RMT
RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE
FLOREPRO

ACTIA

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

JOURNÉE DE RESTITUTION du RMT-ACTIA FlorePro et du projet ANR BlacHP

BLac HP

PROJET FINANCÉ PAR L'ANR
PROJECT FUNDED BY THE ANR
ANR-14-CE20-0004

Les nouvelles technologies de conservation des aliments "Biopréservation et Hautes Pressions"

Mardi 20 novembre 2018
à AGRI NAPLES, 43-45, rue de Naples, Paris 8ème

Labellisé par : Valorial L'ALIMENT DE DEMAIN, VITAGORA

Partenaires : ADIV, ifip, INRA SCIENCE & IMPACT, Oniris, ctcpa, ACTALIA, Aérial, Ifremer, AGRO SUP DIJON, AgroParisTech, UB, LUBEM, LIÈGE université, UNIVERSITÉ PARIS-SACLAY, ENILV, CHR HANSEN, Hiperbaric, SOCIÉTÉ BIO VALEUR

AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE

ANR

ANR-14-CE20-0004

BLac HP

Bactéries lactiques combinées avec des hautes pressions pour un procédé durable de stabilisation des produits carnés réfrigérés

Coord : JM Perrier-Cornet & H. Simonin

2014-2019

Genèse du projet

- Procédé Haute pression pour l'alimentaire maitrisé par GEPEA Nantes et UMR PAM Dijon, intéressant d'un point de vue durabilité et préservation des qualités des aliments

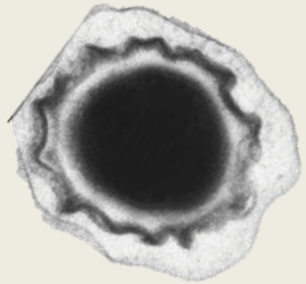
  → limité par l'impossibilité de détruire les sporulés.

  La problématique flore sporulée et haute pression est étudié par l'UMR PAM et le CTCPA

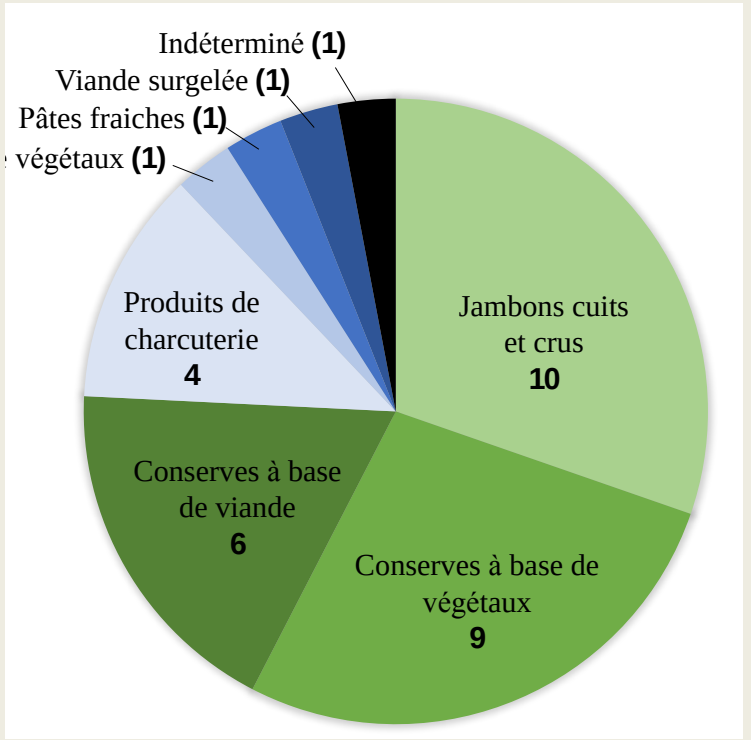
- Biopréservation, procédé de stabilisation peu énergivore qui peut dans une certaine mesure limiter la croissance des pathogènes y compris des spores. Maitrisé par Secalim Nantes et Micalis, Jouy en Josas.

- Les bactéries lactiques sont généralement assez résistantes aux pressions et repartent en croissances même après des traitement HP léthaux.

Bactéries sporulantes & Agroalimentaire



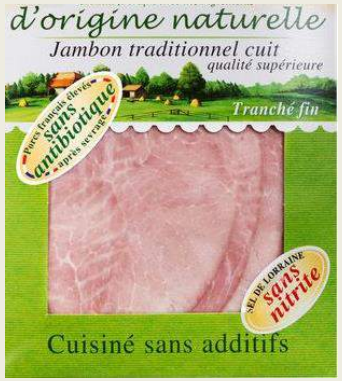
- *Santé : Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*= 4,3 millions de cas de TIAC en 2010 (80% TIAC bactériennes)
- Altération : Gaspillage alimentaire et rappels de produits: *Bacillus coagulans* et *Bacillus pumilus*



Coût estimé par cas de toxi-infection: de 166 $ pour *B. cereus* à 1 343 592 $ pour *C. botulinum*

Origine des toxi-infections alimentaires à base de *C. Botulinum*

Spores & produits carnés

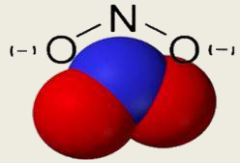


- Produit carnés cuits : contamination & développement de spores psychrophiles pathogènes ou d'altération (*C. botulinum, B. cereus):*

- Conservateur traditionnel : Nitrites

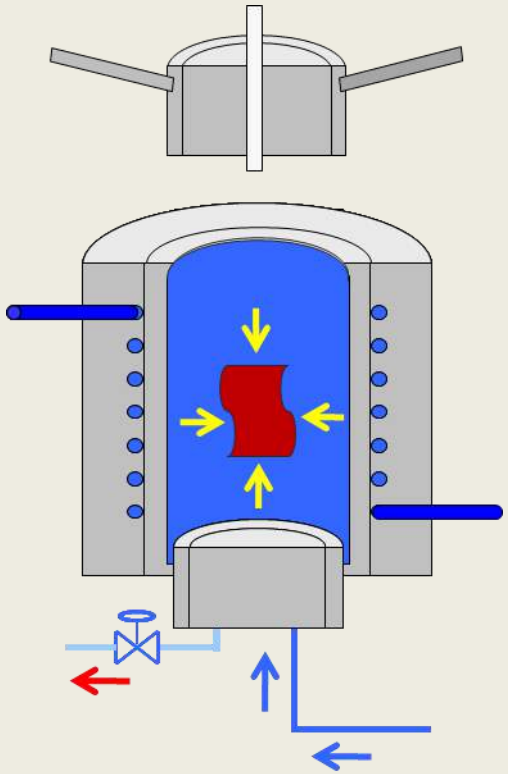
→ réduction des taux de nitrite
accusé d'être cancérigène (nitrosamine)

= augmentation des risques bactériens



→ *Remplacer le nitrite par un traitement physique !*

Procédé haute pression



Un procédés physique propre, introduit il y a plus de 30 ans, réellement industriel mais encore limité à des produits de niche à quelques exceptions.

Pasteurisation froide …

- L'application de hautes pressions hydrostatique permet de préserver la qualité de l'aliment frais
- Permet de détruire les bactéries végétatives (pathogènes, bactéries d'altération)

Mais pas stérilisation !

- Ne détruit pas les bactéries sporulées seule mais peut induire leur germination
- Inactive les spores en combinaison avec T ou antibactérien

Biopréservation & bactériocines

La bioconservation ou biopréservation vise à prolonger la durée de vie des aliment en maîtrisant la croissance des flores pathogènes ou d'altération par l'utilisation de flores protectrices.

- Principe
  - Compétitions microbiennes
  - Production de métabolites inhibiteurs dont la nisine
  - Qualité organoleptique non modifiée

- Limites
  - Implantation de la flore fonction de la charge initiale
  - Encore peu de souches sélectionnées contre gram – et sporulés
  - Spécifique de chaque aliment

Biopréservation

Objectifs du projet

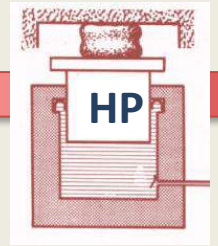
Produits carnés réfrigérés = produits sensibles microbiologiquement,
impératif diminution des nitrites
→ devenir des spores psychrophiles ?

La Biopréservation par bactéries lactiques

B. Lactique

Contrôle de l'écosystème bactérien, sécrétion d'antibactériens naturels

Verrous: flore indigène avant ensemencement, diffusion dans la matrice, altération ...



Hautes pressions hydrostatiques

Efficaces sur pathogènes, traitement dans l'emballage

Verrous: coût du traitement, inefficace sur les spores, possibilité de reprise des flores d'altération au cours du stockage.

Effet synergique de la combinaison de ces 2 technologies

- Levée des verrous : destruction et contrôle des spores psychrophiles, contrôle de la reprise au cours du temps,

Produit : ↗ DLC ↘ additifs
Contrôle de la flore pathogène & altération
Qualités organoleptiques et nutritionnelles intactes
sans additifs

Procédé : ↘ Niveau de P et du cout –
Comparaison de la durabilité du procédés / thermique (ACV)

Perspectives / Impacts espérés

Retombées scientifiques

- Meilleure compréhension de l'effet des HP sur les spores bactériennes notamment en présence de bactériocine
- Interaction spores et B. Lactiques avant/après traitement HP
- Evolution de l'écosystème d'un produit carné réfrigéré en fonction du procédé
- Développement de méthodes d'ACV: prise en compte de nouveaux facteurs (santé)

Développement industriel

- Démonstration de la synergie à l'échelle pilote : produit de hautes qualités organoleptiques, nutritionnelles et fonctionnelles à DLC augmentée et sans ajout de nitrites
- Sélections de souches de biopréservation efficaces adaptées aux HP et produits carnés
- Elargissement à d'autres produits carnés et de la mer
- Réduction de l'impact environnemental

Consortium

Un consortium équilibré et très complémentaire -> 10 partenaires

4 Laboratoires

- UMR PAM, Dijon, microbiologie et procédés HP
- GEPEA, Nantes, procédés HP et physico-chimie
- Secalim, Nantes, microbiologie et modélisation
- Micalis, Jouy en Josas, métagénomique

2 Centres techniques

- CTCPA, Avignon, Centre de la conserve
- IFIP-Institut du porc, Maisons Alfort

4 Industriels

- Hiperbaric, équipementier HP
- Société Biovaleur, PME fabriquant de jambon bio
- CHR Hansen, société productrice de ferment
- 5 degré ouest, PME utilisateur et prestataire de HP

Taches et Interactions

Matrice : dés de jambon

Écosystème naturel

Spores psychrophiles

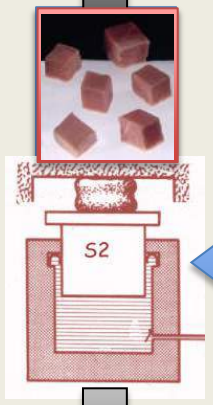
Pathogènes non sporulés

Tache 1 : Effet des HP et des B. lac. sur l'écosystème

1.1 Sélection de bactéries résistantes aux HP
1.2 Effet des HP sur les B. lac.
1.3 Elaboration d'un écosystème modèle
1.4 Effet de HP et B. lac. sur l'écosystème modèle

Flore de bioprotection

Ensemencement



Tache 2 : Impact des B. lac. et de B. lac.+ HP sur les propriétés organoleptiques de la viande

2.1 Propriétés nutritionnelles
2.2 Propriétés technologiques
2.3 Impact sur la durée de vie

Tache 3 : Effet des HP sur les spores

3.1 Sélection des spores
3.2 Marquage et suivi des spores
3.3 Effet des HP et B. lac. sur spores pdt traitement
3.4 Stratégie d'inactivation des spores
3.5 Effet des HP et B. lac. sur les spore pdt le stocka

Recouvrement

Tache 4 : ACV

4.1 ACV sur le procédé traditionnel
4.2 ACV sur le nouveau procédé
4.3 Comparaison entre les procédés

Tache 5 : Essais à échelle pilote et extension à d'autres produits

5.1 Qualité microbiologique
5.2. extension de la durée de vie
5.3 Essais sur autres produits

Grandes étapes du projet

- Choix et étude d'une bactérie de biopreservation résistante aux pressions et capable de bloquer la croissance des sporulées

- Choix et étude de spores modèles psychrophiles « pathogènes-like » et d'altération

- Choix de deux flores indigènes modèles représentatives du jambon
- Détermination d'un barème HP optimum combinant à la fois destruction des pathogènes non sporulés, inactivation limitée de la bactérie protectrice
- Détermination du taux et des conditions d'ensemencement

- Fabrication du jambon modèle

→ Challenge test et validation (en cours)

Ecosystèmes microbiens et biopréservation

M. Zagorec[1], S. Chaillou[2]
[1]INRA, UMR1014-Secalim, Nantes, France
[2]INRA-AgroParisTech UMR1319-Micalis, Jouy en Josas, France

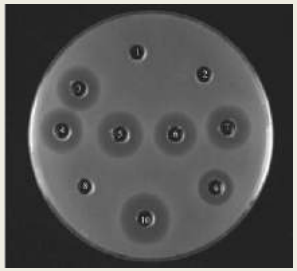
1. Sélection d’une souche pour la biopréservation
2. Collection et description du microbiote des jambons
3. Écosystèmes microbiens, biopréservation et HP

1. Sélection

63 souches

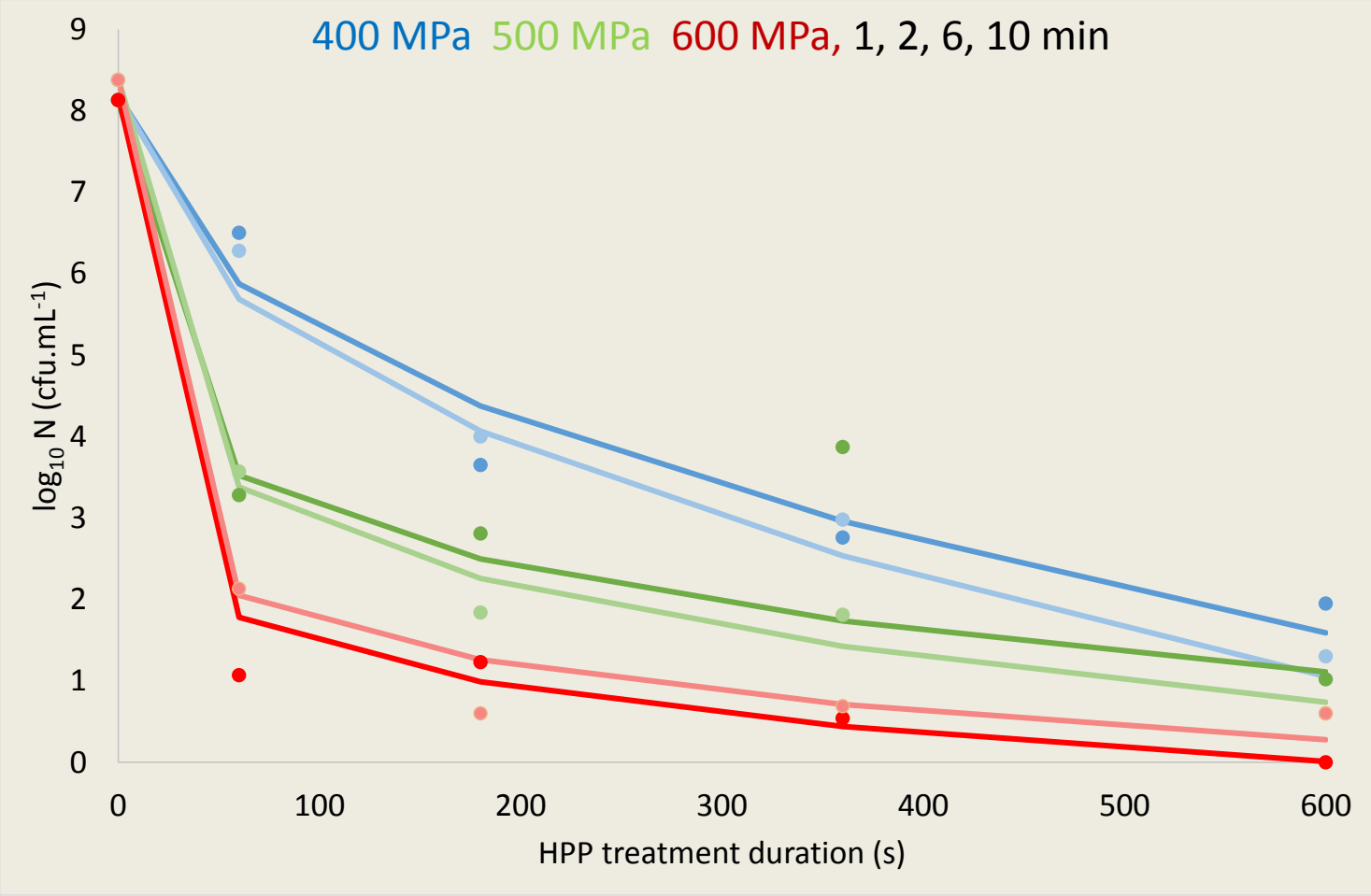
1 souche
L. lactis

- Innocuité
  - 63/63 √ Pas de production d'amine biogène
  - 14/63 √ Pas de résistance aux antibiotiques
- 6/63 √ Active contre des espèces sporulantes
  - *Clostridium botulinum* like, *Clostridium algidicarnis*, *Clostridium frigidicarnis*
  - *Bacillus cereus*
- 2/63 √ Produisant une bactériocine
- 1/63 √ Résistante HP / recroissance



