cas de tous les produits laitiers et particulièrement du lait de consommation. A ce point de vue, le lait pasteurisé tient encore une place très importante sur le marché, mais c'est le produit laitier qui se conserve le moins longtemps, du fait qu'il s'agit d'un produit qui n'est pas stérile et qui n'a pas de protection acide.

Aux Etats-Unis on considère que le lait pasteurisé doit se conserver une semaine mais de nombreux travaux montrent qu'il devrait être possible d'augmenter nettement cette durée de conservation [1, 3, 5, 9]. Cela ne peut être obtenu qu'au prix de soins tout particuliers pour le nettoyage des circuits post-pasteurisation. Il est bien démontré en effet que la durée de conservation du lait pasteurisé dépend avant tout des recontaminations que le lait subit après le chauffage, dans les circuits de refroidissement, de stockage, de conditionnement et dans les emballages eux-mêmes.

Les germes de recontamination sont pour une part des bactéries lactiques et pour la plus grande part des germes psychrotrophes des genres *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, etc. Ce sont ces germes qui, en raison de leurs propriétés protéolytiques et lipolytiques très marquées, sont responsables des altérations du lait pasteurisé conservé à basse température (défauts de goût en particulier).

Il a été montré qu'il suffit d'un nombre très réduit de germes psychrotrophes, du genre *Pseudomonas* (quelques germes par ml de

lait), pour produire au bout de quelques jours les altérations typiques. Overcast [11] a montré par exemple qu'un seul germe psychrotrophe dans 1 l de lait pouvait donner naissance à 73.10^9 germes par ml après 9 j de conservation à 7° C. De notre côté, nous avons observé [7] que du lait contaminé avec moins de 2 bactéries psychrotrophes par ml après la pasteurisation, pouvait contenir, 8 j après, 14 500 germes s'il était conservé à 4° C, 575 000 s'il était conservé à 6° C et 12 600 000 s'il était conservé à 8° C. On voit ici l'influence prépondérante de la température sur la bonne conservation du lait pasteurisé.

On peut se demander dans quelle mesure le conditionnement aseptique du lait pasteurisé pourrait permettre, en supprimant toute recontamination du lait après la pasteurisation, d'augmenter de façon très appréciable la durée de conservation du lait pasteurisé. Des recherches dans ce sens ont déjà été publiées par Langeveld [6] à l'Institut de Recherches Laitières des Pays-Bas (N.I.Z.O.). Les essais que nous avons poursuivis nous-mêmes à ce sujet ont donné lieu à une première communication au Congrès International de Laiterie de Sydney de 1970 [8]. Nous donnons ci-après l'ensemble du travail effectué et des résultats obtenus.

METHODES

Traitement du lait

Quatorze échantillons de lait cru de qualité bactériologique variée (contenant entre 51 000 et 142.10^9 germes totaux par ml) ont été pasteurisés dans un pasteurisateur à plaques de laboratoire dont le débit était réglé à 42 l/h. 15 l étaient employés pour chaque essai. Au début des essais, 3 températures ont été utilisées : 72° C, 75° C et 80° C, avec un chambrage de 15 s. Les résultats obtenus avec ces 3 températures étant très voisins, sinon identiques, nous nous sommes ensuite limités à la température de 75° C.

Après le chauffage, le lait était immédiatement refroidi à 15° C environ, dans un serpentin à eau froide préalablement stérilisé, puis il était réparti aseptiquement dans des flacons stériles de 500 ml. La moitié des flacons était placée dans un bain-marie réglé à $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, l'autre moitié dans un bain-marie réglé à $8^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Examen du lait

Immédiatement après le refroidissement, puis tout au long de la conservation, on prélevait périodiquement des flacons de lait et l'on effectuait sur ce lait un dénombrement microbien sur le milieu « Plate Count Agar » Difco n° 079, après incubation des boîtes de Petri à 30° C pendant 3 j germes totaux et un dénombrement des germes psy-

psychrotrophes sur le même milieu après incubation des boîtes de Petri à 7° C pendant 10 j [13]. On effectuait en même temps un examen organoleptique. L'essai était arrêté lorsque le lait présentait un net défaut de goût.

