Les spores thermorésistantes du lait utilisé pour la fabrication de laits de longue conservation

J.P. Duquet, Anne Trouvat, Ariette Mouniqua, G. Odet, O. Cerf

► To cite this version:

J.P. Duquet, Anne Trouvat, Ariette Mouniqua, G. Odet, O. Cerf. Les spores thermorésistantes du lait utilisé pour la fabrication de laits de longue conservation. *Le Lait*, 1987, 67 (3), pp.393-401. hal-00929104

HAL Id: hal-00929104

<https://hal.science/hal-00929104>

Submitted on 1 Jan 1987

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Les spores thermorésistantes du lait utilisé pour la fabrication de laits de longue conservation

J.P. DUQUET *, Anne TROUVAT *, Arlette MOUNIQUA *, G. ODET *
et O. CERF **

* Coopérative laitière centrale de Paris, 103, rue Molière, 94201 Ivry-sur-Seine, France

** INRA, Laboratoire de Génie des Procédés alimentaires, 25, avenue de la République,
91300 Massy, France

Résumé

La concentration et la thermorésistance de la flore sporulée du lait est étudiée dans deux usines de la région parisienne : (i) spores thermophiles du lait destiné à la fabrication de lait U.H.T., (ii) spores mésophiles de recontamination du lait destiné à la stérilisation en bouteille. Pour la concentration, $D_{121^{\circ}\text{C}}$ et z on trouve les valeurs moyennes (i) $2,3 \text{ ml}^{-1}$, 58 s, 9,6 K et (ii) $0,3 \text{ ml}^{-1}$, 0,6 s, 10 K.

Mots clés : Spores - Mésophiles - Thermophiles - Thermorésistance - Lait - Lait stérilisé - Lait U.H.T.

Summary

Heat-resistance of spores in milk used for making U.H.T. consumption milks

Experimental method and calculation to study concentration and heat resistance of the spore flora of milk are given and applied to two dairies of the Paris suburb. Milk supplies came from all parts of France except the South-East. Two milks were studied : (i) milk for the production of U.H.T. milk and (ii) U.H.T. presterilized milk for the production of in-bottle sterilized milk. In the later case, sampling was made in bottles already capsulated. The studied flora were (i) thermophilic spores and (ii) mesophilic spores. Spore concentration, $D_{121^{\circ}\text{C}}$ and z mean values were (i) 2.3 ml^{-1} , 58 s, 9.6 K and (ii) 0.3 ml^{-1} , 0.6 s, 10 K.

Key words : Spores - Mesophilic - Thermophilic - Heat resistance - Milk - In-bottle sterilized milk - U.H.T. milk.

Introduction

Les fabricants de lait stérilisé et de lait stérilisé U.H.T. peuvent choisir les conditions de fonctionnement de leurs stérilisateur de deux façons :

- (a) en suivant les instructions des constructeurs,
- (b) en les adaptant aux conditions propres à leurs usines.

La démarche (a) peut se révéler imprudente : il s'est avéré que certains constructeurs conseillent des conditions de traitement thermique excessives (dépenses d'énergie inutiles, diminution de la qualité), d'autres des conditions insuffisantes (risque de non-stérilité accru) ODET *et al.*, 1985).

La démarche (b) semble donc plus raisonnable, puisqu'elle permet d'optimiser le rapport qualité/coût. Cette démarche comporte les étapes suivantes :

- mesurer la thermorésistance des populations de spores bactériennes que l'on cherche à détruire,
- déterminer le profil des températures par lesquelles passe le lait lors de la stérilisation,
- calculer si le traitement thermique correspondant assure le risque de non-stérilité approprié au produit fini,
- modifier si nécessaire les conditions de fonctionnement de l'appareillage.

Rappelons que le risque de non-stérilité R dépend des facteurs suivants :

- la concentration initiale des spores C_0 ,
- l'efficacité stérilisatrice E du traitement, qui à son tour dépend de :
 - la durée du traitement t ,
 - la thermorésistance des spores exprimées à chaque température par le temps de réduction décimale D ,

selon la relation $E = t/D$,

- le volume des récipients fabriqués V .