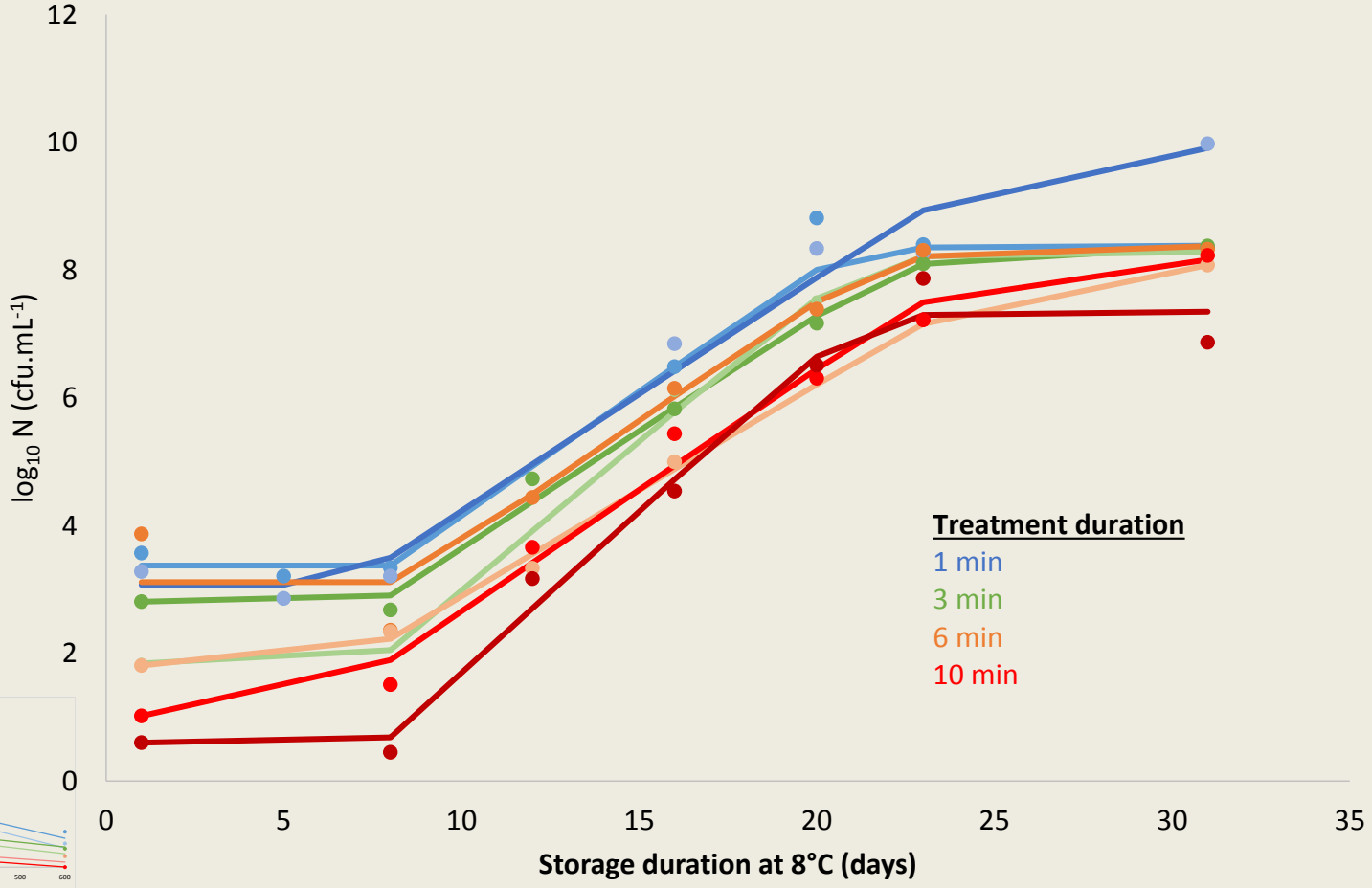
Ramaroson et al, 2018. Int. J. Food Microbiol. 276:28-38

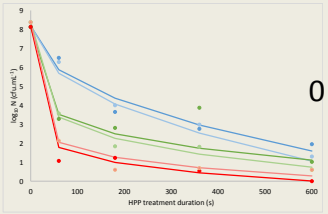
1. Sélection
Résistance HP



Ramaroson et al, 2018. Int. J. Food Microbiol. 276:28-38

1. Sélection
Capacité à recroître après HP 500 MPa



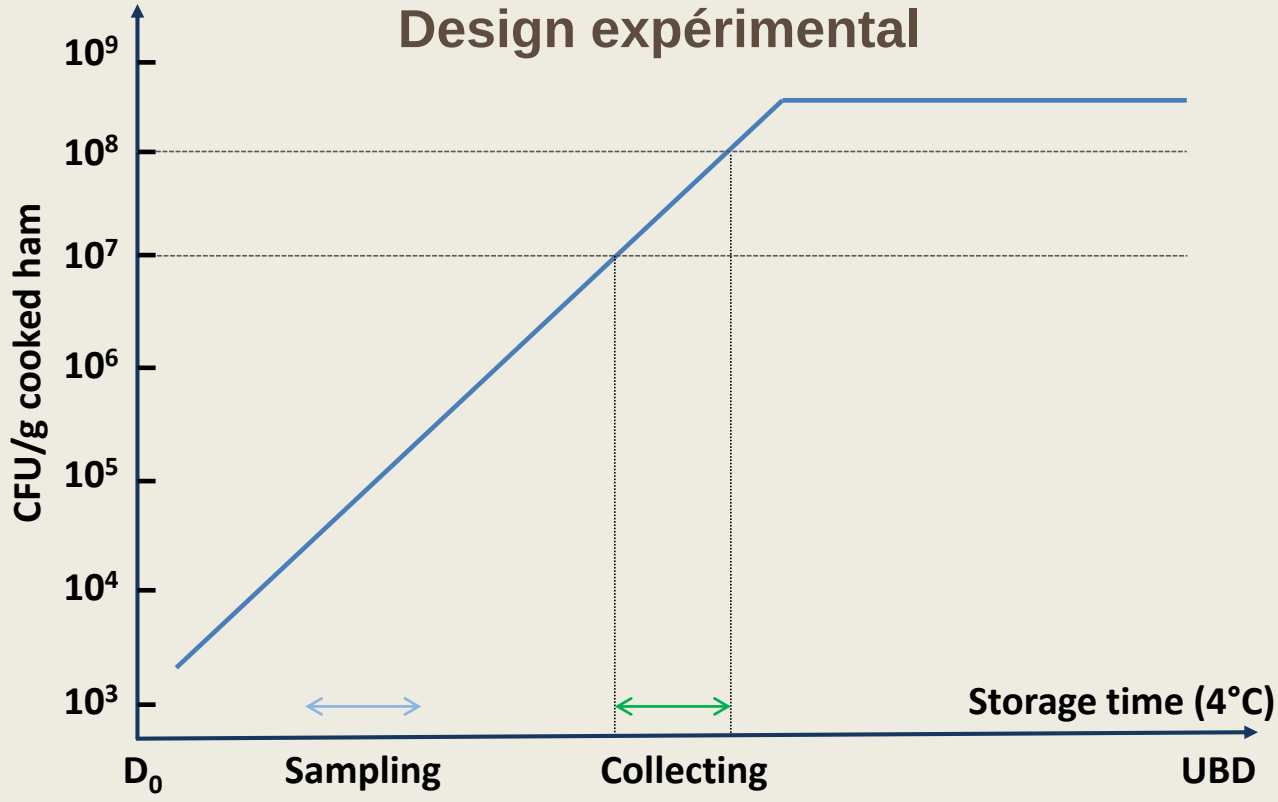


Ramaroson et al, 2018. Int. J. Food Microbiol. 276:28-38

1. Sélection d’une souche pour la biopréservation
2. Collection et description du microbiote des jambons
3. Écosystèmes microbiens, biopréservation et HP

2. Collection et description du microbiote des jambons

Design expérimental



DNA
Amplicon sequencing
16S, *gyrB*
Caracterisation

Aliquots 1 ml microbiota ~10^8 CFU/ml
Storage -80°C

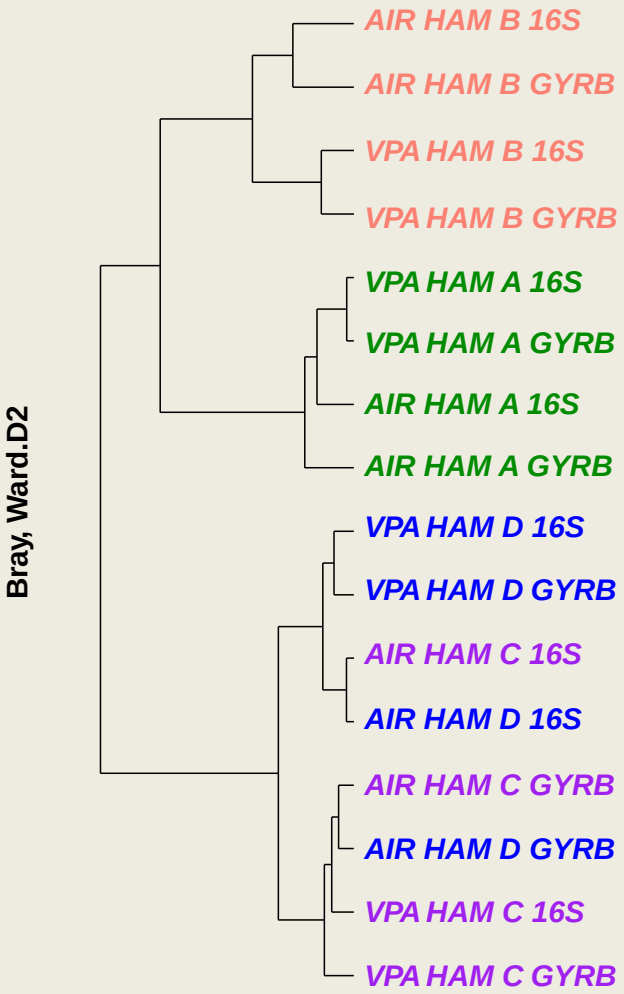
Viability
Challenge-tests

1. Collection et description du microbiote des jambons
Description

- 4 échantillons (VPA, AIR)
- 16S *gyrB* amplicon sequencing
  - Resultats similaires
  - *gyrB* plus informatif

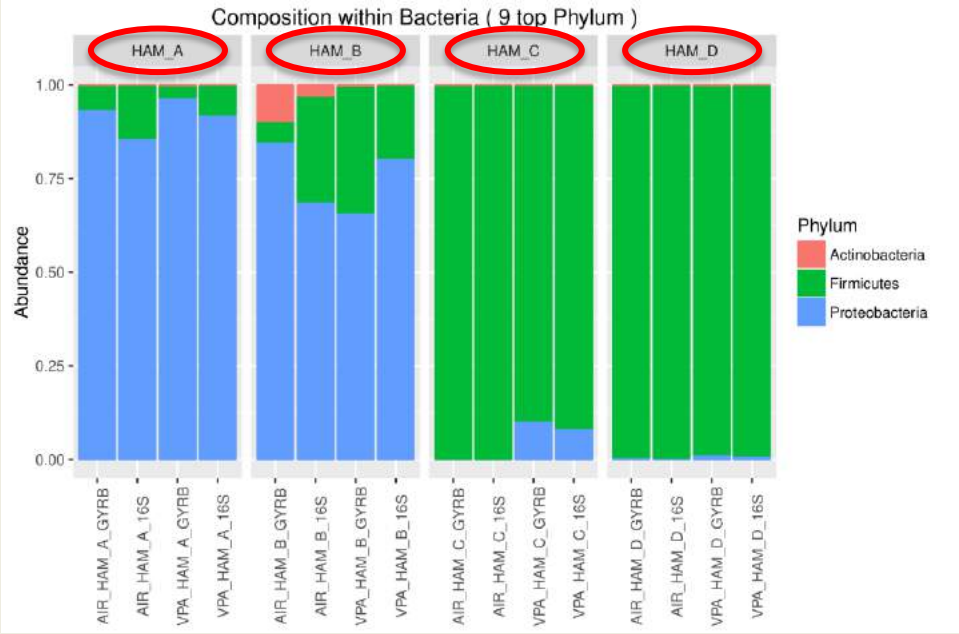
  (Poirier et al, 2018. PloS One. 13(9): e0204629)

- Faible influence stockage VPA / AIR



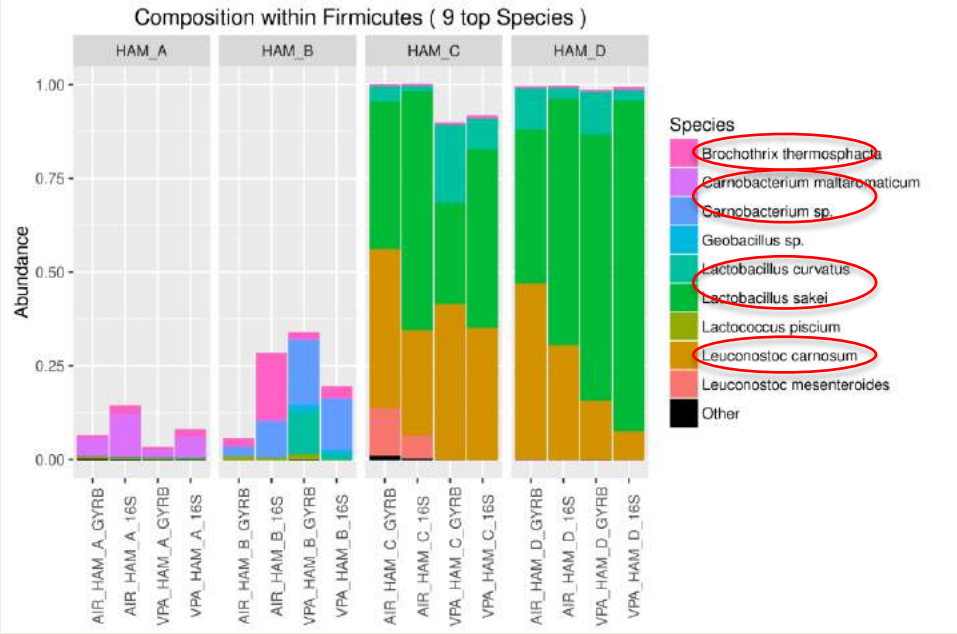
1. Collection et description du microbiote des jambons
Description

- Composition au niveau Phylum
- ≠ entre échantillons
- Firmicutes
- Proteobactéries
- Actinobactéries



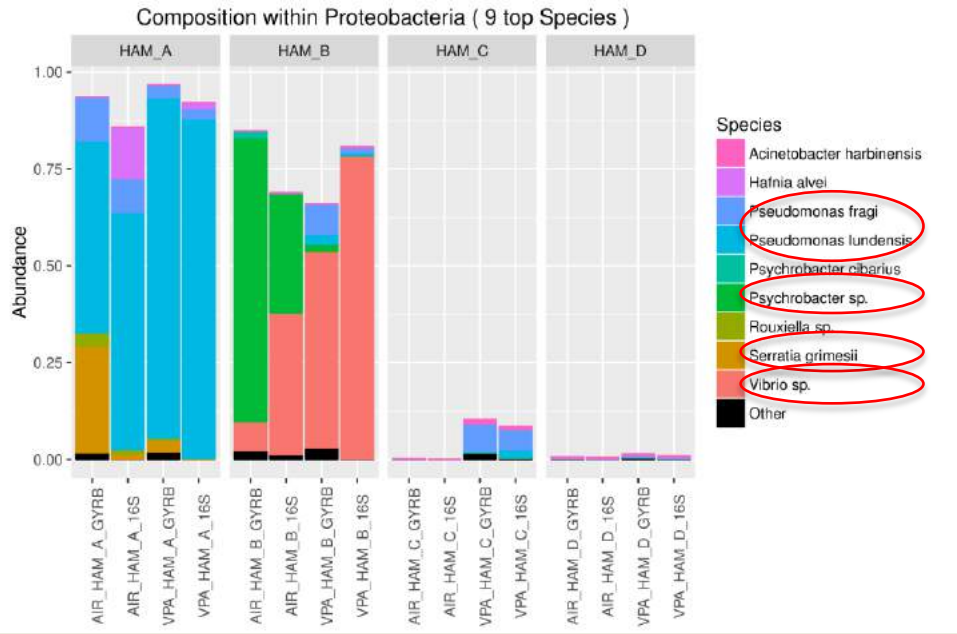
1. Collection et description du microbiote des jambons
Description

- Composition fraction firmicutes
- ≠ entre échantillons
- *Ln. carnosum*
- *Lb. sakei* (*curvatus*)
- *B. thermosphacta*
- *Carnobacterium*



1. Collection et description du microbiote des jambons
Description

- Composition fraction proteobactéries
- ≠ entre échantillons
- *Ps. lundensis* (*fragi*)
- *Psychrobacter*
- *Ser. grimesii*
- *Vibrio sp.* dans jambon B