Caractérisation des germes présents dans le lait

On a cherché à caractériser les germes présents dans le lait, d'une part immédiatement après la pasteurisation et le refroidissement du lait, d'autre part après conservation à 4° C ou à 8° C, au moment de l'apparition des mauvais goûts. Pour cela on prélevait sur les boîtes de Petri ayant servi au dénombrement des germes totaux, une vingtaine de colonies qui étaient identifiées sommairement [2].

RESULTATS

La figure 1 montre à titre d'exemple les résultats obtenus au cours de 4 essais. Les courbes correspondantes représentent l'évolution de la flore microbienne (germes totaux) dans le lait pasteurisé conservé soit à 4° C soit à 8° C. On a indiqué sur les courbes par une flèche le moment où est apparu de façon nette un goût défectueux dans les échantillons de lait.

On constate que, *dans le cas de la conservation à 4° C*, la flore microbienne a tendance à diminuer progressivement jusqu'à un moment où, brusquement, elle augmente de façon logarithmique pour atteindre environ 10⁷ germes par ml. Les défauts de goût apparaissent généralement lorsque le lait atteint cette teneur en germes. Cependant dans plusieurs essais, et c'est le cas de l'essai n° 10 (fig. 1), des défauts de goût sont apparus après un temps relativement long (50 à 60 j) sans qu'aucun développement microbien n'ait été observé (compte tenu de la méthode de dénombrement des germes aérobies que nous avons utilisée).

Dans le cas de la conservation à 8° C, on observe une évolution microbienne comparable à celle que l'on observe à 4° C, mais le développement microbien est beaucoup plus précoce et aussi plus rapide.

Les dénombrements de la flore psychrotrophe effectués sur les différents échantillons de lait conservés à 4° C et à 8° C ont montré l'absence (dans 1 ml de lait) de germes psychrotrophes pendant la période où la flore totale ne se multiplie pas. Par contre, à partir du moment où la flore totale augmente, on observe l'apparition et le développement rapide de germes psychrotrophes dont le nombre tend à rejoindre celui des germes totaux lorsque les défauts de goût se manifestent.

Cela explique la forme des courbes obtenues à 4° C et à 8° C pour l'évolution de la flore totale : la flore microbienne qui a résisté à

fig. 1

Evolution de la flore microbienne (« germes totaux ») dans le lait pasteurisé conditionné aseptiquement et conservé à 4° C ou à 8° C

- △ — — — △ Conservation à 4° C.
- — — — ● Conservation à 8° C.
- ↓ Apparition d'un défaut de goût.

TABLEAU 1

Qualité de conservation du lait pasteurisé conditionné aseptiquement et conservé à 4° C ou 8° C

Essai n°	Nombre de germes avant pasteurisation	Nombre de germes après pasteurisation	Conservation à 4° C		Conservation à 8° C	
			Nombre de jours avant apparition d'un défaut de goût	Flore totale (germes/ml)*	Nombre de jours avant apparition d'un défaut de goût	Flore totale (germes/ml)*
10	154 000	200	51	60	34	4,2.10 ⁶
11	415 000	220	63	170	34	59
1	—	1 180	73	—	23	16.10 ⁶
12	53 000	3 200	73	300 000	20	700 000
13	91 000	6 500	59	200	31	22.10 ⁶
2	51 000	20 100	>47	—	35	80.10 ⁶
8	56 000	21 800	72	55.10 ⁶	29	51.10 ⁶
14	139 000	25 000	51	2 100	17	3,5.10 ⁶
4	410 000	29 000	62	6.10 ⁶	10	57.10 ⁶
5	58 000	52 000	30	12.10 ⁶	16	42.10 ⁶
6	31.10 ⁶	85 000	61	200.10 ⁶	18	31.10 ⁶
9	142.10 ⁶	100 000	41	7,8.10 ⁶	10	14.10 ⁶
7	13.10 ⁶	180 000	62	4,3.10 ⁶	17	20.10 ⁶
3	—	440 000	59	6,3.10 ⁶	10	4,7.10 ⁶
Durée de conservation moyenne			57		21	

— : Non fait.

* : Au moment de l'apparition du défaut de goût.

la pasteurisation décroît dans son ensemble au cours de la conservation à basse température, mais quelques micro-organismes thermo-résistants et psychrotrophes, probablement très peu nombreux aussitôt après la pasteurisation (probablement moins de 1 par ml) se développent suivant un taux de croissance relativement élevé, ce développement n'apparaissant sur les courbes que lorsque le nombre de germes dépasse le nombre de germes thermo-résistants présents dans le lait au départ, nombre qui est resté constant ou a légèrement diminué.