L'équation permettant de calculer le risque de non-stérilité est :

$$(1) \quad R = C_0 \cdot V \cdot 10^{-E}$$

Dans cet article, on présente des exemples d'application des techniques recommandées par HORAK (1980) et ODET *et al.* (1985) pour mesurer le nombre et la thermorésistance des spores thermorésistantes. Deux cas sont étudiés (fig. 1) :

- celui du lait utilisé pour la préparation du lait U.H.T. conditionné aseptiquement (usine d'Argenteuil),
- celui du lait utilisé pour la préparation du lait stérilisé en bouteille (usine d'Ivry-sur-Seine), lait qui subit une préstérilisation U.H.T. avant son conditionnement en conditions non-aseptiques avant la stérilisation finale en bouteille.

Fig. 1

Schéma de fabrication du lait U.H.T. et du lait stérilisé en bouteille. Les prélèvements de lait pour les essais sont faits aux points indiqués 1 et 2.

Diagrams of U.H.T. milk and in-bottle sterilized milk making. Sampling was made at points marked 1 and 2.

Dans le premier cas, on a choisi d'étudier les spores de thermophiles du lait pasteurisé qui sert de matière première. Dans le second cas, on a choisi d'étudier les spores de mésophiles qui recontaminent le lait préalablement prérépété, pendant son conditionnement.

L'objectif de la fabrication étant d'obtenir non pas un lait stérile, mais un lait stable, on ne s'intéresse qu'aux spores susceptibles de se développer dans le lait lui-même lors de sa conservation.

I. Matériel et méthodes

A. Laits étudiés

Pour le lait destiné à la préparation de lait U.H.T., l'échantillonnage est fait sur les citernes d'arrivages. Au total, 30 citernes ont été échantillonnées de mai à juin 1984. Pour le lait prérépété destiné à la stérilisation en bouteille, l'échantillonnage est fait dans les bouteilles après le capsulage. Au total, 50 prélèvements ont été examinés en juillet et en août 1985.

B. Mesure de la concentration initiale en spores

Les spores sont dénombrées par la méthode du nombre le plus probable (MPN), à raison de 5 tubes par dilution. La dilution 0 correspond à 1 ml du lait étudié. Les dilutions au dixième – 1 et au centième – 2 sont faites dans du lait U.H.T. prélevé aseptiquement. Pour détruire les cellules végétatives, les tubes sont chauffés 10 mn, à 80 °C pour les mésophiles ou à 100 °C pour les thermophiles. Puis ils sont incubés 21 jours à 31 °C pour les premiers ou 3 jours à 55 °C pour les seconds.

C. Caractérisation des tubes utilisés pour le chauffage des spores

Il est nécessaire de connaître l'évolution de la température du lait en fonction de la durée de chauffage afin de connaître l'équivalence avec un traitement thermique à température constante, exprimé en temps équivalent de traitement à cette température.

Dans une première étape, on mesure les coefficients f et j qui caractérisent le transfert de chaleur entre le bain chauffant et le lait contenu dans les tubes. Dans une seconde étape, on calcule le temps équivalent correspondant à l'équilibrage des températures au début des chauffages. L'influence des temps d'équilibrage lors du refroidissement en fin de chauffage est négligeable.

1. Mesure des coefficients f et j

On mesure l'évolution de la température dans le type de tube utilisé, le tube étant plongé dans le bain thermostaté, jusqu'à ce que la température dans le tube approche celle du bain à quelques dixièmes de degré près. Puis l'on porte $U = \log (T_b - T)/(T_b - T_o)$ en fonction du temps, avec :

- T température variable mesurée dans le tube
- T_o température initiale mesurée dans le tube
- T_b température constante du bain chauffant

On obtient une courbe comportant deux parties :

- la première correspond à l'établissement du régime de chauffage,
- la seconde correspond au chauffage à régime constant : c'est une droite dont l'équation est :

$$(2) \quad U = j - t/f$$

avec : t temps

f inverse de la pente

j ordonnée à l'origine.