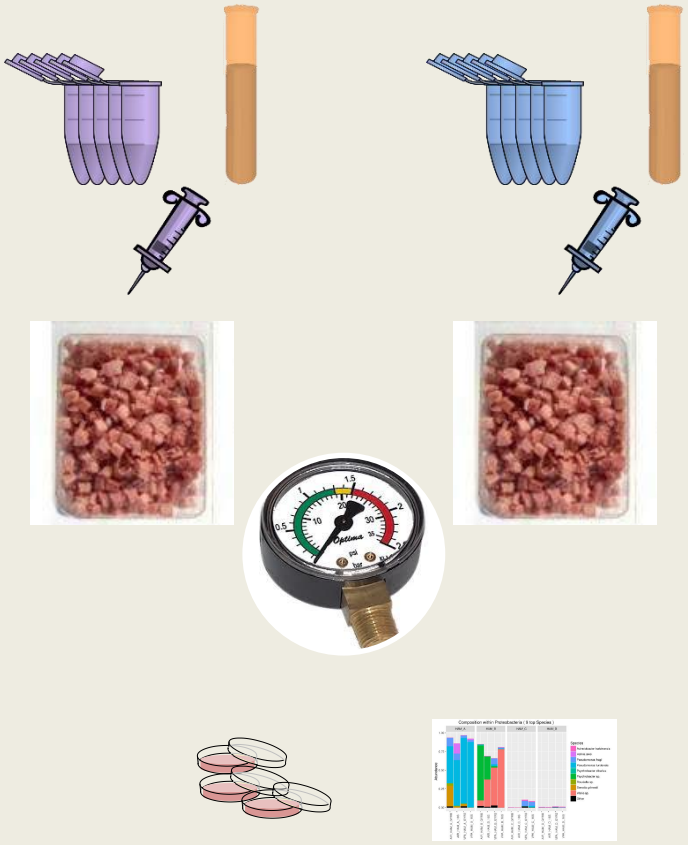
1. Sélection d’une souche pour la biopréservation
2. Collection et description du microbiote des jambons
3. Écosystèmes microbiens, biopréservation et HP

3. Challenge tests
Design expérimental

- Dés de jambons (1/2 dose nitrite)
- Inoculation des microbiotes A ou B
- ± Inoculation *L. lactis*
- ± HP (500 MPa, 5 min) = D_0
- Stockage 8°C
- Suivi D_1, D_5, D_{12}, D_{30}
- Dénombrements, amplicon sequencing

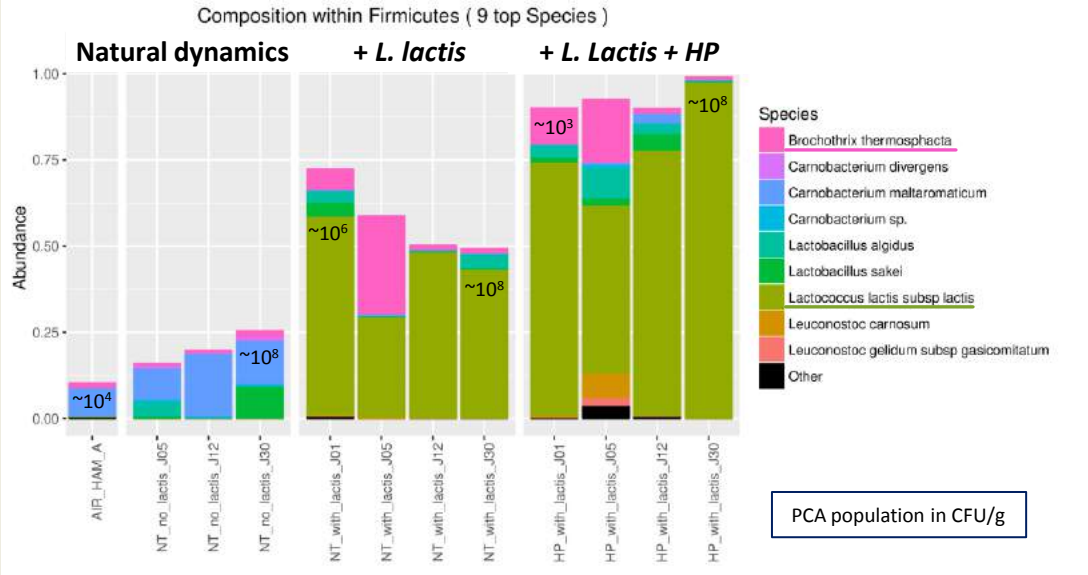
➢ Effet de la biopréservation

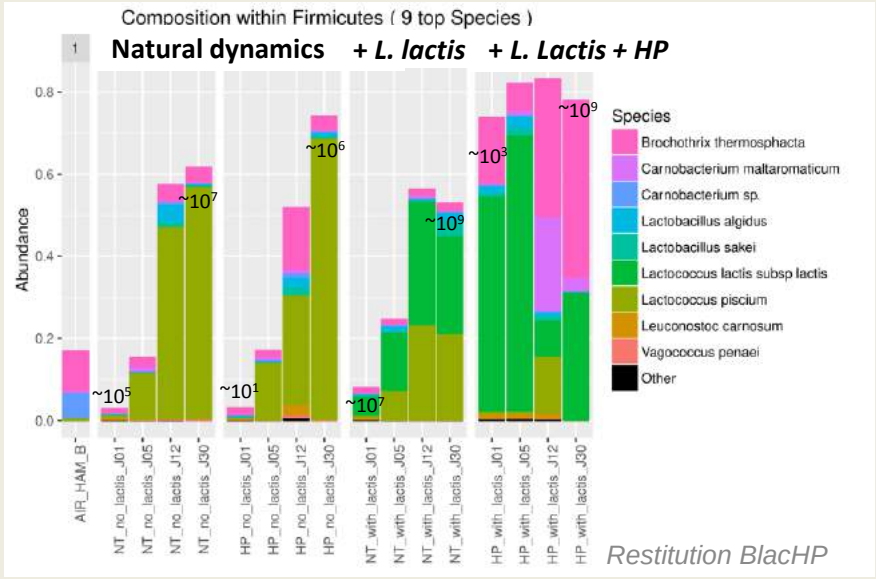
➢ Effect de la biopréservation + HP



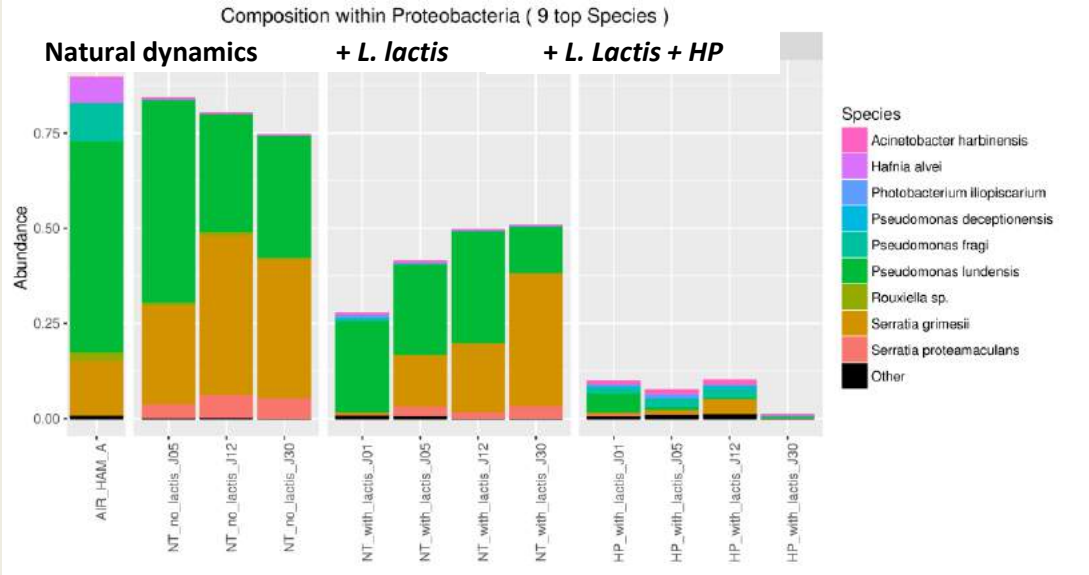
- Pour les 2 microbiotes
  - Δ 3-4 logs après HP
- Microbiote A (firmicutes)
- *L. lactis* compétiteur de
  - *Carnobacterium*
  - *L. sakei*
- *Mais pas B. thermosphacta*
- Stabilisation par HP + *L. lactis*

- Microbiote B (firmicutes)
- *L. lactis* compétiteur de
  - *L. piscium*
- HP + *L. lactis* ne stabilisent pas *B. thermosphacta*

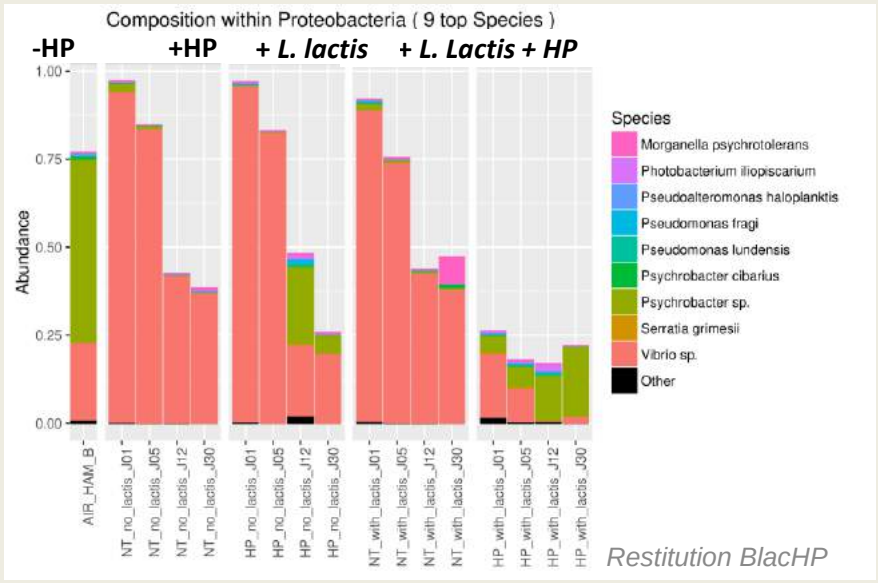




- Microbiote A (proteobactéries)
- *L. lactis* compétiteur de
  - *Pseudomonas*
  - *Serratia*
- Stabilisation par HP + *L. lactis*



- Microbiote B (proteobactéries)
- *L. lactis compétiteur de*
  - *Psychrobacter*
- Stabilisation par HP + *L. lactis* en particulier pour *Vibrio* sp.



Conclusion

- Sélection d'une culture protectrice
  - Effet antagoniste contre bactéries capables de sporuler
  - Capable de recroître après HP
  - Capable de recouvrir contamination naturelle ± HP
- Microbiote du jambon
  - Peu diversifié mais différences entre lots
  - Peut héberger espèces inconnues
- Combination HP et biopréservation
  - Stabilisation des jambons
  - Diminution de l'abondance relative de proteobactéries et firmicutes
  - Mais dépend de la nature des contaminants initiaux

Merci de votre attention !

Merci à :

Secalim
M. Ramaroson, V. Anthoine, S. Guillou, N. Moriceau, S. Rezé, A. Rossero
Sélection souche protectrice, récolte stockage des microbiotes, challenge tests

Micalis
G. Coeuret, M.C. Champomier-Vergès
Préparation ADN et analyse des données séquençage microbiotes

CTCPA
F. Duranton
Test HP sur souches protectrices candidates

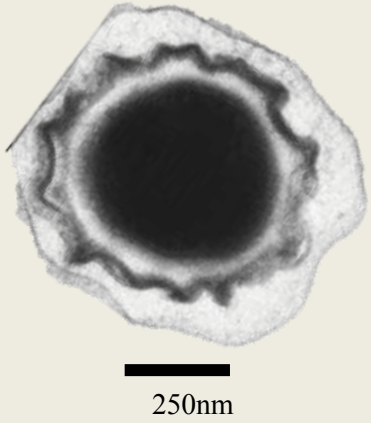
IFIP
J.L. Martin
Préparation jambons pour challenge-tests et culture souche protectrice

CH Hansen
V. Zuliani
Aide tests antibiorésistance

Les bactéries sporulées à l'épreuve des hautes pressions et de la biopréservation

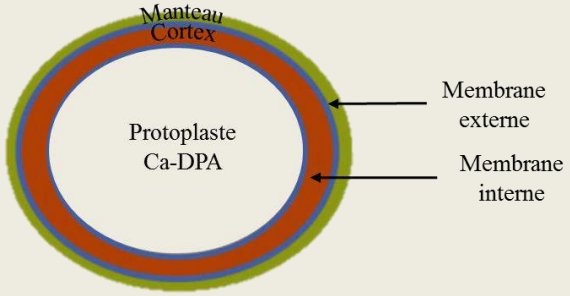
H. Simonin (helene.simonin@agrosupdijon.fr)
C. Modugno
J-M Perrier-Cornet

Les spores bactériennes



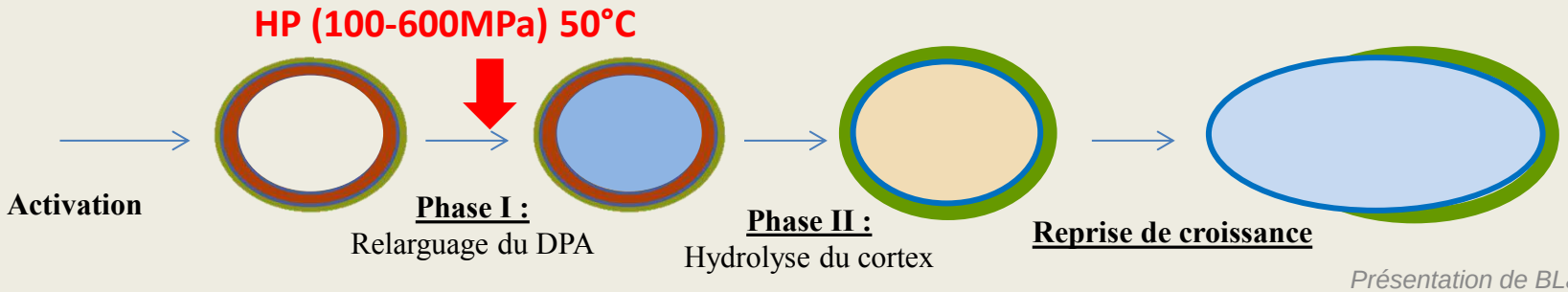
Principaux facteurs de résistance:

- Structure multi-couche
- Ca-DPA
- Faible teneur en eau du protoplasme
- SASP's



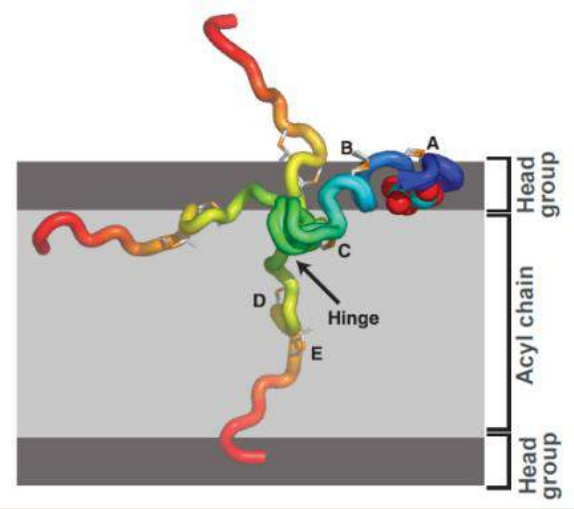
- Effet des HP sur les spores
  - HP seules: Pas d'inactivation
  - HP + T <50°C: Sensibilisation thermique

