



# Biopréservation et hautes pressions pour la sécurité microbiologique des produits carnés réfrigérés

**Les technologies des barrières (biopréservation et hautes pressions) : quelle valeur ajoutée pour la maîtrise des flores pathogènes ou d'altération dans les différentes matrices carnées réfrigérés à teneur réduite en nitrite ?**

**Mots-clés :** Technologie des barrières, *Listeria monocytogenes*, spores psychrophiles, *Clostridium*, *Bacillus*, jambon cuit, chipolatas, lardons, foie gras

**Auteurs :** Stéphane André<sup>1</sup>, Frédérique Duranton<sup>2</sup>, Laurence Pottier<sup>3</sup>, Anja Rakotondramavo<sup>3</sup>, Barbara Nibouche<sup>1</sup>, Emeline Robieu<sup>4</sup>, Charleyne Prénom<sup>4</sup>, Sabine Jeuge<sup>4</sup>, Jean-Luc Martin<sup>4</sup>, Carole Feurer<sup>4</sup>

<sup>1</sup> CTCPA Unité EMaIRIT'S Site Agroparc, 449 Avenue Clément Ader, BP21203, 84911 Avignon

<sup>2</sup> CTCPA 64 Rue de la Géraudière, 44000 Nantes

<sup>3</sup> ONIRIS, GEPEA UMR-CNRS 6144, rue de la Géraudière, CS 82225, 44322 Nantes Cedex 3

<sup>4</sup> IFIP-Institut du Porc, pôle Viandes et Charcuteries, La Motte au Vicomte, 35 650 Le Rheu

\* E-mail de l'auteur correspondant : sandre@ctcpa.org

La demande en produits de plus en plus naturels par les consommateurs encourage les industriels à rechercher des alternatives à l'utilisation de conservateurs pour garantir la sécurité et la qualité microbiologique de leurs produits. Cet article décrit l'application d'un procédé combinant culture protectrice et hautes pressions pour la stabilisation de produits transformés carnés réfrigérés à teneur réduite en nitrite.

## Résumé :

Dans le cadre du projet ANR BlacHP, l'efficacité d'un ferment et d'un barème de traitements hautes pressions sélectionnés suite aux essais réalisés à l'échelle laboratoire, a été évaluée en conditions industrielles. Dans un premier temps l'implantation du ferment concomitante à la maîtrise d'une flore pathogène (*Listeria monocytogenes*) ou de flores d'altération sporulantes psychrophiles a été validée dans le jambon cuit à l'aide de la méthodologie des tests de croissance. En parallèles l'absence de modification organoleptique du produit traité par le procédé combiné a été vérifiée. Dans un deuxième temps, le procédé développé a été transféré avec succès sur trois autres matrices carnées, en permettant d'assurer la qualité et la sécurité microbiologique sur l'ensemble de leur durée de vie microbiologique.

## Abstract: Combined use of biopreservation and high pressure to ensure the microbiological safety of refrigerated meat products.

Within the framework of the ANR BlacHP project, the effectiveness of a protective culture combined to a high-pressure treatment selected following laboratory scale tests was evaluated under industrial conditions. First, the implantation of the protective culture concomitant with the control of a pathogenic flora (*Listeria monocytogenes*) or spoiled psychrophilic spore-forming flora was validated in the cooked ham using the challenge-test methodology. In parallel, absence of organoleptic modifications of the product treated by the combined process was checked. In a second step, the developed process was successfully transferred to three other meat products, ensuring microbiological quality and safety over their entire microbiological shelf life.

## INTRODUCTION

Dans le cadre du projet ANR BlacHP, suite à la sélection d'un ferment et d'un barème de traitement hautes pressions efficace à l'échelle laboratoire, il est apparu nécessaire de valider l'efficacité du procédé développé en conditions industrielles. Pour cela, il a été décidé d'utiliser un protocole de test de croissance ciblant à la fois une flore végétative pathogène ainsi qu'une flore sporulée d'altération inoculées

dans du jambon cuit à teneur réduite en nitrites, matrice modèle du projet. En complément, il est apparu intéressant de tester ce nouveau procédé associant culture protectrice et hautes pressions sur d'autres matrices carnées appartenant à la fois à la filière porcine (lardons et chipolatas) et à la filière palmipèdes gras (bloc de foie gras).

## I. MATERIEL ET METHODES

### I.1. Challenge-test sur matrice jambon

#### Fabrication du jambon

Le jambon a été produit en halle pilote, dans des conditions d'hygiène maîtrisées, selon le procédé conventionnel de fabrication du jambon cuit supérieur français, avec une concentration en nitrites de 25 mg/kg et un taux de sel de 1,8% (Rakotondramavo *et al.*, 2019). Des jambons de 500 g (1 par lot de fabrication) ont été découpés en dés de manière aseptique pour les tests de croissance.