Sur le tableau 1 nous avons porté, pour les 14 essais effectués, le nombre de jours pendant lesquels le lait pasteurisé s'est conservé, à 4° C et à 8° C, avant qu'apparaissent des défauts de goût. Les essais ont été classés suivant le nombre de germes contenus dans le lait immédiatement après la pasteurisation (nombre variant entre 200 et 440 000 germes par ml). On voit que, lorsque le lait est conservé à 4° C, les défauts de goût apparaissent entre le 30^e et le 73^e j (en moyenne 57 j de conservation), tandis que, pour le lait conservé à 8° C, les défauts de goût apparaissent après 10 à 35 j (en moyenne 21 j). Si l'on calcule les écarts pour chaque essai entre la durée de conservation à 4° C et la durée de conservation à 8° C, on constate qu'à 4° C le lait se conserve 14 à 53 j de plus qu'à 8° C.

TABLEAU 2

Nature des micro-organismes présents dans le lait pasteurisé conditionné aseptiquement et conservé à 4° C ou 8° C

Genre	Nombre de cultures isolées		
	Immédiatement après la pasteurisation	Après conservation	
		à 4° C	à 8° C
<i>Streptococcus</i>	58	15	0
<i>Bacillus</i>	34	52	106
<i>Microbacterium</i>	15	72	31
<i>Micrococcus</i>	14	4	0
<i>Streptomyces</i>	5	6	0
<i>Gaffkia</i>	4	0	0
<i>Arthrobacter</i>	2	0	0
Total des colonies repiquées	160	160	160
Total des souches ayant cultivé	132	149	137

Le tableau 1 fait apparaître une relation assez nette entre la durée de conservation du lait à 8° C et l'importance de la flore microbienne immédiatement après la pasteurisation, le lait se conservant d'autant mieux que la flore thermo-résistante est plus réduite. Cette relation est moins nette dans le cas de la conservation à 4° C. On voit cependant dans ce dernier cas que les échantillons de lait dans lesquels il n'y a pas eu de développement microbien sont ceux qui, généralement, contenaient le moins de germes thermo-résistants.

Enfin, dans le tableau 2 on a porté les résultats de l'identification de 480 souches de bactéries isolées du lait, soit immédiatement après la pasteurisation (160 souches), soit après conservation à 4° C ou à 8° C (160 souches dans chaque cas), lorsqu'un défaut de goût apparaissait dans le lait.

On voit qu'après conservation à 4° C et à 8° C, on ne retrouve plus la flore microbienne variée, à prédominance de streptocoques, que l'on avait immédiatement après la pasteurisation. A 4° C on retrouve surtout des *Microbacterium* et des *Bacillus*, avec une faible proportion de streptocoques, microcoques et *Streptomyces*, tandis qu'à 8° C seuls se retrouvent les *Bacillus* qui prédominent, et les *Microbacterium*.

Il faut signaler que, dans les échantillons conservés à 4° C pour lesquels on n'avait pas observé de développement microbien, on retrouvait au moment de l'apparition des défauts de goût à peu près les mêmes germes que ceux qui étaient présents initialement dans le lait. Par contre dans les échantillons qui avaient été le siège d'un développement microbien important, soit à 4° C, soit à 8° C, seuls les germes *Microbacterium* et *Bacillus* étaient présents. Dans le cas des échantillons conservés à 8° C, on a retrouvé 5 fois uniquement des *Bacillus*.

L'identification complète de quelques souches de *Bacillus* isolées a montré qu'il s'agissait de *B. cereus* et *B. licheniformis*.

Notons enfin que, parmi les organismes isolés à partir du lait conservé à 4° C ou 8° C sur gélose « Plate count Agar » à 30° C, un certain nombre d'entre eux ont été capables de se développer et de former des colonies visibles sur le même milieu après incubation de 10 j à 7° C. Par contre un grand nombre d'autres organismes ainsi isolés n'ont donné des colonies visibles dans les mêmes conditions de milieu et de température qu'après un temps beaucoup plus long. Bien que s'étant développés et ayant produit des altérations nettes dans le lait à 4° C ou 8° C, ils n'auraient donc pas été détectés par la méthode la plus couramment utilisée pour le dénombrement des bactéries psychrotrophes [13].