Processus de germination

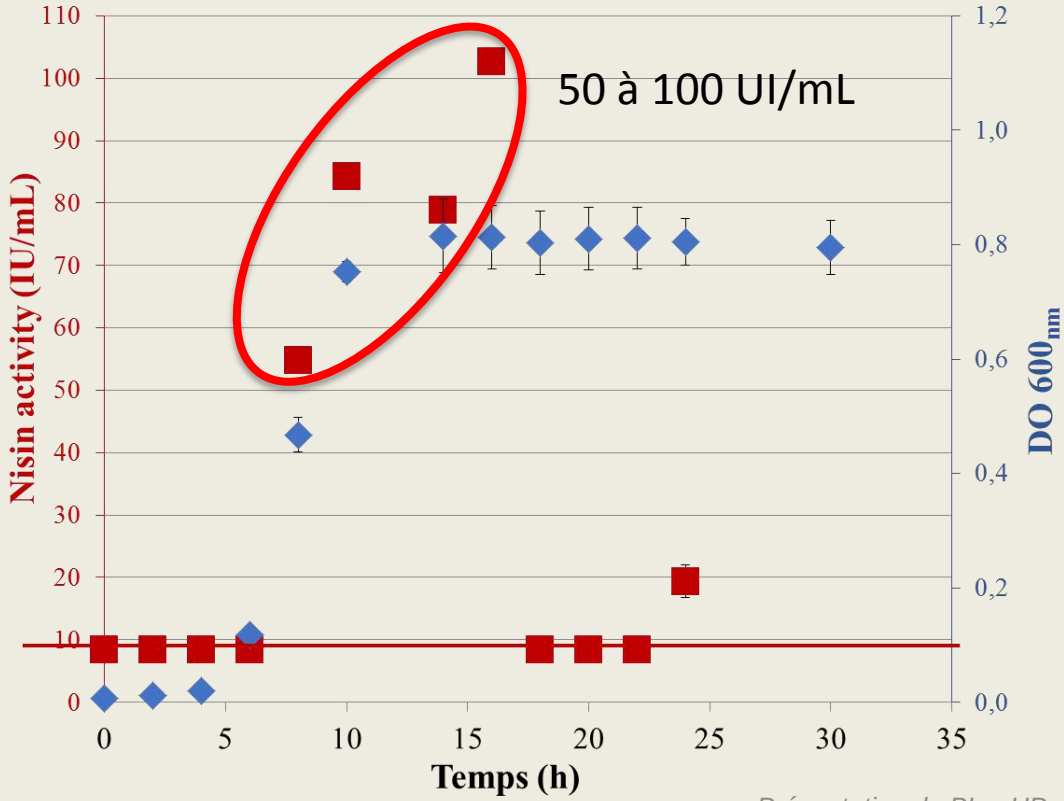


Synergie possible entre HP et biopréservation

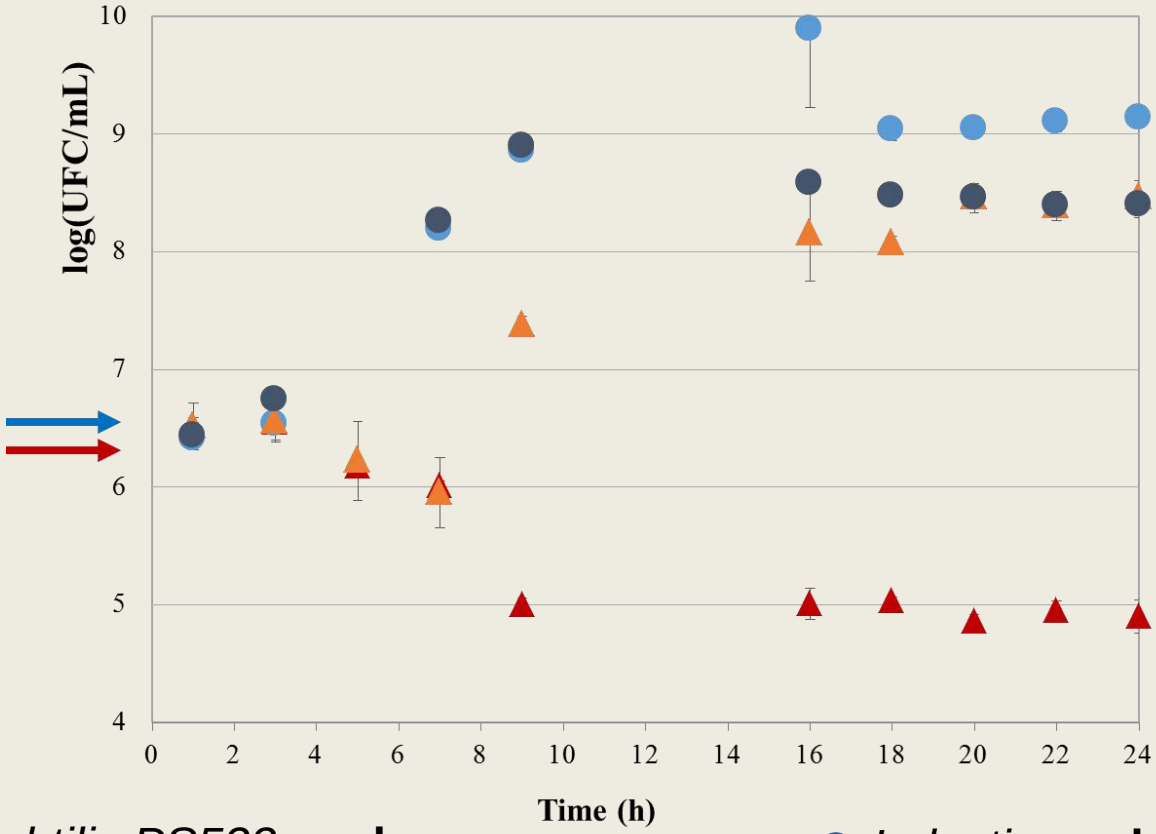
- *Lactococcus lactis*
  - Producteur de nisine: Peptide antimicrobien de type Lanthibiotique



Association avec le lipide II et formation de pores



Co-culture avec des spores de *Bacillus subtilis* en milieu synthétique« jambon »



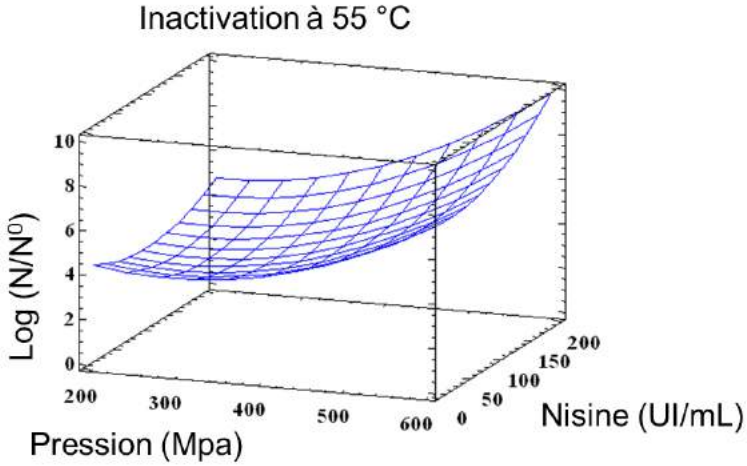
▲ *B. subtilis PS533* **seule**

▲ *B. subtilis* PS533 en **co-culture**

● *L. lactis* **seule**

● *L. lactis* **en co-culture**

Objectifs des travaux



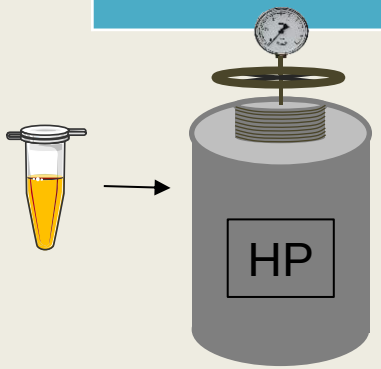
Synergie HP et nisine pour l'inactivation des spores de *Bacillus sporothermodurans*

- Une synergie est-elle possible entre HP et nisine sans traitement thermique?
- Quels sont les mécanismes sous-jacents?
- Quand faut-il que la nisine soit présente? Et à quelle concentration?

Matériel biologique et méthodes

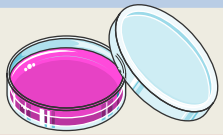
Espèce	T (°C)	D_T ou δ_T	Origine
Clostridium botulinum type E like	75	3,0 min	Aliments réfrigérés faiblement acides
Bacillus weihenstephanensis KBAB4	95	12,6 min	Aliments réfrigérés faiblement acides
Bacillus subtilis 168	98 105	18 min 1,4 min	Différents aliments
Bacillus pumilus	104	0,15 à 1,9 min	Produits végétaux
Bacillus licheniformis	100	20 à 103 min	Lait cru ou lait UHT
Bacillus sporothermodurans	120 140	2,25 min 3,4 à 7,9s	Lait UHT

→ Thermorésistance



500 MPa; 10 min;
20 °C ou 50 °C +
nisine 20-50 UI/mL

Dénombrement

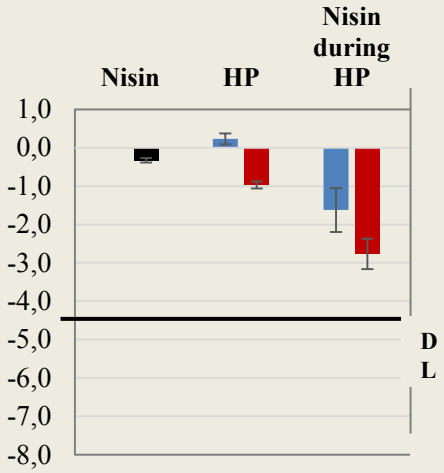


Dénombrement sur milieu additionné de nisine

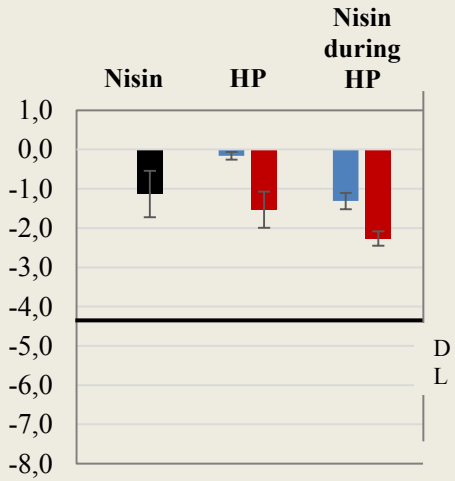
Nisine présente uniquement pendant le traitement (20 à 50UI/mL)

Nisine présente pendant et après le traitement (20 à 50UI/mL)

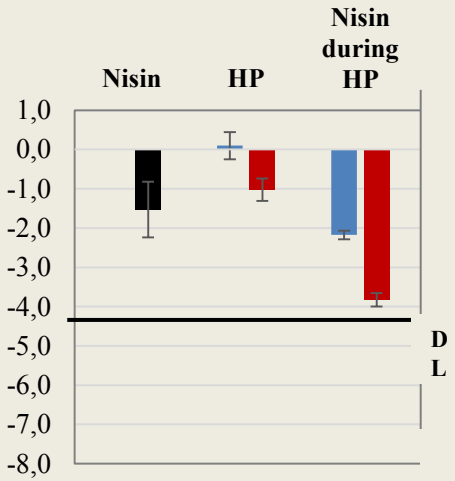
Résultats



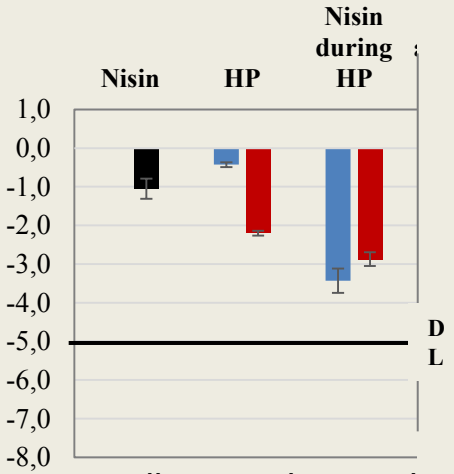
B. licheniformis



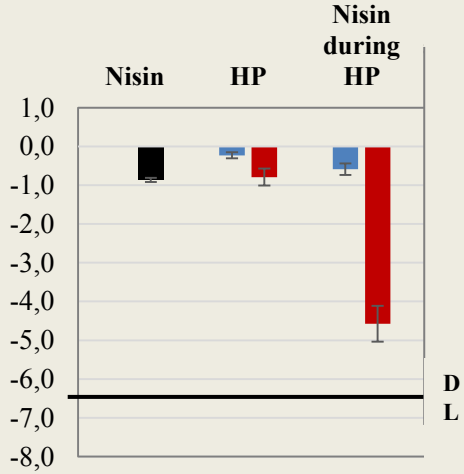
B. sporothermodurans



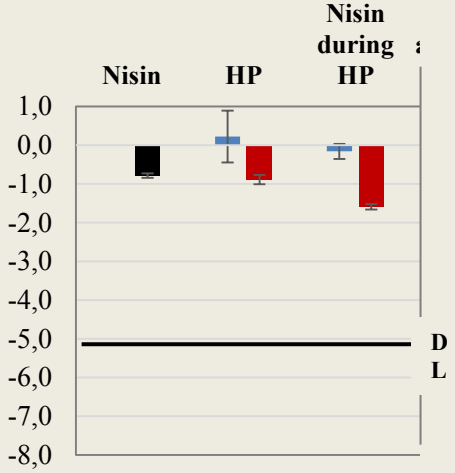
B. pumilus



B. weihenstephanensis



B. subtilis



C. botulinum like

Traitement HP à 20 °C

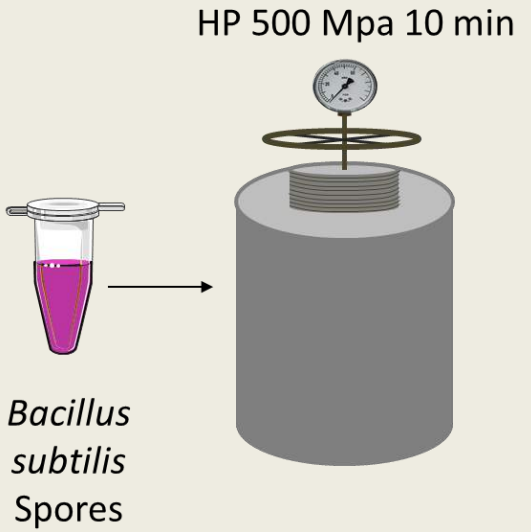
Traitement HP à50 °C

Résultats

- La nisine agit en synergie avec les HP sur toutes les espèces de *Bacillus* étudiées
  - À faible concentration : 50 UI/mL
  - L'action a lieu surtout après le traitement
  - L'inhibition peut être efficace sans traitement thermique
- Pas de synergie mesurée pour l'espèce de *Clostridium* étudiée mais une plus grande sensibilité à la nisine seule

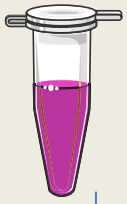
➢ Quels sont les mécanismes sous-jacents?

Est-ce leur germination qui sensibilisent les spores à la nisine?



- Après un traitement HP à 20°C, les spores sont sensibles à la nisine sans être germées
- Cette sensibilisation est réversible quelques heures après le traitement

Quelle est la nature des modifications réversibles et irréversibles engendrées par les HP?

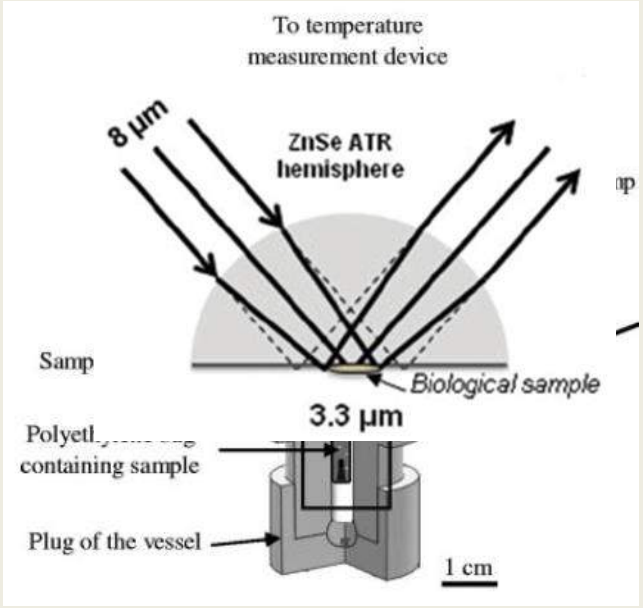


Bacillus subtilis

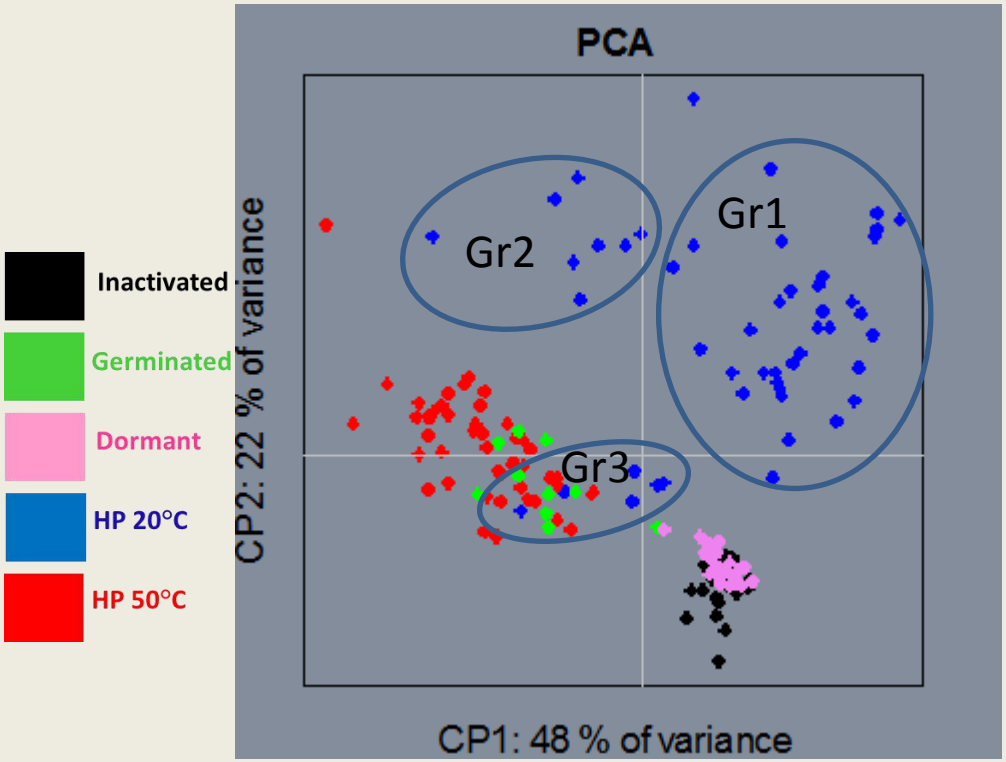
spores dormantes

inactivées | **germées** | **HP 20°C** | **HP 50°C**

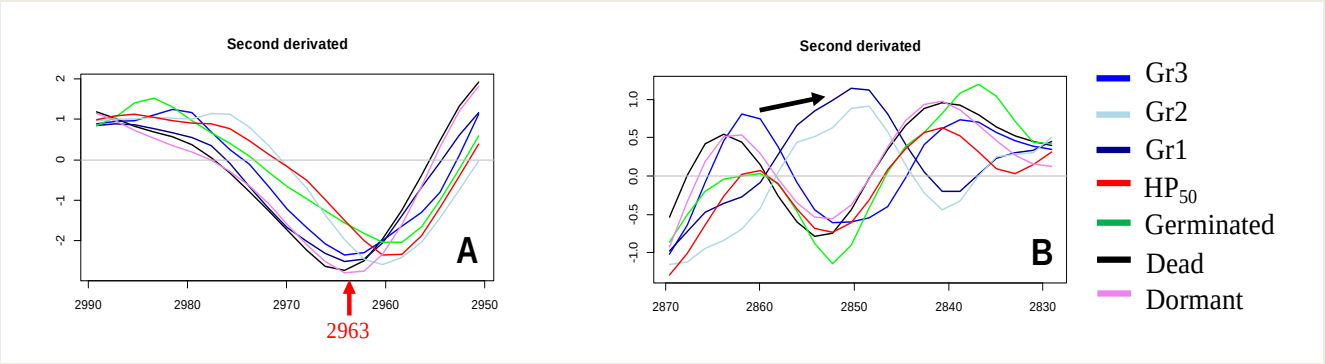
SOLEIL SYNCHROTRON



ACP des spectres IR dans le domaine lipidique



- Spores dormantes = spores inactivées
- HP50°C = germées
- HP 20°C = 3 sous-groupes