#### Souches utilisées

Deux types de flores ont été suivies après avoir été inoculées. D'une part, une flore pathogène (*Listeria monocytogenes* avec une souche épidémique Ifip Lm004 et une souche issue de jambon de porc Ifip Lm304 en cocktail) et d'autre part, une flore d'altération (des espèces sporulées psychrophiles avec *Clostridium*, *Bacillus* et *Paenibacillus* issues de collection ou de produits altérés : *Clostridium* sp *botulinum* like 3204 002, *Clostridium algidicarnis* 3227 034, *Bacillus cereus* 3103 016 / KBAB4, *Bacillus cereus* 3103 023/ BC120, *Paenibacillus* sp 2901 025 [CTCPA]). Le ferment sélectionné pour ses capacités de barorésistance et ses capacités antibactériennes (production de nisine) vis-à-vis des espèces sporulantes psychrophiles est une souche de *Lactococcus lactis* CH-HP15 (Chr Hansen).

#### Conditions testées

Cet essai visait à tester trois conditions (C1, C2, C3) de biopréservation d'un jambon cuit à teneur réduite en nitrite, artificiellement contaminé avec *Listeria monocytogenes* ou avec la flore sporulée psychrophile.

1/ La culture protectrice est ajoutée avant cuisson des jambons, les jambons sontensemencés puis traités par HP : C1.

2/ La nisine est ajoutée avant cuisson des jambons, les jambons sontensemencés puis traités par HP: C2.

3/ La culture protectrice est ajoutée après cuisson des jambons, les jambons sontensemencés puis traités par HP : C3.

Trois conditions témoins (T1, T2, T3) ont été menées en parallèle :

1/ Un témoin non biopréservé, traité par HP et nonensemencé : T1.

2/ Un témoinensemencé, non biopréservé et traité par HP : T2.

3/ Un témoinensemencé, non biopréservé et non traité par HP : T3.

Pour les essais avec la flore sporulée psychrophile, les modalités testées sont identiques et la flore sporulée est toujours ajoutée dès la préparation de la mûlée.

Ces essais ont été répétés sur deux lots indépendants.

#### Modes d'inoculation

*Listeria monocytogenes* a été inoculée à un taux de 100 UFC/g après la cuisson et le tranchage du jambon pour simuler une recontamination, et la flore psychrophile a été inoculée dès la préparation de la mûlée à 1000 spores/g pour simuler une contamination de la matière première. *L. lactis* CH-HP15 a été inoculé à deux étapes différentes : soit par mélange dans le haché de jambon saumuré avant cuisson avec 1h d'incubation à 30 °C pour permettre une installation de la flore (C1), soit lors de la découpe en dés par pulvérisation. Les dés ont alors été mélangés pour garantir l'homogénéité de la répartition du ferment (C3). La culture protectrice a été inoculée à une concentration de  $1 \times 10^7$  UFC/g et à un taux d'ensemencement de 1% (v/m). De plus, dans la modalité C2 sans ferment, la nisine (50 UI/mL, Sigma Aldrich) a été inoculée par mélange dans le haché de jambon saumuré avant cuisson à un taux de 1% (v/m) pour simuler la production de nisine par le ferment

#### Traitement par hautes pressions

Les échantillons de 50 g ont été mis sous vide d'air et traités par une enceinte hautes pressions de 100 L (AV-10, Avure Technologies) avec un barème de 5 minutes à 5000 bars à 8°C.

#### Suivi des flores et analyses physico-chimiques

Les échantillons ont été conservés 41 jours à 8 °C, J0 étant le jour du traitement par hautes pressions. *L. monocytogenes*, la flore sporulée psychrophile et la flore lactique ont été dénombrés sur 3 échantillons à J-1 (1 jour avant hautes pressions), J1, J11, J20, J29 et J41. Pour ces mêmes dates, la flore d'altération (*Pseudomonas* et les entérobactéries) a également été dénombrée. Une recherche de *L. monocytogenes* a été effectuée à J1 et J41 sur la condition T1 ainsi qu'entre J11 et J41 pour les conditions C1, C2 et C3. Les taux d'inoculation de *L. monocytogenes* et de la flore sporulée psychrophile ont été validés par un dénombrement sur des échantillons non traités.

L'ensemble des analyses microbiologiques a été effectué selon les normes NF ou ISO en vigueur.

Le pH et l'activité de l'eau (aw) ont été mesurés sur les échantillons de la condition T1 à J1, J20 et J41. L'implantation du ferment a été suivie par dénombrement sur gélose MRS et par métagénomique à J20 et J41.

### I.2. Durée de vie microbiologique d'autres matrices carnées (chipolatas, lardons et foie gras)

#### Fabrication des produits et traitement de stabilisation

Les lardons et chipolatas ont été produits par l'entreprise A. Des blocs de foie gras pasteurisés de 150 g avec 30% de morceaux ont été prélevés dans deux entreprises B et C.

Concernant les chipolatas, le ferment *L. lactis* CH-HP15 a été ensemencé dans la mûlée avant embossage. Le ferment a été pulvérisé de manière uniforme sur les lardons, qui ont ensuite été mélangés pour assurer l'homogénéité d'inoculation. Il a été pulvérisé sur toutes les surfaces des blocs de foie gras. Les produits ont été inoculés à une concentration de  $10^7$  UFC/g. Le taux d'ensemencement était de 1% (v/m). Les produits ont ensuite été conditionnés en barquettes ou sachets individuels sous vide et traités par hautes pressions suivant un barème de 5000 bars pendant 5 min à 8 °C.