DISCUSSION

Les résultats que nous venons d'exposer montrent que le conditionnement aseptique ne permet pas à lui seul une augmentation

appréciable de la durée de conservation du lait pasteurisé, si ce lait n'est pas conservé à basse température. En effet, nous avons observé précédemment que du lait préparé dans les conditions habituelles de l'industrie, mais peu recontaminé (tel que le « lait pasteurisé de haute qualité » préparé par plusieurs usines françaises) pouvait se conserver à 8° C pendant 7 à 11 j avant qu'apparaisse un défaut de goût [8]. Or nous venons de voir que le lait conditionné aseptiquement peut se conserver à 8° C pendant 10 à 35 j. Cette augmentation de la durée de conservation grâce au conditionnement aseptique n'est pas considérable. Compte tenu des délais de commercialisation, le consommateur ne peut être assuré de conserver ce lait sans défaut de goût au réfrigérateur à 8° C pendant plus de 5 ou 6 j.

Par contre, lorsque le lait conditionné aseptiquement est conservé à 4° C sa conservation est d'au moins 30 j. A cette même température le lait pasteurisé de haute qualité se conserve seulement 9 à 13 j [8]. Cela confirme bien les observations de différents auteurs. Langeveld par exemple a trouvé pour du lait pasteurisé conditionné aseptiquement une durée de conservation à 5° C de 16 à 28 j [6] et Grosskopf et Harper [4] mentionnent une durée de conservation de 4 semaines à 4° C.

Par conséquent l'obtention d'un lait pasteurisé de longue conservation exige à la fois la suppression de la flore microbienne de recontamination et le maintien du lait à une température aussi proche que possible de 0° C, depuis le pasteurisateur jusques et y compris le réfrigérateur du consommateur.

Le développement microbien et les altérations que subit le lait pasteurisé exempt de recontaminations lorsqu'on le maintient à 4° C et 8° C s'expliquent par la présence, parmi les germes qui ont résisté à la pasteurisation, d'un petit nombre d'organismes capables de se développer à basse température, germes que l'on doit donc considérer comme à la fois thermo-résistants et psychrotrophes. Ils appartiennent essentiellement aux genres *Bacillus* et *Microbacterium*.

Le développement de bactéries sporulées dans le lait pasteurisé conditionné aseptiquement et maintenu à basse température a également été observé par Langeveld [6], par Grosskopf et Harper [4] ainsi que par Shehata et Collins [12]. Ces derniers auteurs ont montré que certains de ces organismes, du genre *Bacillus*, étaient capables de se développer même à 0° C.

Si la durée de conservation du lait pasteurisé conditionné aseptiquement est en assez bonne relation avec la teneur en germes de ce lait, telle qu'on peut la dénombrer aussitôt après la pasteurisation, lorsque ce lait est conservé à 8° C, par contre cette relation est beaucoup moins nette lorsque cette conservation a lieu à 4° C. Cela montre que la nature des germes thermo-résistants responsables des altérations du lait pendant sa conservation au froid est souvent plus importante que leur nombre. Le chauffage du lait à une température

plus élevée que la température normale de pasteurisation (72° C à 75° C) n'apportera rien de plus, puisque les germes responsables de l'altération de ce lait pendant son maintien au froid sont en majorité des germes sporulés, résistant donc à des chauffages nettement plus sévères que la pasteurisation.

Résumé

Du lait de qualité bactériologique variée a été pasteurisé (75° C, 15 s), réparti aseptiquement en flacons stériles de 500 ml, et conservé soit à 4° C, soit à 8° C.

Les examens bactériologiques effectués immédiatement après la pasteurisation et au cours de la conservation (germes totaux dénombrés sur « Plate Count Agar ») ont montré qu'au cours de la conservation à 4° C on observait une diminution progressive du nombre des germes, suivie d'un développement brusque de certains d'entre eux avec apparition de défauts de goût caractéristiques dans le lait pasteurisé. L'évolution microbienne dans le lait à 8° C était comparable mais beaucoup plus rapide.

Les germes responsables des altérations du lait ainsi conservé sont des germes à la fois thermo-résistants (ils ont résisté au chauffage de pasteurisation) et psychrotrophes (puisqu'ils se développent dans le lait à la température du réfrigérateur) appartenant aux genres *Microbacterium* et *Bacillus* (*B. cereus* et *B. licheniformis*).