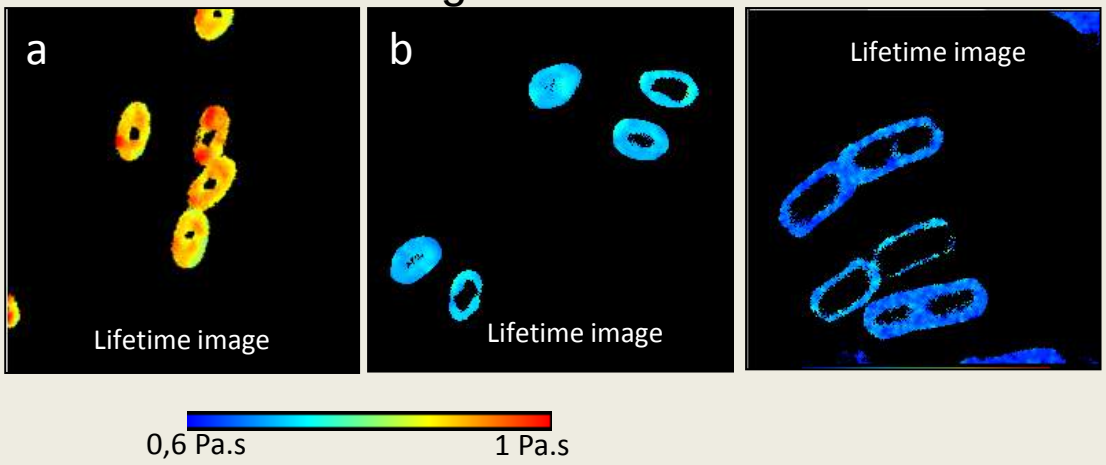


- Gr1 et Gr2: Shift des vibrations CH_2
- Membrane interne plus fluide?

Conclusion

- La membrane interne des spores: une cible potentielle

Evolution de la viscosité de la membrane interne au cours de la germination

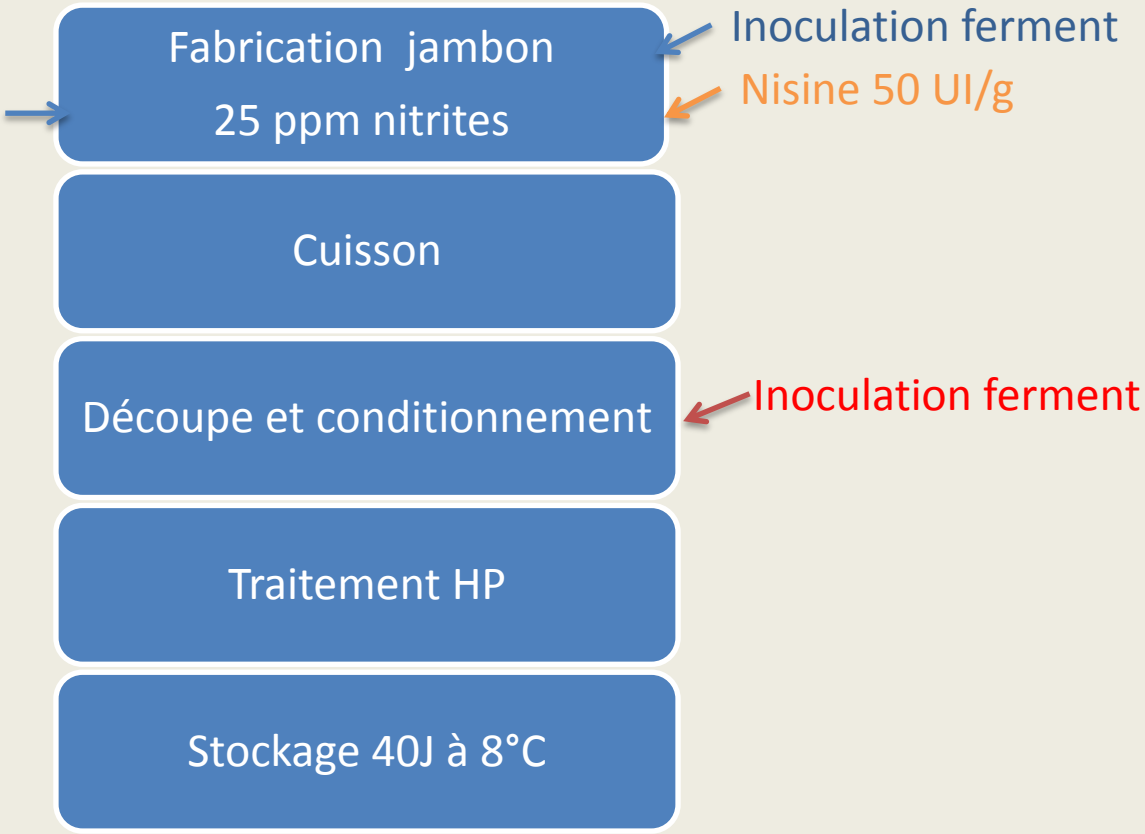


Support des récepteurs de germination
Support des canaux DPA
Cible d'antimicrobiens tels que la nisine

- La combinaison HP et biopréservation pour inactiver les spores bactériennes: un vrai potentiel

Tests sur jambon

Inoculation spores aérobies *(B. Weihenstephanensis, B. cereus , Paenibacillus)* et anaérobies *(C. frigidicarnis, C. algidica*rnis, *C. botulinum* like)



BLac HP

Merci pour votre attention

AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

BLac HP

Conséquences sur la qualité des produits traités

Laurence POTTIER
Anja RAKOTONDRAMAVO
Marie de LAMBALLERIE

Oniris
École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation
Nantes Atlantique

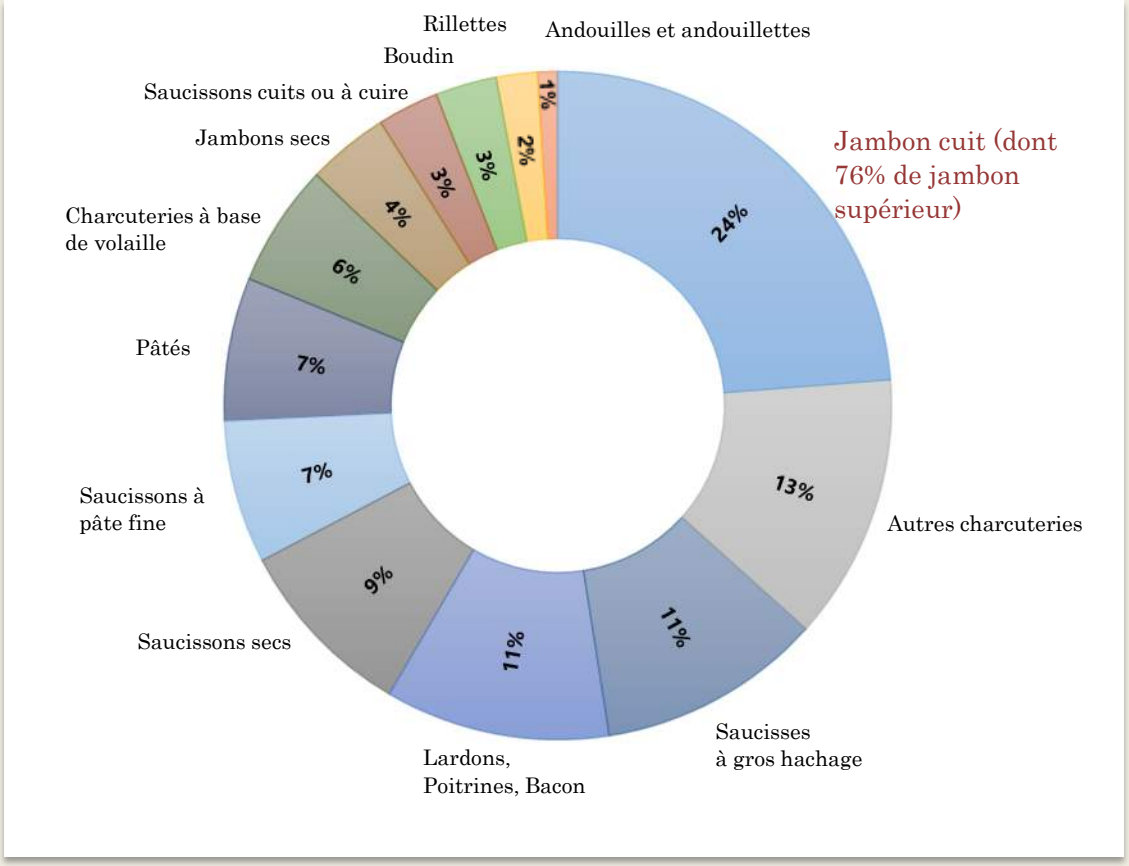
GEPEA
Environnement · Energie
Agroalimentaire · Mer

Produit traité :

Jambon cuit

Praticité d'emploi

Grande consommation



Achat en charcuterie des ménages français en 2017 (en % de volume) - FICT (2017)

Protocole de fabrication du jambon mis au point par l'IFIP et adapté au matériel disponible à Oniris

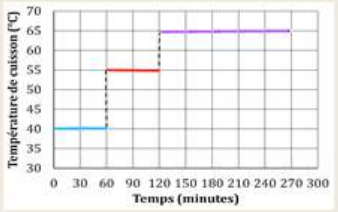
- 1 muscle
- 25 ppm de nitrites (max 80 ppm en bio)

Muscle de porc

Saumurage 10% :
sel 1,76%, lactose 0,22%,
nitrite 25 ppm, saccharose 0,07%

Malaxage (17 h - 7,5 rpm)
Repos : 15 min toutes les 15 min

Moulage / Ensachage



Cuisson (65 °C à coeur)

Refroidissement / Stockage
(20 min à 18 °C puis 3 jours à 4 °C)

Jambon cuit français type "supérieur"

A partir du jambon cuit, 2 possibilités :

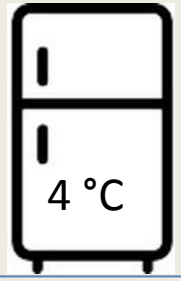
Jambon cuit

Découpe en dés (1 cm x 1 cm)

Emballage sous vide (PA/PE ; 80 mbar)

0,1MPa

Stockage 4 °C, 21 j



Découpe en dés (1 cm x 1 cm)

Ensemencement

Lactococcus lactis

10^6-10^7 UFC.g^{-1}

Emballage sous vide (PA/PE ; 80 mbar)

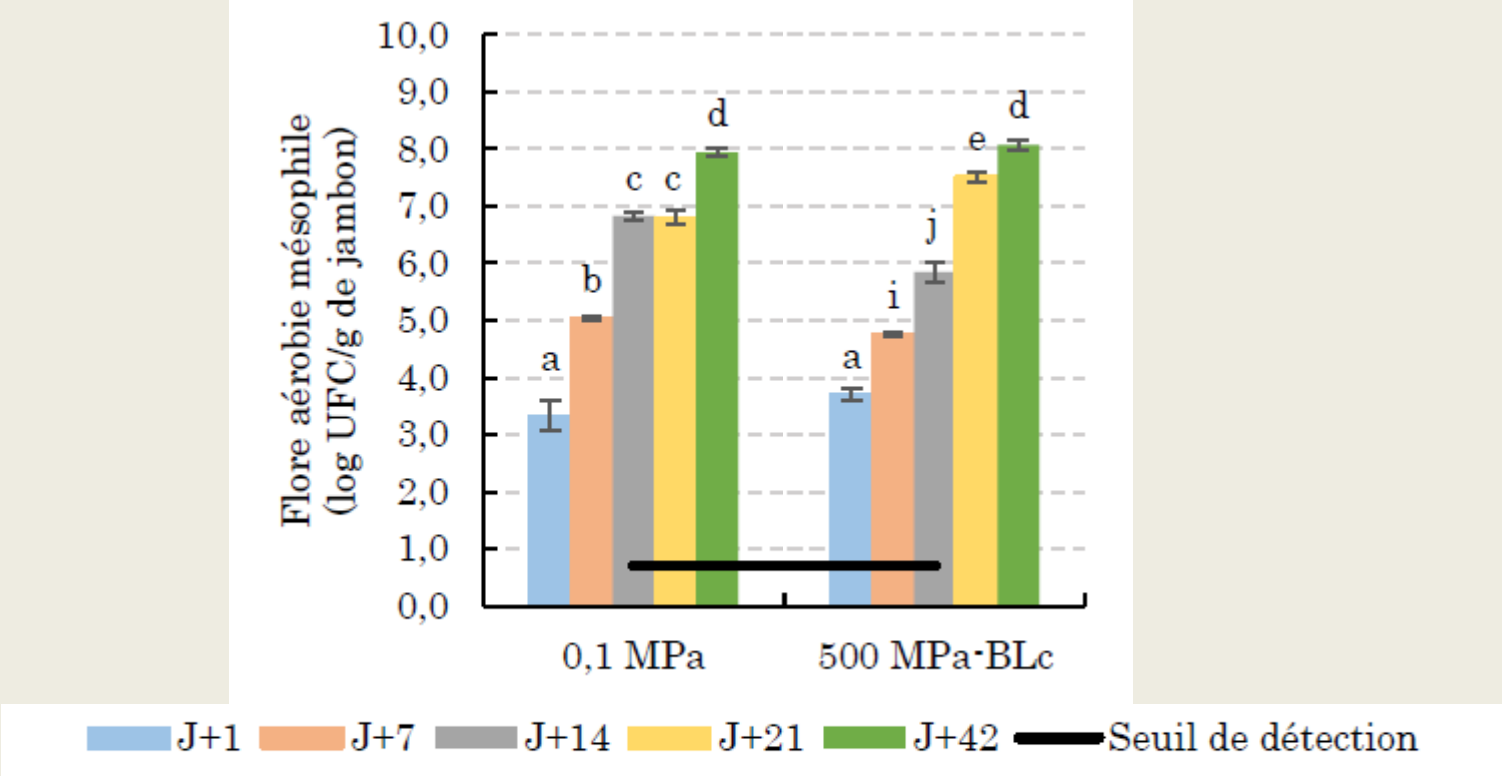
Traitement Hautes Pressions

500 MPa,
5 minutes,
20 °C

Stockage 4 °C, 21 j

500 MPa-BLc

Acceptabilité microbiologique



Identification dans les échantillons 500 MPa-BLc :

- J1, J15 : 100% *L. lactis*
- J30 : 67% *L. lactis*, 33% *Carnobacterium sp*

Propriétés:

- Technologiques
  - Rendement
  - Capacité de Rétention d'Eau
  - Exsudation
- Organoleptiques
  - Couleur
  - Texture
  - Oxydation des lipides
- Nutritionnelles
  - Oxydation des protéines
  - Digestibilité *in vitro*

Propriétés:

Technologiques
- **Rendement**
- **Capacité de Rétention d'Eau**
- Exsudation

Pas d'effet du traitement combiné

Organoleptiques
- **Couleur**
- **Texture**
- Oxydation des lipides

Nutritionnelles
- Oxydation des protéines
- Digestibilité *in vitro*

Propriétés:

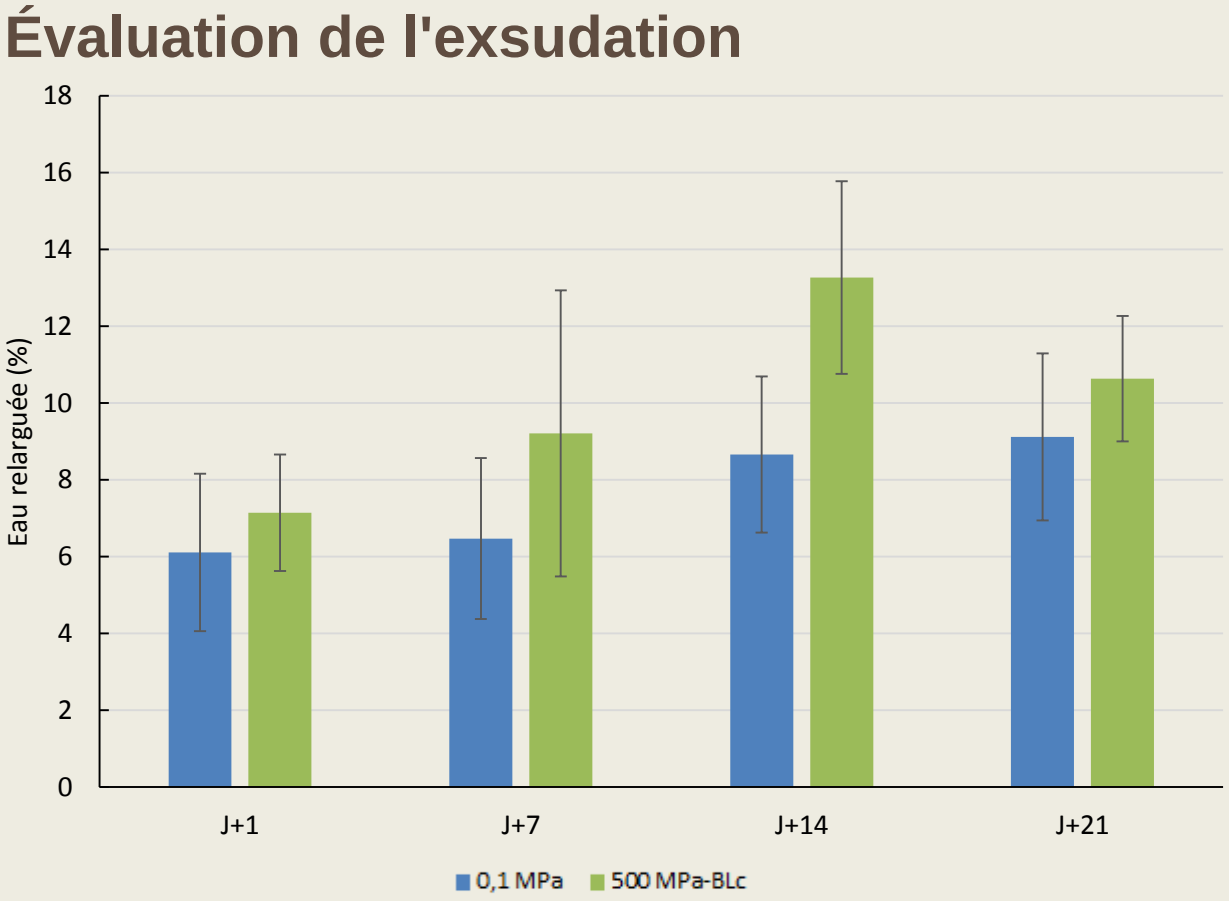
Technologiques
- Rendement
- Capacité de Rétention d'Eau
- **Exsudation**

Organoleptiques
- Couleur
- Texture
- **Oxydation des lipides**

Nutritionnelles
- **Oxydation des protéines**
- **Digestibilité in vitro**

Effet du traitement combiné

Par pesée

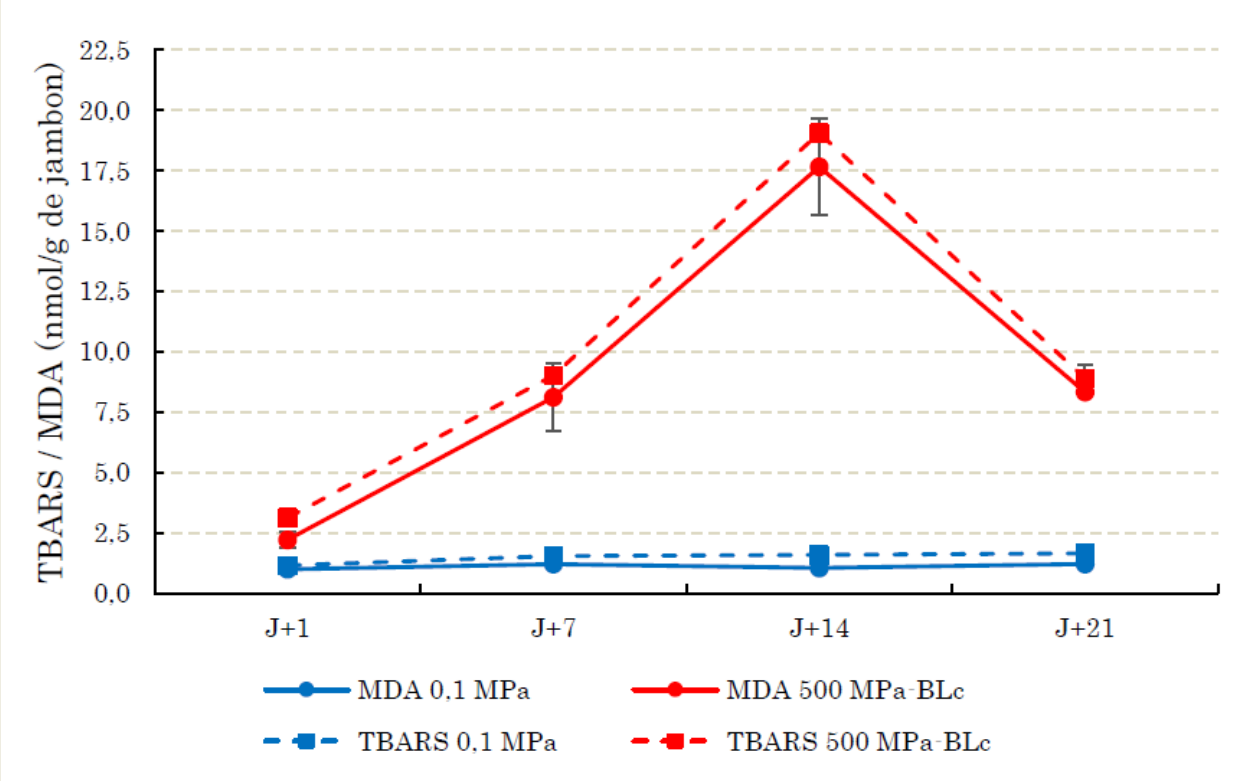


Au cours de stockage, l'exsudation tend à augmenter.
Pour le témoin, cette augmentation n'est pas significative jusqu'à J+21.
Avec le traitement combiné, la quantité d'eau relarguée augmente de 32 % entre J+1 et J+21.

Évaluation de l'oxydation des lipides par dosage du MDA et des TBARS

Réaction avec le TBA
-TBARS : dosage spectrophotométrique à 532 nm
- MDA : par HPLC

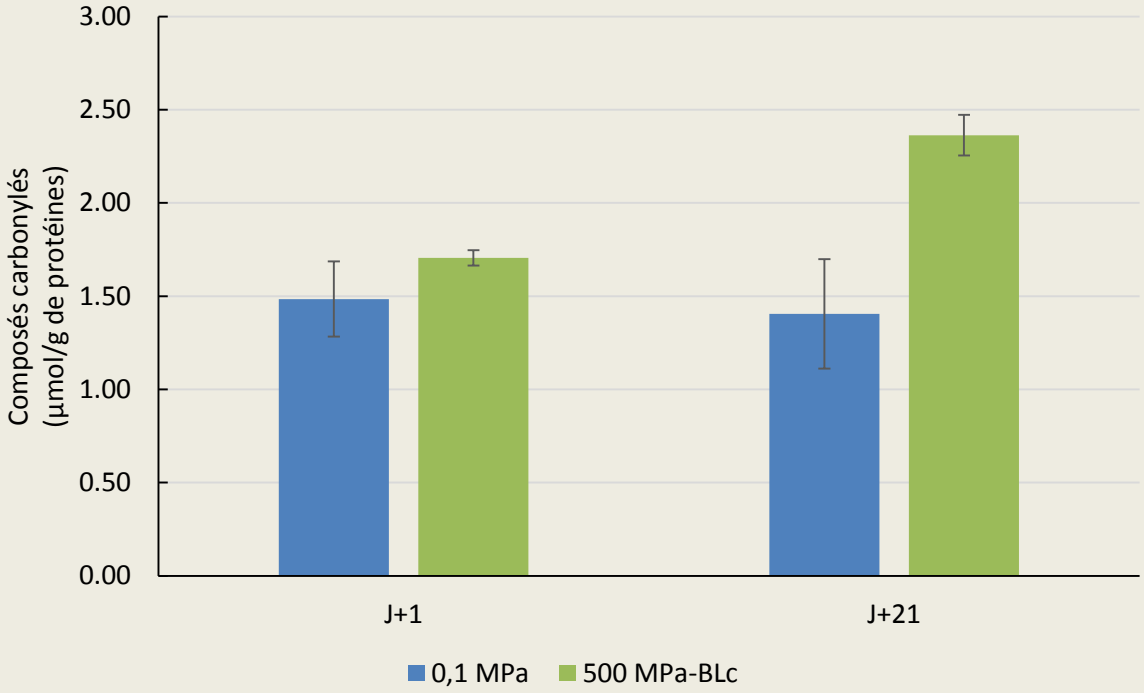
MDA : Aldéhyde le plus abondant généré par l'oxydation



Pour le témoin, pas d'oxydation au cours des 21 jours de stockage
Avec le traitement combiné, augmentation significative de l'oxydation lipidique. La diminution observée entre J+14 et J+21 suggère que le MDA est impliqué dans d'autres réactions telles que l'oxydation des protéines.

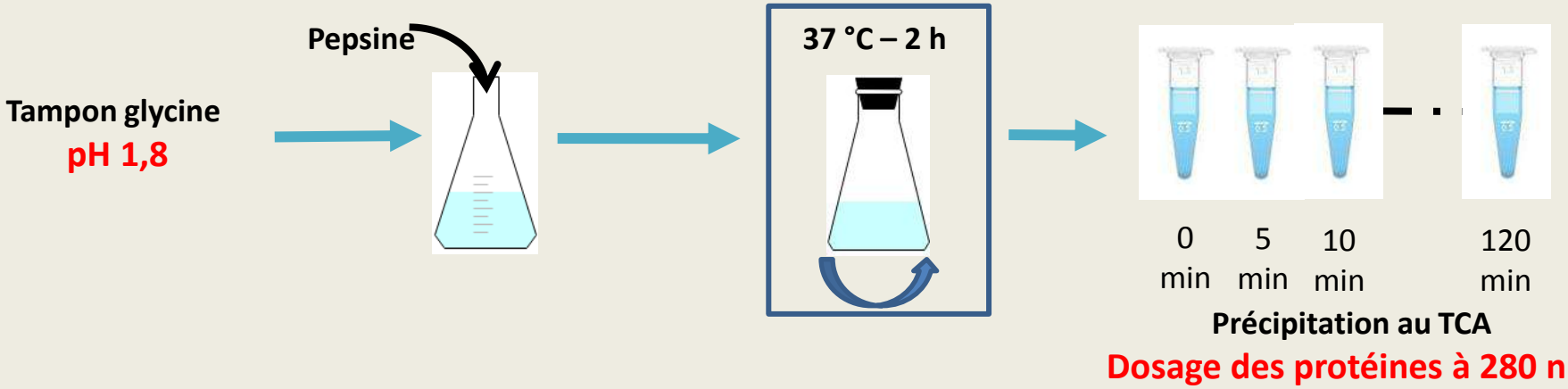
Évaluation de l'oxydation des protéines par dosage des composés carbonylés

Réaction avec 2,4-DNPH
Dosage spectrophotométrique
à 370 nm

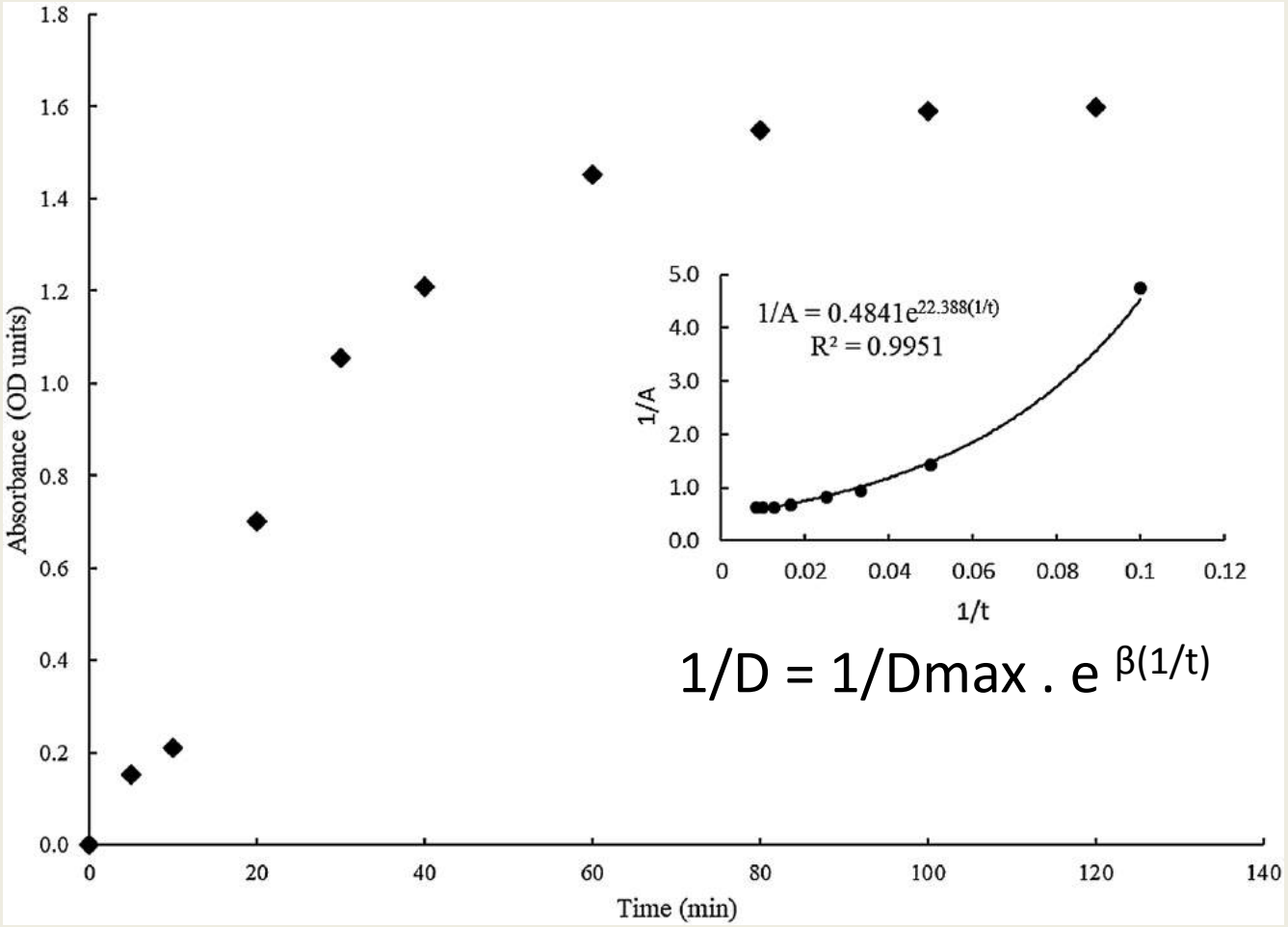


Pour le témoin, pas d'oxydation au cours des 21 jours de stockage
Avec le traitement combiné, augmentation significative de l'oxydation des protéines entre J+1 et J+21. Cela suggère que, au cours du stockage, il y a protéolyse et donc les protéines sont plus sensibles aux pro oxydants.

Évaluation de la digestibilité *in vitro (1/3)*



Évaluation de la digestibilité *in vitro (2/3)*



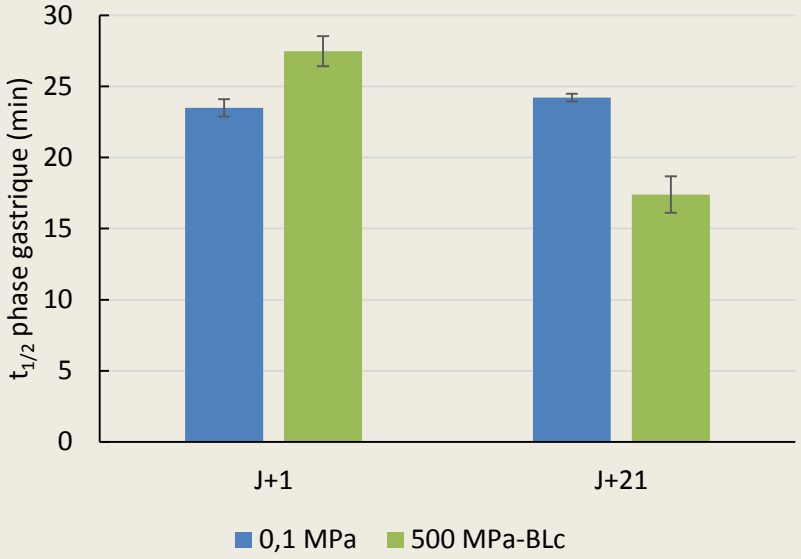
$$1/D = 1/Dmax \cdot e^{\beta(1/t)}$$

→ D_{max} : Digestion maximale

→ $t_{1/2}$: Temps de demi-vie

Rakotondramavo *et al.* (2018)

Évaluation de la digestibilité *in vitro (3/3)*



Ni le traitement, ni le temps de stockage ne modifient la digestibilité maximale.
Par contre les vitesses sont modifiées :

- À J+1, elle est ralentie
- À J+21, elle est augmentée. Ceci peut être liée à l'activité protéolytique des bactéries lactiques.