#### Suivi des flores et analyses physico-chimiques

La durée de vie microbiologique de chipolatas (17 jours), de lardons (35 jours) et de foie gras (55 jours) conditionnés sous vide et traités par la combinaison de *L. lactis* CH-HP15 et d'un traitement hautes pressions a été évaluée suivant un scénario de conservation de 1/3 à 4 °C et 2/3 à 8 °C. Deux lots de fabrication indépendants ont été analysés. Pour chaque lot, 3 modalités ont été testées : les produits traités par hautes pressions uniquement, les produits traités par la combinaison *L. lactis* CH-HP15-hautes pressions et les produits non traités (témoin). Pour les lardons et les chipolatas, trois dates d'analyse J0, à 1/3 de la DLC ou à DLC ont été effectuées. Pour le foie gras, 4 dates d'analyse J0, à 1/3 de la DLC, à DLC et à DLC +15 jours ont été fixées. Pour les trois produits, 5 échantillons par date ont été analysés. A chaque date d'analyse, le pH et l'aw ont été déterminés.

Pour les lardons et les chipolatas, la flore totale, la flore lactique, *Pseudomonas*, les entérobactéries, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* et les staphylocoques à coagulase positive ont été recherchés et/ou dénombrés selon les normes NF ou ISO en vigueur. Pour le foie gras, les dénombrements et ou recherche des germes suivants ont été menés : la flore lactique, les anaérobies sulfite-réducteurs, les staphylocoques à coagulase positive, les spores psychrophiles et *L. monocytogenes*. A chaque date d'analyse, le pH a été déterminé.

#### **I.3. Analyse métagénomique ciblée**

Pour confirmer l'implantation du ferment, une analyse métagénomique ciblée a été effectuée sur un pool de 3 échantillons de jambon à J20 et J41 pour les modalités C1 (ferment ajouté avant cuisson) et C3 (ferment ajouté après cuisson). Dans le cadre du suivi des espèces sporulantes psychrophiles, les échantillons ont été analysés à J29 pour les

3 modalités testées. L'ADN a été extrait puis amplifié par PCR avec des amorces ciblant la région hypervariable (V1-V3) de l'ADNr 16S des bactéries. La qualité de l'amplification est vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose en présence de témoins positifs et négatifs. La concentration d'ADN des différents amplicons a été mesurée par la méthode Picogreen. Le séquençage de l'ADN extrait a été réalisé sur séquenceur Illumina Miseq. Les séquences générées ont ensuite été vérifiées et filtrées par une analyse bio-informatique. L'analyse a été effectuée en excluant les cellules de bactéries mortes.

#### **I.4. Analyses sensorielles**

L'analyse sensorielle visait, dans un premier temps, à montrer s'il existait une différence de goût perceptible entre le jambon cuit non traité et le jambon cuit ayant subi le traitement combiné. L'analyse sensorielle a été effectuée après 7 jours de stockage réfrigéré post-traitement. Pour cela, un test triangulaire a été effectué selon la norme NF EN ISO 4120 (2007). Soixante juges naïfs ont répondu à la question suivante (test à choix forcé) : "Trois échantillons de jambon cuit vous sont présentés : deux d'entre eux sont identiques et un autre différent. Goûtez chaque échantillon suivant l'ordre de présentation et entourez le nombre correspondant à l'échantillon qui est différent."

Dans un deuxième temps, un test hédonique a été prévu dans l'éventualité où le test triangulaire conclurait à une différence entre les produits. Ce test permet d'évaluer le degré d'appréciation des juges sur 3 critères : la couleur, le goût et l'appréciation globale. Il a été demandé à 60 dégustateurs d'évaluer des échantillons codés de jambon cuit en indiquant leur degré d'appréciation sur une échelle à 5 niveaux allant de « je n'aime pas du tout » à « j'aime beaucoup ». Pour cela, les dégustateurs choisissaient, pour chaque échantillon, la catégorie qui correspondait à leur degré d'appréciation. Pour le traitement des données, chaque niveau de l'échelle d'appréciation a été converti en une note allant de 1 à 5 (je n'aime pas du tout = 1 / je n'aime pas = 2 / indifférent = 3 / j'aime un peu = 4 / j'aime beaucoup = 5). Les notes (pour chaque critère et chaque échantillon) ont ensuite été analysées au moyen d'une ANOVA pour déterminer les différences significatives dans le degré d'appréciation moyen entre les échantillons. Une répartition en pourcentages des notes attribuées par les sujets a également été effectuée.