Pour les ampoules scellées utilisées dans l'étude de la thermorésistance des thermophiles, on trouve (moyenne de 15 essais) :

$$f = 1,20 \quad j = 0,08$$

Pour les tubes vissés utilisés dans l'étude de la thermorésistance des mésophiles, on trouve (moyenne de 14 essais) :

$$f = 1,76 \quad j = 0,04$$

Dans les deux cas, on chauffe 5 ml de lait.

2. Calcul des temps équivalents

Connaissant f et j , on peut calculer l'évolution de la température pour tout autre couple de valeurs de T_o et T_b , au moyen de l'équation :

$$(3) \quad T = T_b - (T_b - T_o) \cdot 10^{j - t/f}$$

Le calcul est fait pour les températures utilisées pour les mesures de thermorésistance, soit 105 à 125 °C pour les thermophiles en ampoules, 80 à 100 °C pour les mésophiles en tubes, de 5 en 5 K (K est l'abréviation du

kelvin, unité S.I. à utiliser pour exprimer les températures absolues et les intervalles de température). Les courbes sont ensuite découpées en intervalles de temps égaux entre eux, la durée d . Pour chaque intervalle, on calcule la valeur moyenne de la température T_i . Le temps équivalent pour chaque intervalle est :

$$(4) \quad t_{\text{eq}, i} = d \cdot 10^{(T_i - T_b)/z}$$

et le temps équivalent à l'ensemble de la courbe est :

$$(5) \quad t_{\text{eq}, \text{total}} = \sum_i t_{\text{eq}, i}$$

où z est la variation de température qui modifie par un facteur 10 le temps de réduction décimale des spores.

La valeur exacte de z n'est connue qu'à l'issue de l'ensemble des essais. Mais il faut néanmoins calculer les temps équivalents. On résout cette contradiction en choisissant une valeur a priori, et on vérifie que la valeur expérimentale en est proche. Sinon, par essais et erreurs successifs, on trouve une valeur assurant la cohérence de la démarche. Ici on choisit a priori $z = 10$ K, en fonction de résultats antérieurement publiés (HORAK, 1980). Les résultats obtenus montrent que ce choix est bon.

On obtient les valeurs suivantes :

- pour les ampoules, les 4 premières minutes de chauffage sont équivalentes à 2 mn à T_b ,
- pour les tubes, les 5 premières minutes de chauffage sont équivalentes à 2,4 mn à T_b .

En gardant la même valeur quelle que soit la température dans l'intervalle étudié, l'erreur reste inférieure à 4 %. Après cette période (4 ou 5 mn selon le cas), la température du lait est égale à celle du bain, aux erreurs de mesure près.

D. Détermination de la thermorésistance

Des volumes de 5 ml du lait à étudier sont répartis en ampoules ou en tubes vissés. A chaque température étudiée, on plonge 5 ampoules ou tubes dans le bain, et on les retire successivement à intervalles de temps déterminés. Les moins chauffés doivent encore contenir des spores capables de s'y développer, tandis que les plus chauffés doivent rester stables lors de l'incubation. Des tâtonnements peuvent être nécessaires pour trouver la bonne fourchette. L'incubation est faite comme indiqué plus haut. Après incubation, on note pour chaque couple temps-température s'il y a déstabilisation (+) ou non (-).

Les résultats relatifs à un même échantillon de lait sont reportés sur un graphique avec en abscisses la température et en ordonnées le logarithme du temps équivalent. Il faut tracer les deux droites suivantes :

- l'une au dessous de laquelle il n'y a que des signes +,
- l'autre au dessus de laquelle il n'y a que des signes -,

de sorte qu'elles soient parallèles (entre les deux droites peuvent se trouver aussi bien des signes + que des signes -).

On trace ensuite une droite parallèle aux précédentes, dont l'ordonnée à toute température est :

$$(6) \quad \log t = 0,63 (\log b - \log a) + \log a$$

avec : t temps équivalent

$\log a$ ordonnée de la droite inférieure

$\log b$ ordonnée de la droite supérieure

0,63 facteur découlant de la loi statistique de Poisson.