Conclusion

- Reprise de croissance de *L. lactis* après le traitement HP
- Effet modéré du traitement combiné sur les propriétés technologiques
- Faibles modifications de l'oxydation des lipides et des protéines
- Vitesse de digestion augmentée au cours du stockage après le traitement combiné
- Traitement combiné : maintien de la qualité du produit en maitrisant sa qualité microbiologique

- … et sur l'impact environnemental ?

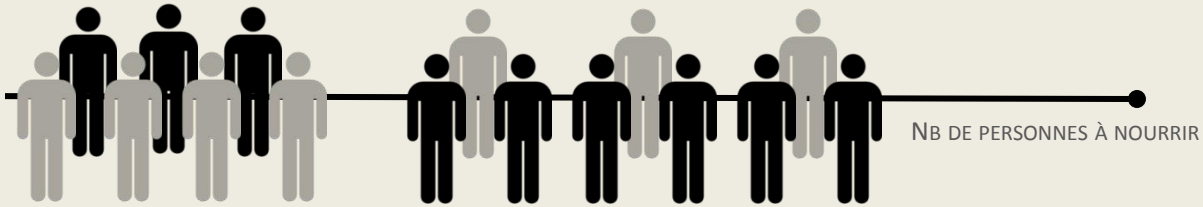
Conséquences sur l'impact environnemental

Vanessa Jury, Gaëlle Petit, Marie de Lamballerie

20 novembre 2018

Développement durable et industrie agroalimentaire: enjeux

Population croissante



7 MILLIARDS
2012

9 MILLIARDS
2050

+ 1 MILLIARD

+200 MILLIONS

DÉVELOPPEMENT DURABLE

Respectueux de l'environnement
Viabilité économique
Socialement acceptable

INDUSTRIE AGROALIMENTAIRE

Moins d'énergie
Moins de déchets
Aliments avec une durée de vie prolongée

➡ **Eco-conception des procédés**

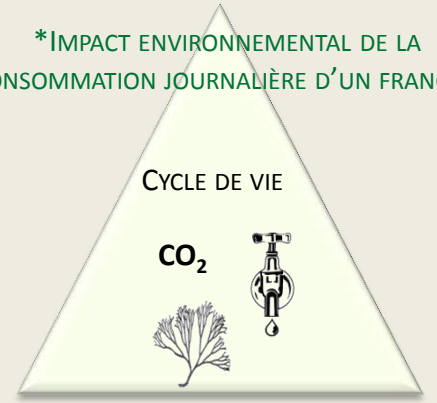
AFFICHAGE ENVIRONNEMENTAL

GRENELLE ENVIRONNEMENT ENGAGEMENTS

EXPÉRIMENTATION NATIONALE SUR DES PRODUITS ALIMENTAIRES

2,6%* pour 100 g
indice environnemental

*IMPACT ENVIRONNEMENTAL DE LA CONSOMMATION JOURNALIÈRE D'UN FRANÇAIS



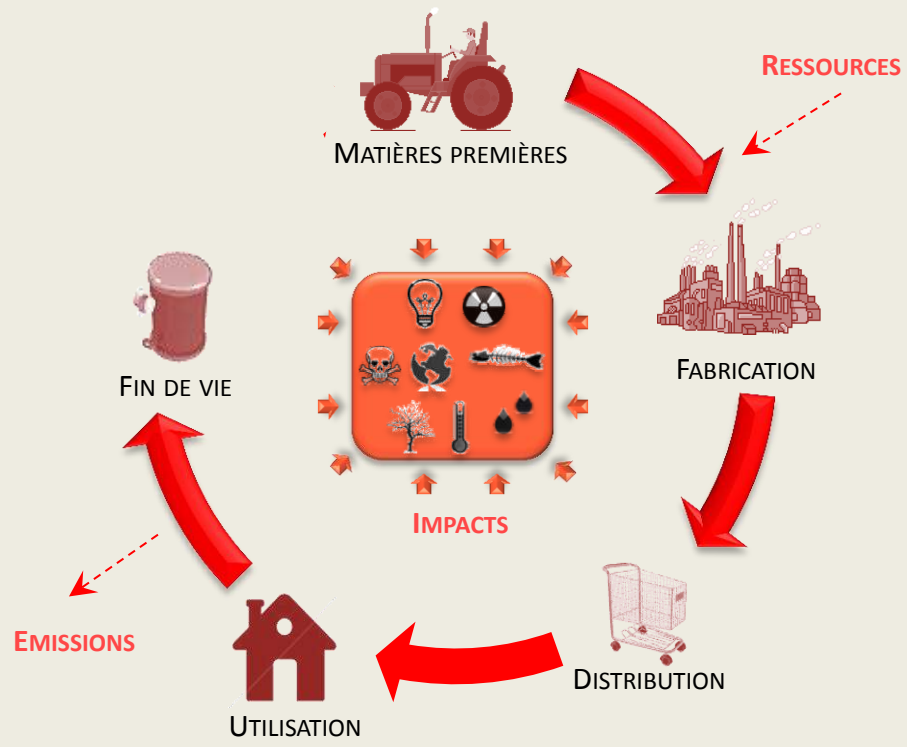
Impact environnemental dans BLac HP

Objectifs:

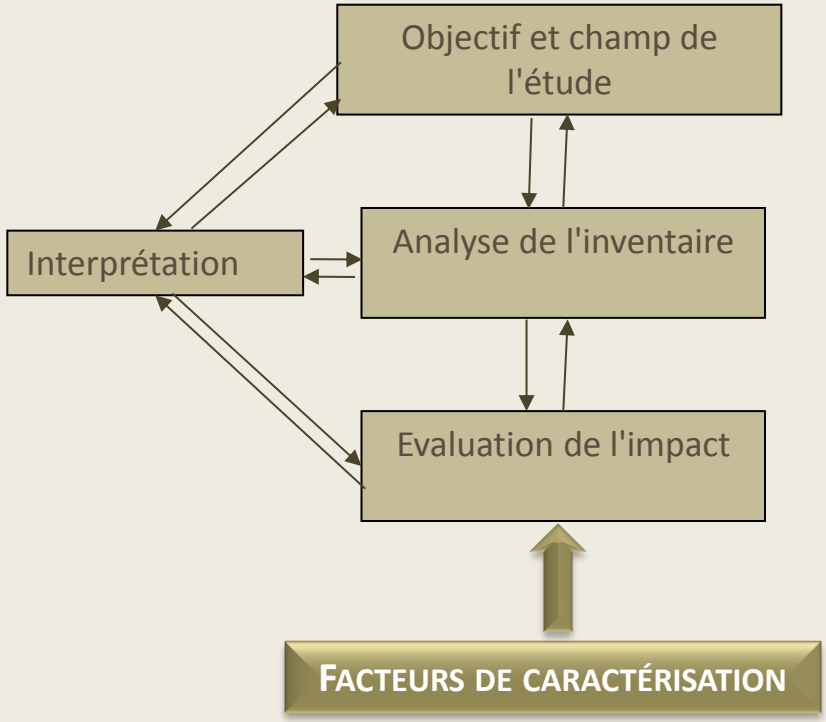
- Développer une méthodologie afin d'étudier l'impact environnemental de l'utilisation des HP combinées à la bio préservation pour la production de jambon
- Etablir des protocoles d'Analyse de Cycle de Vie pour la comparaison des différents procédés
- Développer des facteurs de caractérisation d'indicateurs d'impact pour prendre en compte la qualité du produit
- Réaliser l'ACV d'un procédé de référence et comparer les résultats à l'ACV des procédés combinés innovants développés.

Impact environnemental des procédés: Analyse du Cycle de Vie

- Approche globale et multicritère



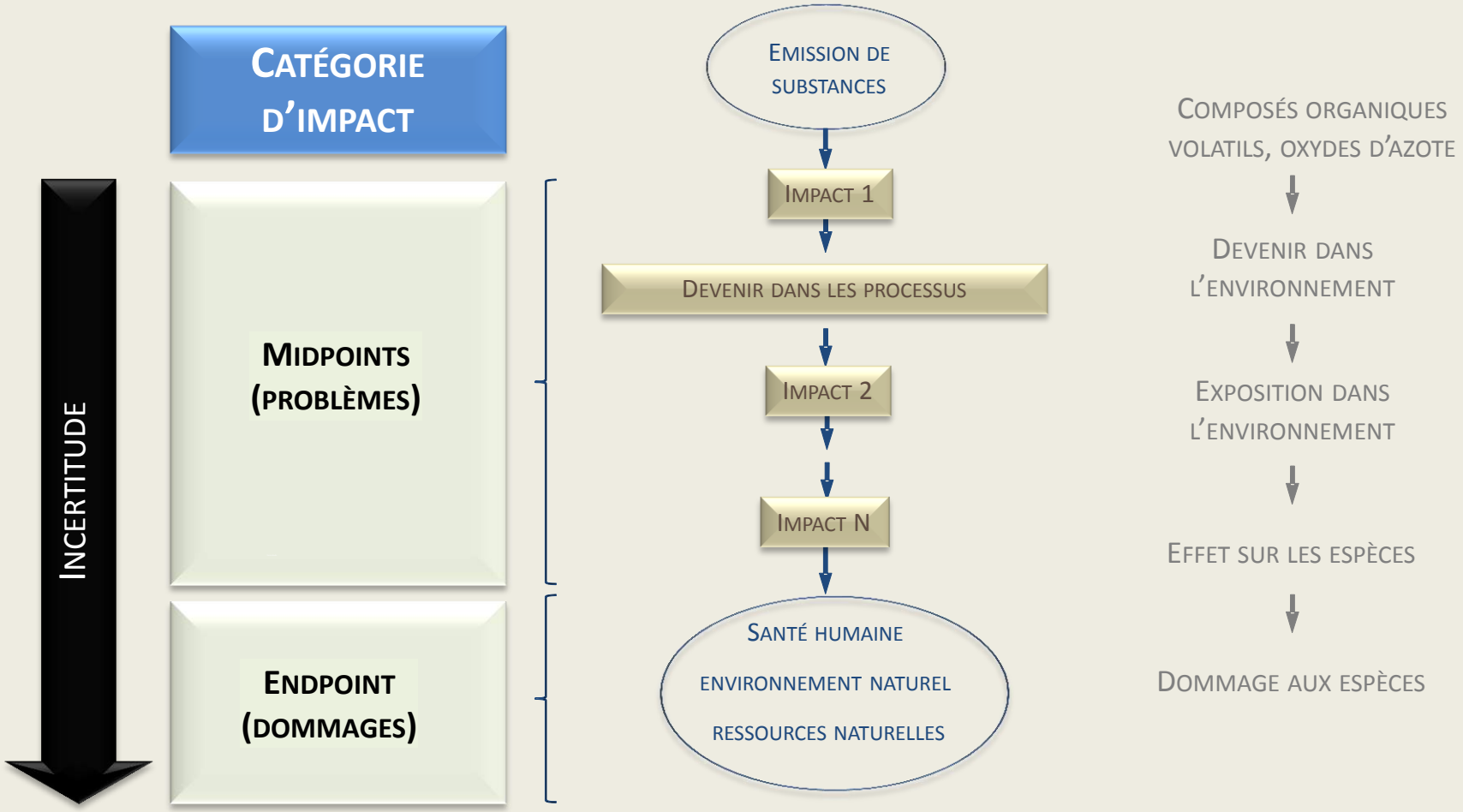
Méthodologie (ISO 14040 – 14044: 2006)



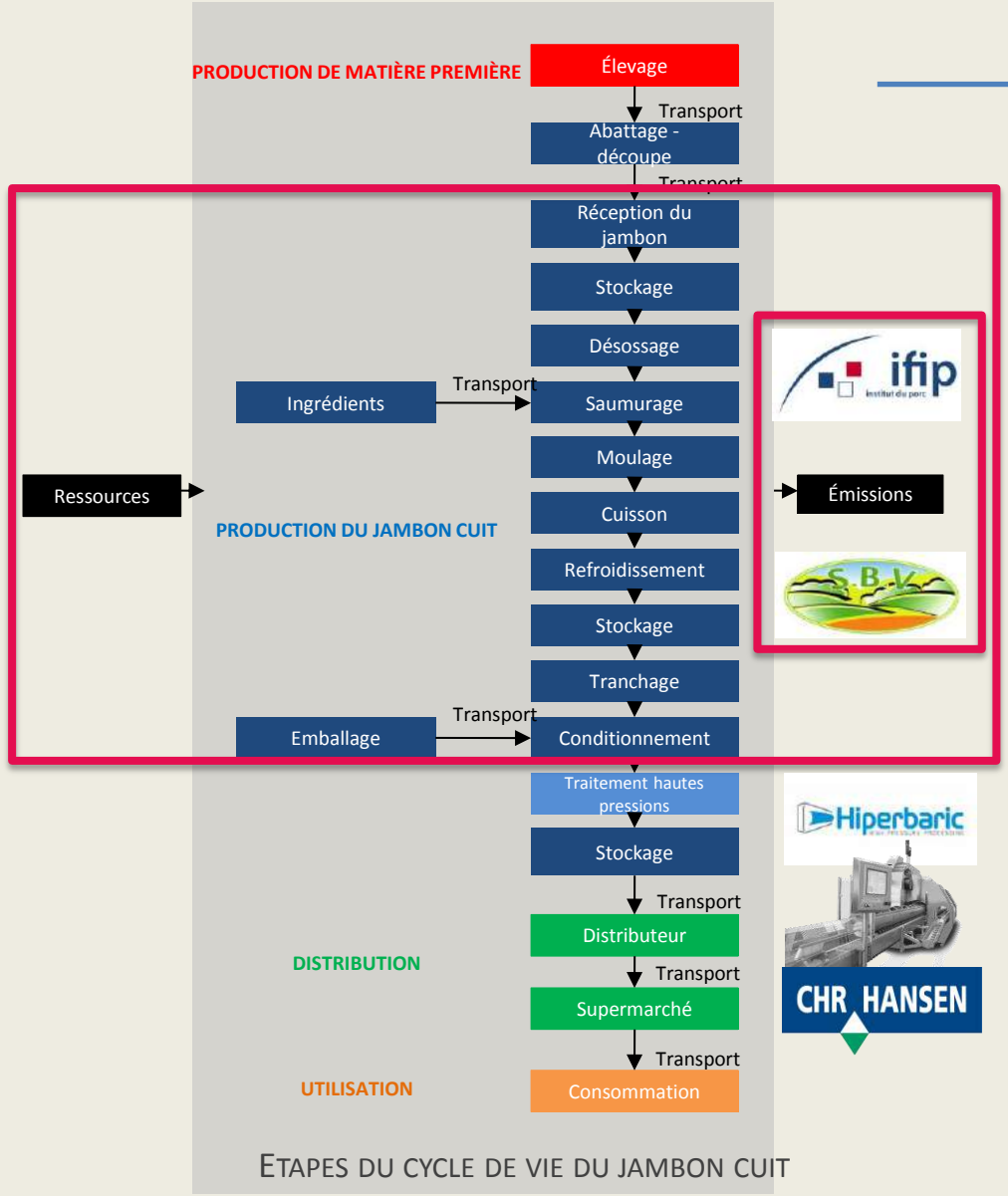
Faciliter la comparaison entre produits et systèmes

Eviter les **transferts de pollution** entre les étapes du cycle de vie et les impacts environnementaux

Evaluation de l'impact: Facteurs de caractérisation



Paramétrage du modèle



ETAPES DU CYCLE DE VIE DU JAMBON CUIT

Objectif : Comparaison 3 scénarii:

- jambon cuit tranché conventionnel
- jambon traité par HP
- jambon traité par biopréservation et HP

Unité Fonctionnelle 1 kg de jambon cuit tranché consommé

Software Simapro 8.02

Bases de données Ecoinvent 3 (CH)

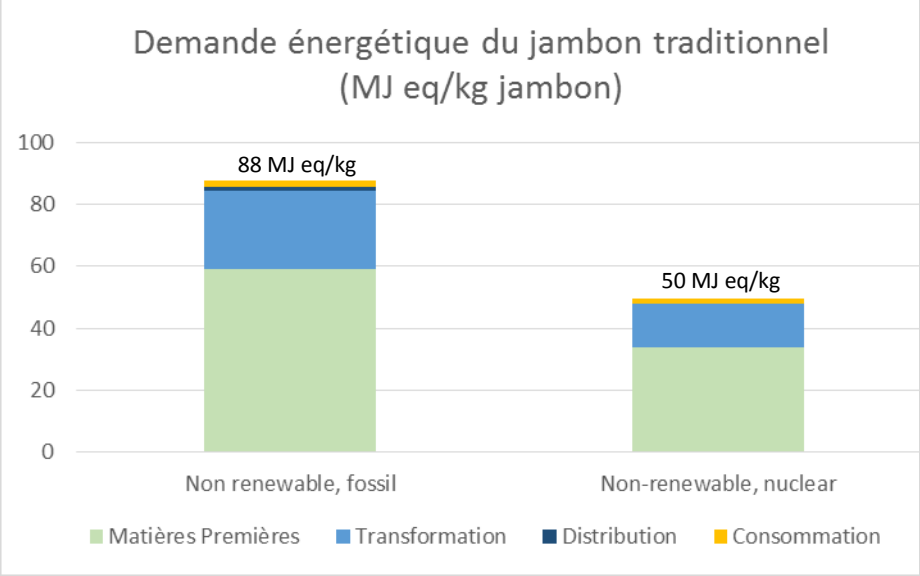
Méthodes de calcul Cumulative energy demand + ReCiPe