## **II. CHALLENGE-TEST AVEC LE JAMBON : RESULTATS ET DISCUSSION**

### **II.1. Analyses microbiologiques**

#### Implantation du ferment *L. lactis* CH-HP15

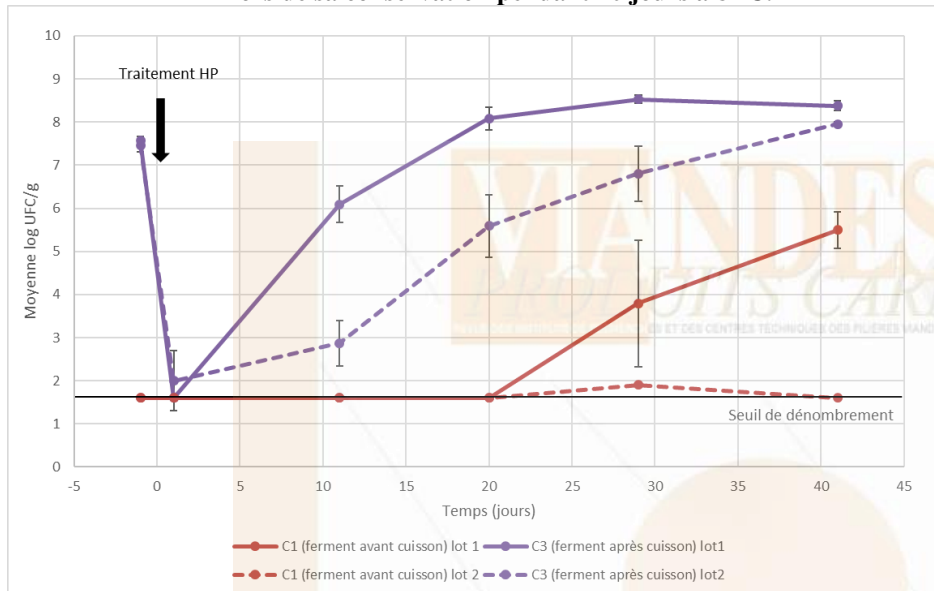
Les tests de croissance de *Listeria monocytogenes* sur la matrice jambon cuit ont montré que le ferment *L. lactis* CH-HP15 ne survivait pas à la cuisson (C1). Une faible croissance de la flore lactique était observée après 20 jours de stockage à 8 °C dans le lot 1 et quasi nulle dans le lot 2 (Figure 1). Lorsque *L. lactis* CH-HP15 est inoculé après cuisson (C3), le traitement par hautes pressions effectué à J0 entraîne une forte réduction décimale (5 à 6 log UFC/g) de sa population. *L. lactis* CH-HP15 reprend sa croissance entre J5 et J11 et sa concentration atteint  $7.10^5$  UFC/g (lot 2) à  $1.10^8$  UFC/g (lot 1)

après 20 jours de conservation à 8 °C. Les résultats de métagénomique 16S confirment que *L. lactis* est dominante dans les échantillons analysés à J20 et J41 (Figure 2). Ces résultats montrent que *L. lactis* CH-HP15 doit être inoculé après cuisson pour permettre son implantation dans le jambon cuit et assurer son rôle de culture protectrice.

Lors des essais avec inoculation des spores bactériennes, le ferment s'est implanté de la même manière et cela a été confirmé par métagénomique.

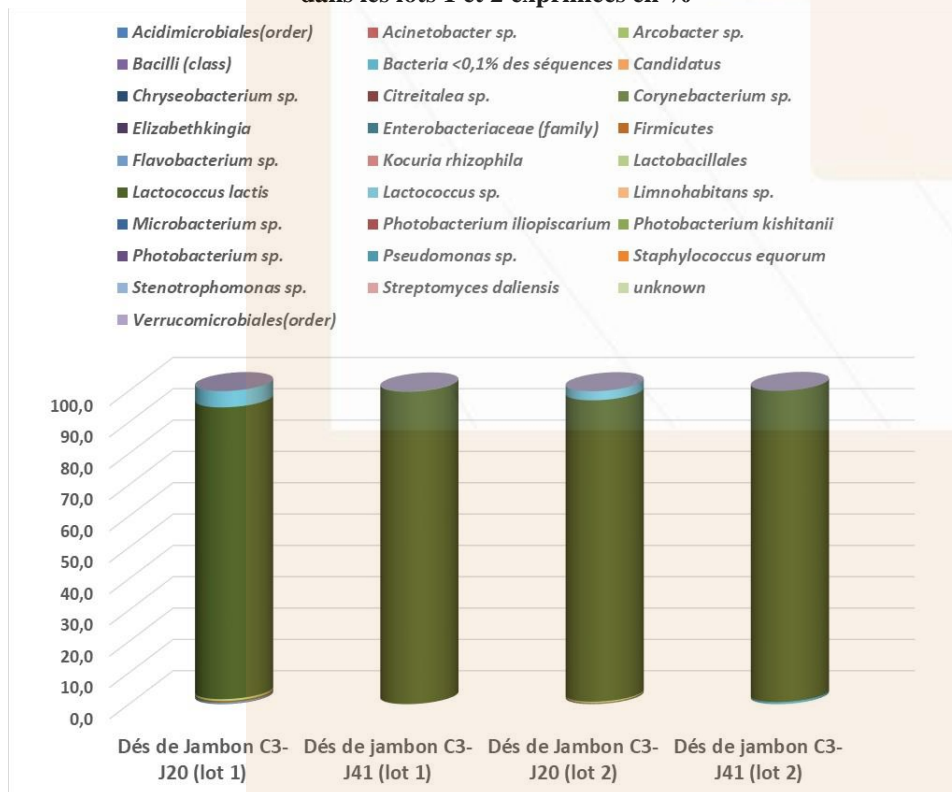


**Figure 1 : Evolution de la flore lactique dans le jambon traité par hautes pressions lors de sa conservation pendant 40 jours à 8 °C.**



*L. lactis* inoculé avant cuisson : courbes rouge plein (lot 1) et pointillé (lot 2) ; *L. lactis* inoculé après cuisson : courbes bleu plein (lot 1) et pointillé (lot 2).