Certains d'entre eux ne forment de colonies visibles sur « Plate Count Agar » à 7° C qu'après une période d'incubation nettement supérieure à 10 j.

Le conditionnement aseptique du lait pasteurisé ne permettra d'obtenir un lait de longue conservation (c'est-à-dire d'une durée de conservation de plusieurs semaines) que dans la mesure où ce lait sera préparé à partir d'un lait cru pauvre en germes thermo-résistants (en particulier en germes du genre *Bacillus*) et où il sera conservé à l'usine, au cours de la commercialisation et chez le consommateur à une température suffisamment basse, aussi voisine que possible de 0° C.

Summary

Keeping quality of aseptically packed pasteurized milk during storage at 4 and 8° C

Samples of milk of a variable bacteriological quality were pasteurized (75° C for 15 sec.), aseptically packed in sterile 500 ml flasks and stored at either 4° C or 8° C.

Standard plate counts were made immediately after pasteurization and during storage. During storage at 4° C a progressive decrease

of the numbers of bacteria were observed, followed by a rapid increase of some of these bacteria, together with the appearance of flavour defects in the milk. During storage at 8° C, the same development was observed but much earlier.

The organisms responsible for the defects in the milk during storage are both thermoresistant and psychrotrophic. They belong to the genus *Microbacterium* and *Bacillus* (*B. cereus* and *B. licheniformis*).

Some of these organisms produce visible colonies on Plate Count Agar at 7° C only after more than 10 days incubation.

Aseptic packing of pasteurized milk will ensure its good keeping quality (i.e. a shelf life of several weeks) only if it is obtained from raw milk with a low thermoresistant count (in particular with few *Bacillus*) and if it is kept at the dairy, during trade manipulation, and by the consumer at a sufficiently low temperature, as near as possible of 0° C.

Bibliographie

- [1] BARNARD (S. E.) (1972). — Importance of shelf-life for consumers of milk. *J. Dairy Sci.*, 55, 134-136.
- [2] BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY, 7^e édition. The Williams Wilkins Company, Baltimore, 1957.
- [3] FINLEY (R. D.), WARREN (H. B.), HARGROVE (B. E.) (1968). — Storage stability of commercial milk. *J. Milk Food Technol.*, 31, 382-387.
- [4] GROSSKOPF (J. C.), HARPER (W. J.) (1969). — Role of psychrophilic sporeformer in long life milk. *J. Dairy Sci.*, 52, 897.
- [5] HEDRICK (T. I.) (1970). — How to keep milk fresh for three weeks. *Amer. Dairy Rev.*, 32 (4), 56-75.
- [6] LANGEVELD (L. P. M.) (1970). — Refrigerated storage life of aseptically and non aseptically packaged milk. *Off. Org. K. Ned. Zuivelbond*, 62 (22), 544-546.
- [7] MOURGUES (R.), AUCLAIR (J.) (1969). — Influence de la température de conservation sur le développement de la flore microbienne du lait pasteurisé. Rôle des bactéries psychrotrophes. *Rev. Lait. Franç.*, 268, 505-523.
- [8] MOURGUES (R.), AUCLAIR (J.) (1970). — Conservation à 4° C et 8° C du lait pasteurisé en l'absence de recontaminations. 18^e Congr. Intern. Laiterie, Sydney, 1 F, 172.
- [9] MYHR (A. N.) (1972). — Better shelf-life is possible only if plant sanitation gets proper attention. *Modern Dairy*, 51 (1), 8-9.
- [10] OLSON (H. C.) (1963). — Spoilage of pasteurized milk by thermophilic psychrophiles. *J. Dairy Sci.*, 46, 362.
- [11] OVERCAST (W. W.) (1968). — Psychrophilic microorganisms and keeping quality of milk and its products. *J. Dairy Sci.*, 51, 1336-1338.
- [12] SHEHATA (T. E.), COLLINS (E. B.) (1971). — Isolation and identification of psychrophilic species of *Bacillus* from milk. *Appl. Microbiol.*, 21, 466-469.
- [13] STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF DAIRY PRODUCTS, 13^e édition. *Americ. Public Health Assoc., Inc.*, New-York, 1972.

Reçu pour publication le 1^{er} juin 1973.