La troisième droite passe par les points où il reste en moyenne 1 spore dénombrable par ampoule ou tube. L'inverse de sa pente est z . A toute température on peut calculer le temps de réduction décimale des spores par l'équation :

$$(7) \quad D = t / \log (5 \cdot V_0)$$

avec : t temps équivalent

V volume de lait soumis au chauffage, soit 5 ml

C_0 concentration initiale en spores par millilitre.

Par convention, on calcule $D_{121^\circ\text{C}}$ qui, avec z , caractérise entièrement la thermorésistance de la population de spores étudiée.

II. Résultats et discussion

La figure 2 donne un exemple de graphique construit par la détermination de f et j . La figure 3 montre comment les résultats d'essais d'inactivation de spores sont exploités. Enfin le tableau 1 rassemble les résultats des mesures de concentration initiale en spores et en thermorésistance.

Sauf erreur ou omission, cet article présente la première étude faite en France du nombre et de la thermorésistance des spores bactériennes contenues dans le lait utilisé pour la fabrication de laits de longue conservation. Il n'existe qu'une étude comparable, celle de HORAK (1980) qui porte sur les laits de Bavière. Les travaux antérieurs portaient sur l'identification de souches et la recherche des souches les plus résistantes (CERF, 1987).

Pour les spores thermophiles, les résultats sont voisins de ceux de HORAK (1980) soit C_0 compris entre 0,1 et 30 spores par millilitre, $D_{121^\circ\text{C}} = 25$ s et $z = 10,3$ K. La population de spores thermophiles des laits de Bavière a donc une nette ressemblance avec celle des laits récoltés en France (le lait collecté par la Coopérative laitière centrale de Paris vient de toute la moitié nord du pays, sauf la Normandie). Mais la concentration en spores n'étant pas liée à la concentration en bactéries sous forme végétative, on ne peut conclure que l'hygiène du lait est la même en Bavière et en France...

On ne dispose pas de point de comparaison pour le dénombrement des spores mésophiles provenant de la recontamination à l'usine. Pour ce qui concerne la thermorésistance, HORAK (1980) indique que les spores du lait cru sont caractérisées comme suit : $D_{121^\circ\text{C}} = 11$ s et $z = 10,4$ K. Si la valeur de z est

Fig. 2

Exemple de courbe de montée en température dans une ampoule contenant 5 ml de lait plongée dans un bain thermostaté à 80 °C, selon l'équation (2).

Example of heating-up temperature curve in 5 ml milk ampoule immersed in a 80 °C water bath (see equation [1]).

Fig. 3

Exemple de graphique pour la détermination de la thermorésistance de spores (thermophiles chauffés en ampoules).

Example of plot for determining heat resistance (thermophiles heated within ampoules).

TABLEAU 1

Flore sporulée des laits utilisés pour la fabrication de laits de longue conservation
Spores of milk used for making long life milk

Fabrication	Température d'incubation (°C)	C ₀ (ml ⁻¹)	D _{121°C} (s)	Z (K)
lait U.H.T. (30 prélèvements)	55	2,3 ± 0,6 0,4 à 17	58 ± 5 19 à 130	9,6 ± 0,1 8 à 11
lait stérilisé en bouteille (50 prélèvements)	31	* 0,3 ± 5,4	0,63 ± 0,1 0,05 à 1,2	10 ± 10,4 7,3 à 11,5

On donne la moyenne ± l'écart type de la moyenne et l'amplitude de variation.

* Dans 40 prélèvements, la concentration en spores est inférieure au seuil de détection de la technique utilisée. Les résultats présentés dans la suite du tableau sont donc relatifs aux 10 prélèvements où les spores peuvent être dénombrées.

Mean ± standard deviation of the mean and range are given.

* In 40 samples, spore concentration was lower than the detection threshold of the numeration technique which was used. Therefore results in the second part of the table relate to the 10 samples where spores could be enumerated.

proche de celle trouvée ici (il s'agit de l'ordre de grandeur le plus fréquent pour les spores bactériennes, il est donc logique de le retrouver pour une population mélangée), celle de D_{121°C} est très éloignée : on ne peut comparer les spores du lait cru, qui proviennent essentiellement de la terre et qui sont véhiculées par le végétaux, avec les spores véhiculées par l'air d'une laiterie située dans une grande agglomération urbaine.