**Figure 2 : Abondance relative des espèces bactériennes présentes dans les dés de jambon (condition C3) à J20 et J41 dans les lots 1 et 2 exprimées en %**



Suivi de la flore végétative pathogène : *L. monocytogenes* et des flores d'altération

Les tests de croissance montrent que *L. monocytogenes* atteint une population de 8,44 log UFC/g à J41 lorsque le jambon n'est ni biopréservé ni soumis à un traitement par hautes pressions (T3). Pour les conditions C1 (*L. lactis* CH-HP15 ajouté avant cuisson + traitement HP), C2 (Nisine ajoutée avant cuisson + traitement HP) et C3 (*L. lactis* CH-HP15 ajouté après cuisson + traitement HP), *L. monocytogenes* est toujours inférieur au seuil de dénombrement (4 UFC/g) de J1 à J41. Par ailleurs, les recherches de *L. monocytogenes* effectuées à J29 et J41 pour

les trois conditions montrent une absence de détection de *L. monocytogenes*. Lorsque le jambon contaminé par *L. monocytogenes* n'est ni biopréservé, ni traité par HP (T2), aucune croissance de *Listeria* n'est observée, montrant ainsi que le traitement HP seul est suffisant pour maîtriser la croissance de *L. monocytogenes* dans le jambon cuit (données non présentées).

Par ailleurs, pour les trois conditions C1, C2 et C3, les populations de *Pseudomonas* et d'entérobactéries étaient toujours inférieures au seuil de dénombrement (4 UFC/g et 10 UFC/g respectivement), quelle que soit la date de prélèvement.

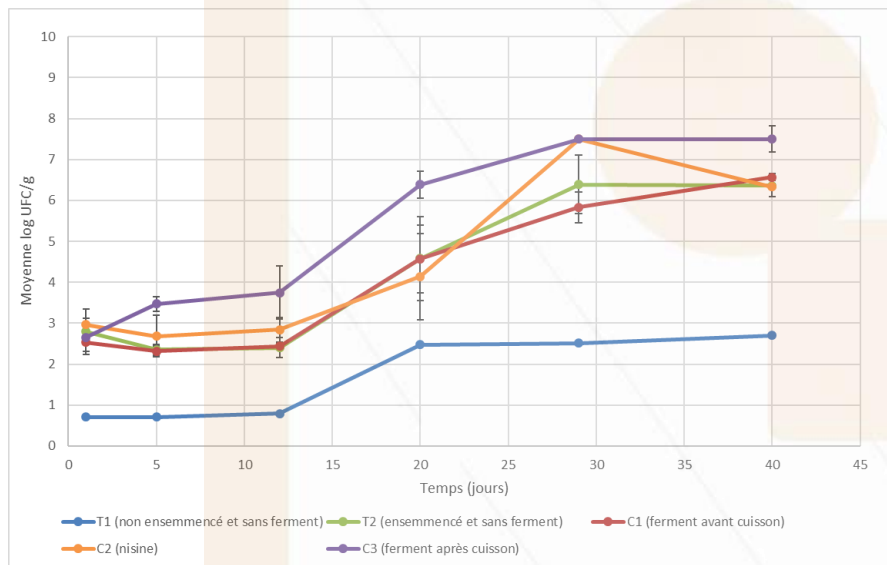
### Suivi de la flore sporulante psychrophile

Aucune flore endogène ne s'est développée au-delà de 1 log au cours de la DVM (Figure 3). Lorsque seules les spores ont été inoculées, cette flore s'est développée après 15 jours de latence pour atteindre plus de 6 log dès 30 jours. Lorsque le ferment a été inoculé avant la cuisson, comme celui-ci ne s'est pas installé, la flore sporulée s'est développée de la même manière. La même évolution a été observée lorsque le ferment était absent et remplacé par de la nisine. Dans ces différents cas, des analyses de métagénomique ont permis de définir que c'est le genre *Paenibacillus* qui s'est développé suite à l'inoculation du mix d'espèces sporulantes suite au traitement HP du jambon. Dans le cas de l'inoculation du ferment après la cuisson, c'est à dire lorsqu'il a pu s'installer, il n'a pas été possible de différencier la flore

sporulante du ferment, et une flore avec une vitesse de croissance rapide et avec un potentiel de croissance plus important (> 7 log UFC/g) a été observée. La métagénomique a permis de déterminer que c'est le ferment, *Lactococcus lactis*, qui s'est développé rapidement sans qu'une action inhibitrice sur les spores puisse être déterminée.

Uniquement lorsque le ferment est inoculé après cuisson, l'inhibition de la flore sporulée semble efficace étant donné que l'analyse des échantillons n'a pas révélé la présence de cette flore. Pour les autres modalités, la cuisson a détruit le ferment lorsqu'il a été inoculé avant celle-ci ou la concentration de nisine utilisée n'a pas eu d'effet sporicide ou bactéricide dans ce procédé alors que cette concentration était efficace lors des essais au laboratoire.

**Figure 3 : Evolution de la flore anaérobie dans du jambon conservé à 8 °C (exemple du lot n°2)**



### II.2. Analyses sensorielles

Concernant le test triangulaire, sur les 60 juges, 31 ont donné la bonne réponse (c'est-à-dire ont correctement identifié l'échantillon différent) et 29 ne l'ont pas identifié. Ainsi, pour un seuil de 99% ( $\alpha = 0,01$ ), une différence significative a été perçue par les juges entre le jambon cuit témoin et le jambon cuit HP + ferment (traité).

Suite à ce premier résultat, les réponses au test hédonique ont donc été analysées. Concernant la couleur il apparaît que les notes obtenues par le jambon témoin ( $3,87 \pm 0,87$ ) et par le jambon ayant reçu le traitement combiné ( $3,63 \pm 0,97$ ) ne sont pas statistiquement différentes ( $p = 0,1695 > 0,05$ ). Pour ce qui est du critère "goût", on observe une différence significative : le goût du jambon traité ( $4,18 \pm 0,99$ ) est statistiquement plus apprécié que celui du jambon témoin ( $3,68 \pm 1,08$ ) ( $p = 0,0097 < 0,05$ ). Enfin en ce qui concerne l'appréciation globale, il n'y a pas de différence significative entre les notes. Globalement, le jambon traité ( $4,13 \pm 0,95$ ) est autant apprécié que le jambon témoin ( $3,68 \pm 1,08$ ) ( $p = 0,1533 > 0,05$ ).

On peut également regarder la répartition des notes attribuées par les juges lors du test hédonique (en %). La répartition des notes de couleur est assez homogène : 93% des sujets ont donné une note  $\geq 3$  pour le jambon témoin et 89% pour le jambon traité.

Soixante-treize pourcents des juges ont apprécié le goût du jambon témoin (note  $\geq 4$ ) et 81% pour le jambon traité. Toutefois, 48% des sujets ont attribué une note de 5 (j'aime beaucoup) au jambon traité contre seulement 18% pour le jambon témoin. Le goût du jambon cuit traité semble donc être plus apprécié. De plus, 5% des sujets ont attribué la note la plus basse (1) pour le goût du jambon témoin (contre 0% pour le jambon traité).

Respectivement 75% et 78% des sujets ont globalement apprécié le jambon témoin et le jambon traité (note  $\geq 4$ ). Cependant, le pourcentage de sujet ayant attribué la note maximale de 5 est plus élevé pour le jambon traité (43%) que pour le jambon témoin (25%).

En conclusion, le jambon ayant subi le traitement combiné (HP + ferment) est donc globalement plus apprécié que le jambon témoin.

## III. SUIVI DE LA DUREE DE VIE MICROBIOLOGIE : TRANSFERT A D'AUTRES MATRICES

### III.1. Transfert aux lardons

Les concentrations des flores indicatrices d'hygiène (entérobactéries et *Pseudomonas*) étaient inférieures au seuil de dénombrement dans les essais quel que soit le lot suivi

mais restaient également inférieures aux critères recommandés par les organisations professionnelles dans le témoin non traité (Figure 4). Dans tous les essais et pour tous les lots, la concentration de *L. monocytogenes* était inférieure

au seuil de dénombrement et *L. monocytogenes* et *Salmonella* n'étaient pas détectées. On observait une concentration des staphylocoques à coagulase positive plus importante dans les deux lots témoin par rapport aux essais mais elle restait dans les 3 cas inférieure au critère recommandé de 500 UFC/g à J0 et à la date limite de consommation. L'évolution de la croissance de la flore lactique endogène (HP) ou inoculée (HP+F) était la même et restait stable au cours de la durée de vie du produit. En fin de durée de vie, un différentiel de 4 log UFC/g était observable entre le témoin et les essais montrant que la flore lactique était inhibée par le traitement HP. La comparaison de l'évolution de la croissance de la flore lactique et de la flore totale montre que la flore totale est

essentiellement composée de flore lactique. Les résultats montrent que l'action inhibitrice sur la croissance des flores suivies semble être essentiellement liée au traitement HP seul. Le pH restait stable dans les essais tout au long de la durée de vie, quel que soit le lot analysé alors qu'une acidification était observée dans le témoin (Figure 5). L'*a<sub>w</sub>*, en moyenne de 0,970 restait stable tout au long de la durée de vie dans le témoin et les échantillons HP (données non présentées).