Voyons comment utiliser les résultats du tableau 1.

a) *Cas du lait U.H.T.* Supposons d'abord une installation U.H.T. telle que $t_{\text{eq, total}} = 10$ mn, soit 600 s, à 121 °C, utilisée pour conditionner du lait dont la population de spores thermophiles a les caractéristiques figurant au tableau 2. L'application de l'équation (1) donne :

$$R = 2,3 \times 1\,000 \times 10^{-600/58} = 10^{-7}$$

En général, il suffit que le risque de non-stérilité soit égal à 10⁻⁴. Dans l'exemple choisi, le chauffage semble excessif. Peut-on le réduire en agissant soit sur la température de stérilisation, soit sur la durée de chambrage à cette température ? En fait, il faut garder une marge de sécurité pour tenir compte de l'encrassement, qui entraîne une réduction du temps de passage du lait dans les conduites : le risque ne doit pas devenir excessif dans les instants qui précèdent les nettoyages. Dans l'état actuel des techniques, il semble prudent de garder la même marge que dans l'exemple ci-dessus, soit 3 puissances de dix.

b) *Cas du lait stérilisé en bouteille.* Supposons maintenant un autoclave de $t_{\text{eq, total}} = 1$ mn à 121 °C, utilisé pour stériliser des bouteilles de 1 000 ml de lait dont la population thermorésistante est composée de spores mésophiles ayant

les caractéristiques figurant au tableau 1. En prenant en compte la contamination la plus élevée, le calcul donne :

$$R = 5,4 \times 1\,000 \times 10^{-60/0,63} = 10^{-92}$$

Il est clair que le chauffage est excessif. Pourtant, il est représentatif de la pratique actuelle. En l'absence de publication sur la question, il faut supposer qu'un tel barème a été établi empiriquement, dans des usines où la concentration en spores thermophiles était élevée. Ceci pouvait provenir d'une préréstérilisation U.H.T. insuffisante et/ou d'un contrôle incomplet des recontaminations en thermophiles dans les usines où les constructeurs de stérilisateurs pour bouteilles ont mis au point ces barèmes, par suite d'un non respect des règles d'hygiène. Rappelons ici que ces règles sont simples : conditionnement à environ 30 °C, ou conditionnement à 60-70 °C avec nettoyage-désinfection de la soutireuse toutes les 6 à 8 heures (HERMIER, 1961).

Cet article a présenté des résultats qui ne sont pas valables *a priori* dans d'autres usines que celles de la Coopérative laitière centrale de Paris. Il ne faudrait donc pas appliquer les raisonnements des deux paragraphes précédents sans avoir préalablement réalisé les essais microbiologiques recommandés.

Conclusion

Au moyen de manipulations simples (avec un bain thermostaté, un thermomètre, des tubes et des pipettes) à la portée de tout expérimentateur, et de calculs faisables sur la moindre calculatrice scientifique, il est possible :

- de connaître la flore sporulée thermorésistante du lait dans un atelier quelconque,

- d'en tenir compte pour optimiser la qualité et le coût du traitement thermique de stérilisation du lait, comme cela a été fait à la C.L.C.P. à la suite de ce travail.

Reçu le 14 mars 1986.

Accepté pour publication le 17 octobre 1986.

Références bibliographiques

- CERF O., 1987. Caractérisation de la thermorésistance des spores bactériennes pour l'optimisation des traitements U.H.T. *Lait*, 67 (1), 97-109.
- HERMIER J., 1961. L'origine des spores de thermophiles dans le lait stérilisé en bouteille. *Lait*, 41, 129-144.
- HORAK F.P., 1980. *Über die Reaktionskinetik der Sporenabtötung und chemischer Veränderungen, bei der thermischer Haltbarmachung von Milch zur Optimierung von Erhitzungsverfahren*. Thèse, Université de technologie de Munich.
- ODET G., CERF O., CHEVILLOTTE J., DOUARD D., GILLIS J.-C., HELAINE E., LIGNAC J., 1985. *La maîtrise de la qualité du lait stérilisé U.H.T.* Apria, Paris.