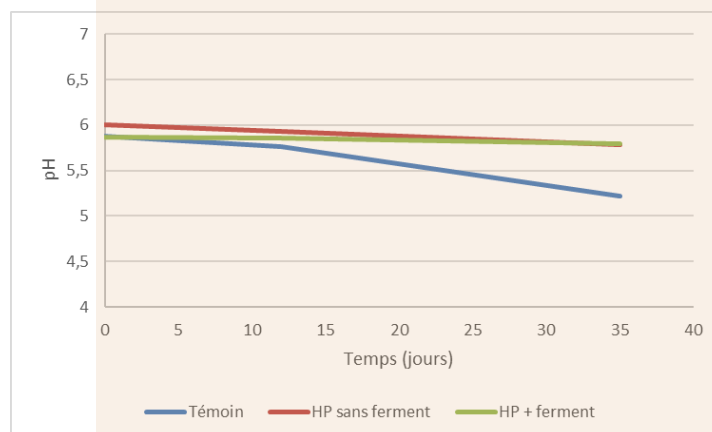
Le traitement par HP ou HP + ferment n'a pas montré de valeur ajoutée quant à la maîtrise des flores indicatrices d'hygiène. De plus le traitement HP entraînait une décoloration du produit.

**Figure 4 : Suivi microbiologique des lardons**



J0 : Date de conditionnement, J 1/3 : Date à 1/3 de la date limite de consommation, produits conservés à 4°C jusque-là, J DLC : Date limite de consommation, produits conservés 1/3 du temps à 4°C puis 2/3 à 8°C

**Figure 5 : Suivi pH des lardons (exemple du lot n°1)**



### III.2. Transfert aux chipolatas

Les concentrations des flores indicatrices d'hygiène (entérobactéries et *Pseudomonas*) étaient inférieures au seuil de dénombrement dans les essais, sauf à JDLC où elles étaient

dénombrables mais restaient inférieures au critère recommandé. En comparaison, ces mêmes flores dépassaient le critère recommandé dans les témoins à JDLC (Figure 6). Dans tous les essais et pour tous les lots, la concentration de *L. monocytogenes* était inférieure au seuil de dénombrement

et *L. monocytogenes* et *Salmonella* n'étaient pas détectées. L'évolution de la croissance de la flore lactique endogène (HP) ou inoculée (HP+F) était la même et restait stable jusqu'à J1/3. A JDLC, elle atteignait 6 à 7 log UFC/g en moyenne alors qu'elle atteignait 8 log UFC/g dans le témoin. Comme pour la matrice lardons, la flore totale était essentiellement composée de flore lactique et l'action inhibitrice sur les flores suivies était essentiellement due au traitement HP. Le pH est resté stable à 6 tout au long de la durée de vie dans les essais alors qu'une acidification était observée dans le témoin (Figure 7). L'*aw* moyen de 0,977 restait stable tout au long de la durée de vie dans le témoin et

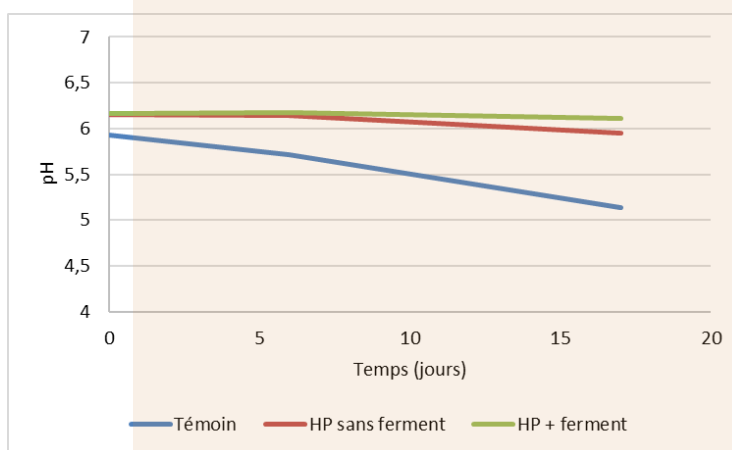
les échantillons HP (données non présentées). Dans la matrice chipolatas, le traitement par HP a permis une bonne maîtrise des flores indicatrices d'hygiène tout au long de la durée de vie et pourrait être favorablement utilisé pour allonger la durée de vie du produit. Cependant, le traitement entraînait une forte décoloration des produits. Lerasle *et al.* (2014) ont montré que le même barème de HP (5000 bars / 5 mins) permettait d'inactiver et prévenir la re croissance de la flore lactique de saucisses de volailles conditionnées sous atmosphère modifiée pendant 22 jours de conservation, ce que nous n'avons pas observé pour les chipolatas conservées sous vide.

**Figure 6 : Suivi microbiologique des chipolatas**



J0 : Date de conditionnement, J 1/3 : Date à 1/3 de la date limite de consommation, produits conservés à 4°C jusque-là, J DLC : Date limite de consommation, produits conservés 1/3 du temps à 4°C puis 2/3 à 8°C

**Figure 7 : Suivi pH des chipolatas (exemple du lot n°1)**



### III.3. Transfert à du bloc de foie gras avec morceaux

Toutes les flores suivies (les ASR, *Staphylococcus aureus* ou encore *Listeria monocytogenes*) ne se sont pas développées au-dessus du seuil de dénombrement (Figure 8). Une flore lactique s'est développée rapidement (<18 jours) dans les témoins non traités. Lorsque seul le traitement HP a été appliqué, la flore lactique s'est développée plus tardivement et sans atteindre les 8 log UFC/g observés dans les témoins. A 70 jours, la flore semble toujours en phase de

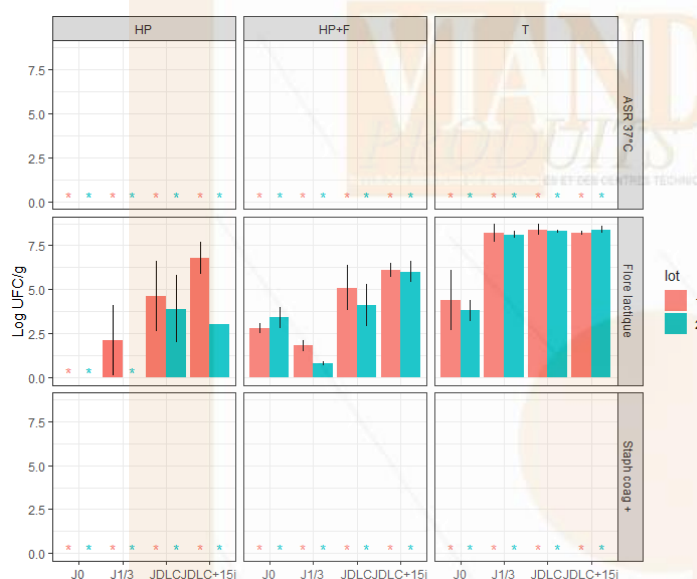
croissance alors que pour le lot 2, la flore est restée à moins de 4 log UFC/g aux 2 dernières dates. Dans le cas où le traitement HP a été appliqué sur une matrice inoculée avec le ferment, si une flore lactique est observable dès la première date d'analyse, celle-ci semble se comporter de la même manière à JDLC ou 15 jours après la DLC.

En conclusion, les flores sporulées ou pathogènes ne se sont pas développées et la flore lactique a été inhibée par le traitement HP. Seul le ferment a eu un effet

d'homogénéisation de la flore lactique, à laquelle il appartient, mais sans augmenter son développement ni sa dégradation par abaissement du pH. Une baisse importante du

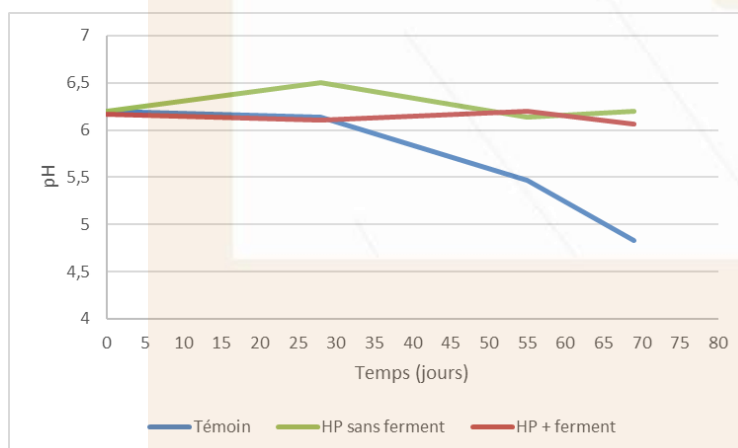
pH a été observée après 30 jours de stockage, mais uniquement pour les échantillons non traités (Figure 9).

**Figure 8 : Suivi microbiologique de blocs de foie gras**



J0 : Date de conditionnement, J 1/3 : Date à 1/3 de la date limite de consommation, produits conservés à 4°C jusque-là, J DLC : Date limite de consommation, produits conservés 1/3 du temps à 4°C puis 2/3 à 8°C

**Figure 9 : Suivi pH de blocs de foie gras (exemple du lot n°2)**



## CONCLUSION

Le ferment sélectionné se développe sur les différentes matrices testées après un traitement par hautes pressions. Dans le cas du jambon cuit, aucune dégradation des paramètres organoleptiques n'a été observée, et le produit traité par le traitement combiné est même préféré au produit témoin.

Le traitement combiné (ferment + hautes pressions) permet la maîtrise des flores pathogènes ou d'altération dans les différents matrices carnées testées pendant leur durée de vie microbiologique. Un allongement de la durée de vie microbiologique serait envisageable pour les 3 matrices.

### Références :

Lerasle M., Federighi M., Simonin H., Anthoine V., Rezé S., Chéret R., Guillou S. (2014). Combined use of modified atmosphere packaging and high pressure to extend the shelf life of raw sausage. *Innovative Food Science and emerging technologies*, 23, 54-60.

Rakotondramavo A., Rabesona H., Brou C., De Lamballerie M., Pottier L. (2019). Ham processing: effects of tumbling, cooking and high pressure on proteins. *European Food Research and Technology*, 245, 273–284.

### Financement :

Ces travaux ont été financés par l'Agence Nationale de la Recherche : projet BlacHPANR-14-CE20-0004.