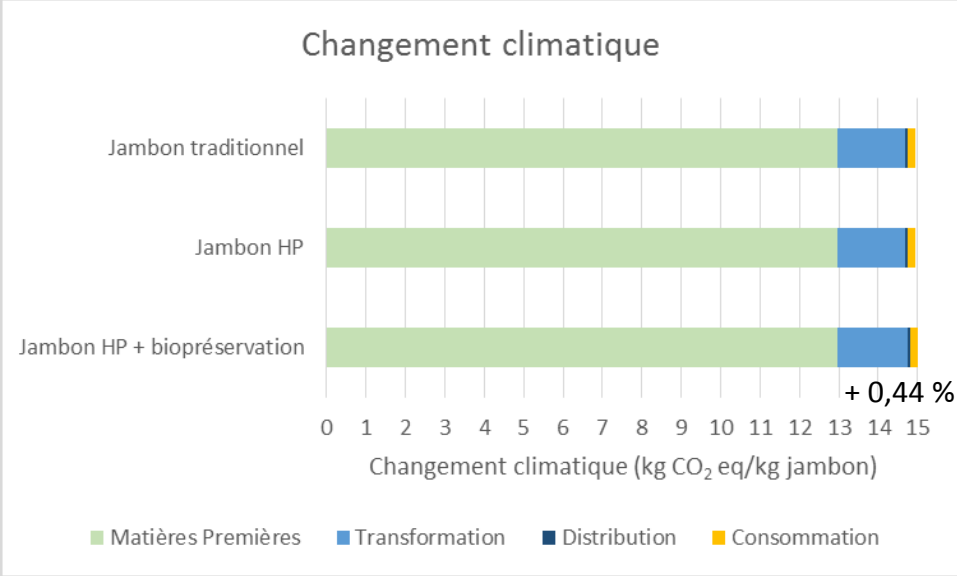
Situation géographique France

Allocation Massique

Impact environnemental du jambon selon les 3 scenarii

- Demande cumulative d'énergie non renouvelable
- Changement climatique

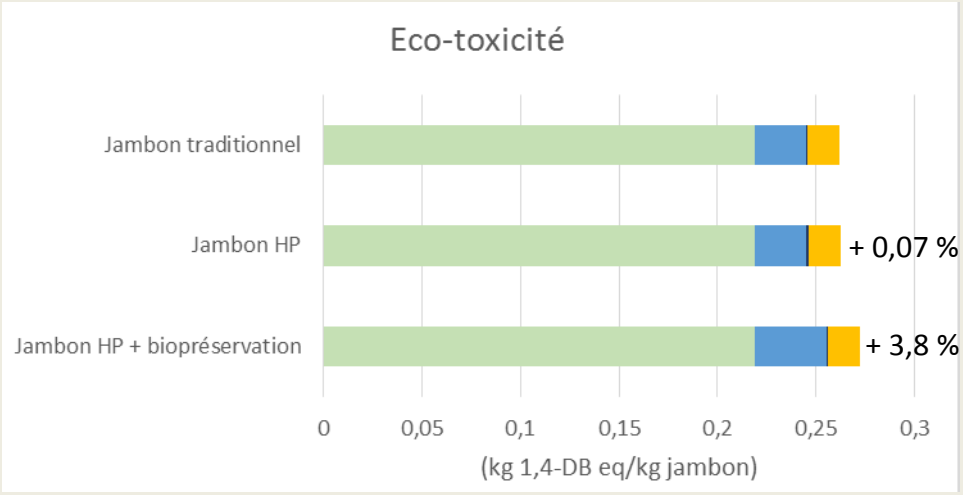


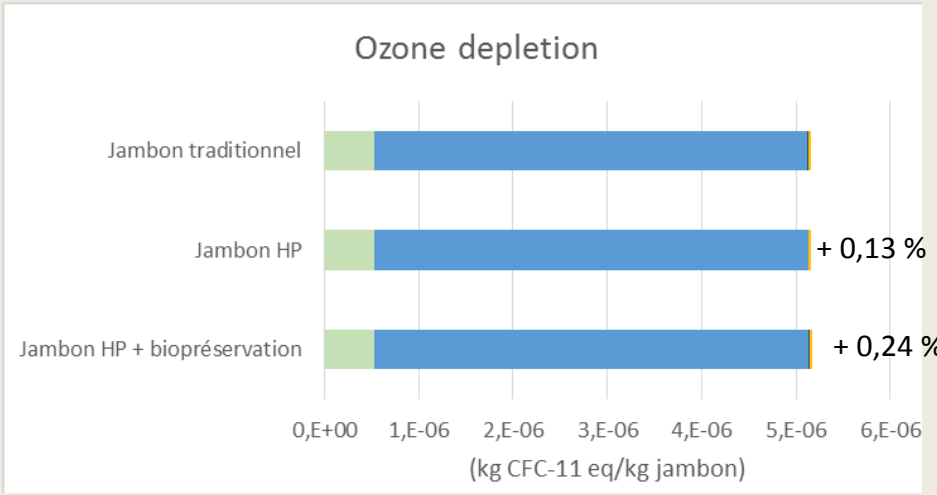


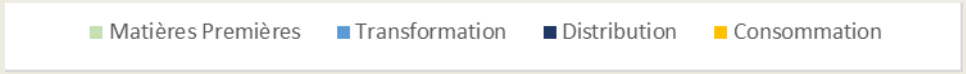
Jambon HP : + 0,83 MJ
Jambon HP + biopréservation: + 1,96 MJ

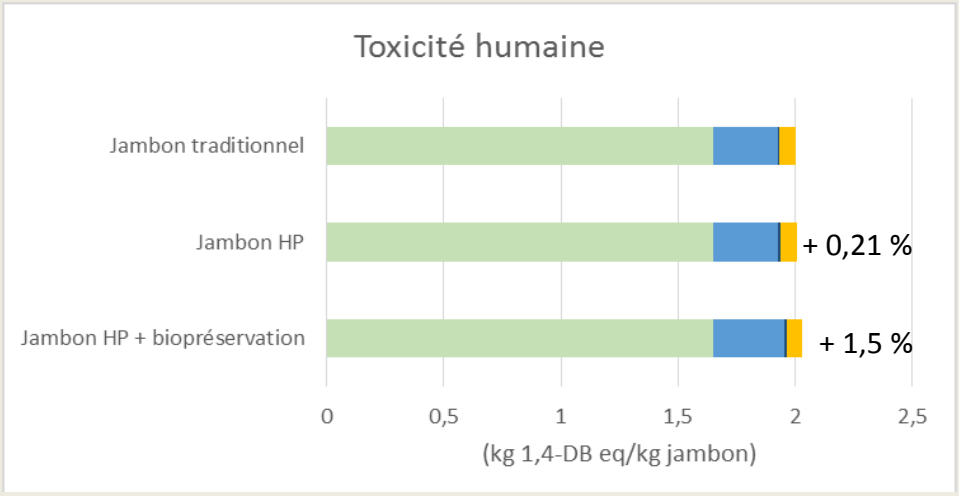
⇒ Peu de différence entre les différents procédés

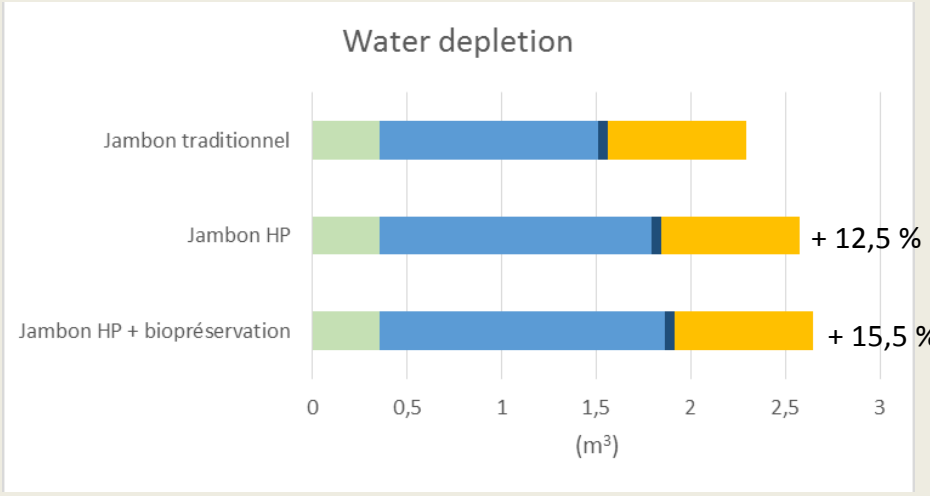
Impact environnemental du jambon selon les 3 scenarii











Bilan sur l'impact environnemental

- Ajout du ferment et de l'étape HP: effet limité sur l'impact environnemental potentiel du jambon
  - Affiner la modélisation des systèmes de production: prise en compte de l'utilisation des effluents pour l'épandage

  Poster: *Evaluation de la durabilité d'un procédé alternatif de production de jambon*, G. Petit et al.
  - Valider la robustesse des résultats

- Développement de facteurs de caractérisation tenant compte de la qualité du produit / effet sur la santé humaine (suite thèse Gina Villamonte, 2014)

Indicateur de l'impact potentiel de nitrosamines sur la santé humaine

DEVENIR

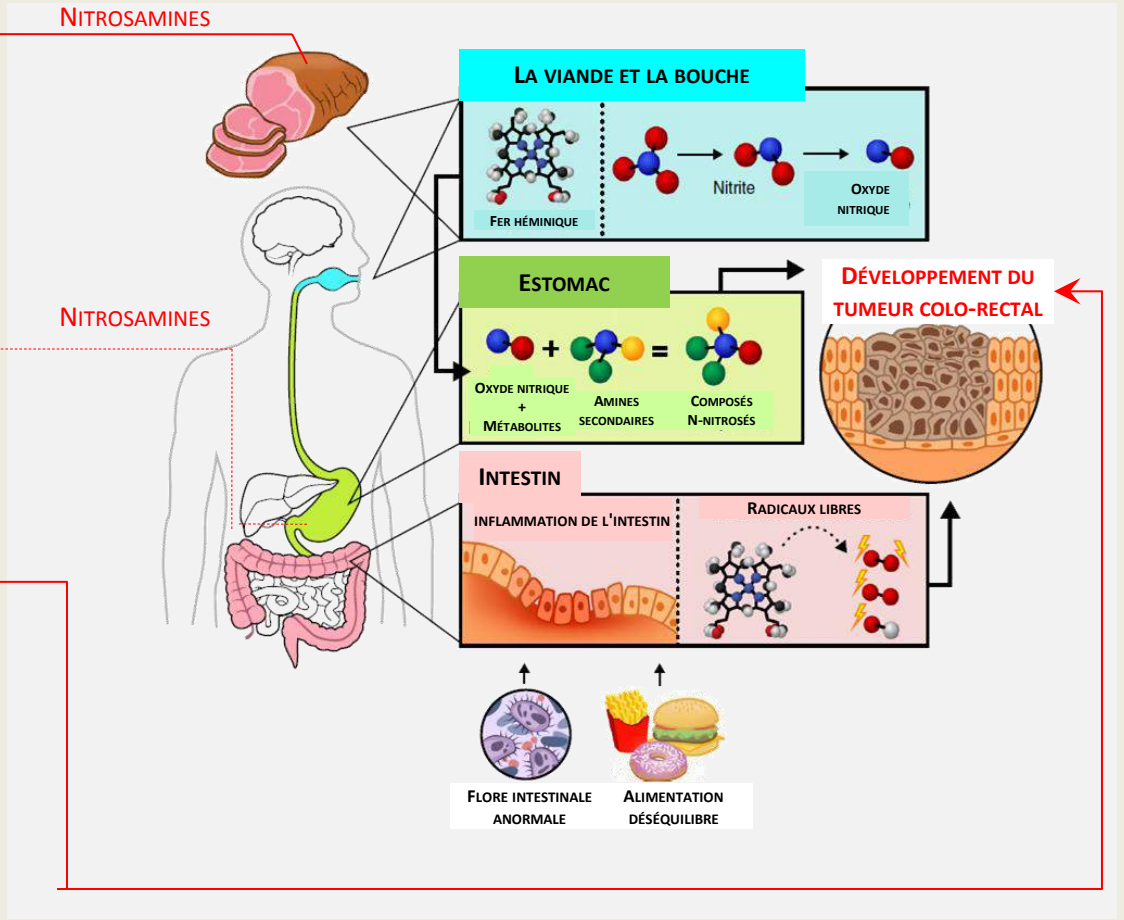
EXPOSITION

FRACTION PRISE

EFFET

SÉVÉRITÉ

FACTEUR EFFET



CHAÎNE DE CAUSALITÉ

Indicateur de l'impact potentiel de nitrosamines sur la santé humaine

$$S_i = \sum_i iF_i \times EF_i$$

avec
Si est l'indicateur de la catégorie d'impact (DALY/Unité fonctionnelle)
iF est la fraction prise (kg pris/unité fonctionnelle)
EF_i est le facteur effet (DALY/kg pris) du type de nitrosamine *i*.

Fraction prise:

$$I_i\left(\frac{\mu g_{nitrosamines\ prises}}{UF}\right) = \frac{Nb\ doses}{UF} \times \frac{g_{aliment}}{dose} \times \left(\frac{\mu g_{nitrosamines}}{g_{aliment}} + fc \times \frac{g_{nitrites}}{g_{aliment}}\right)$$

Facteur effet:

$$EF = \frac{0{,}5}{ED_{50}}$$

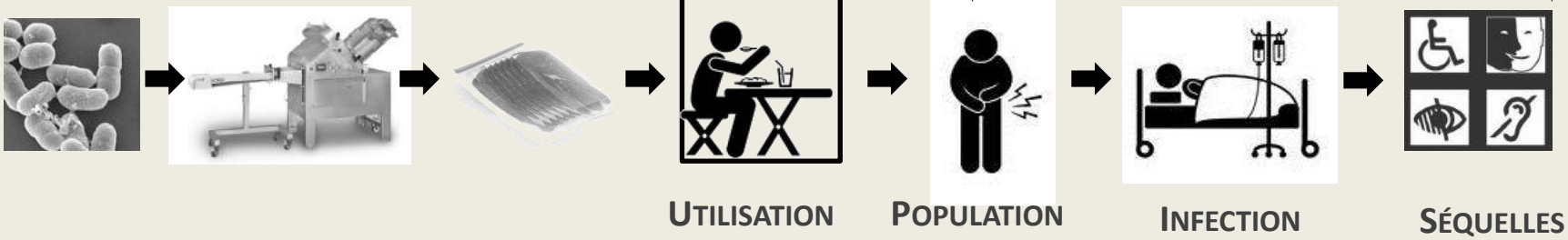
facteurs d'effet des modèles de caractérisation de toxicité humaine de nitrosamines: USEtox
ED_{50}: dose létale pour 50% d'une population donnée

Indicateur de l'impact potentiel de pathogènes sur la santé humaine

FACTEUR DE CARACTÉRISATION

FRACTION PRISE — FACTEUR EFFET

DEVENIR MICROBIOLOGIQUE → EXPOSITION → EFFET → SÉVÉRITÉ DE L'INFECTION



UTILISATION — POPULATION (FRANCE) — INFECTION — SÉQUELLES

EXPOSITION — SÉVÉRITÉ

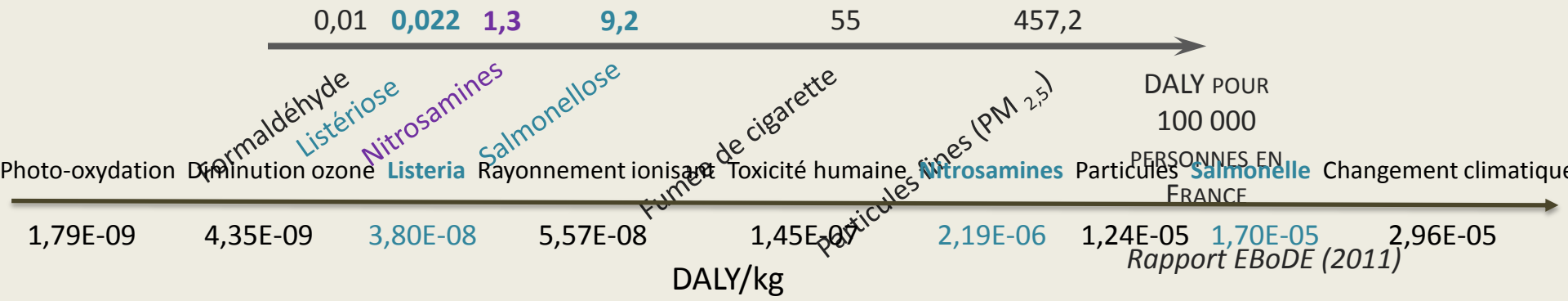
$$P_{effet} = (1 - e^{-rDose})_{Listériose} . k_{ménigitis/\ septicémie/\ périnatale}$$

$$DALY_{a,s} = P_{effet,a,s} (P_{guérisson} . YLD_{guérisson} . w + P_{décès}(YLD_{décès} . w + LE_{a,s} - CA\text{-}YLD_{décès}) + (1 - P_{décès} - P_{guérisson}).(LE_{a,s} - CA). w)$$

GUÉRISON — DÉCÈS — SÉQUELLE

Nouveaux facteurs de caractérisation: comparaison procédé conventionnel / HP + biopréservation

Dommage potentiel	Jambon conventionnel		Jambon HP + Biopréservation	
	(DALY/an) pour la population totale	(DALY/kg jambon)	(DALY/an) pour la population totale	(DALY/kg jambon)
Nitrosamines	164	2,19 e-6	34	4,54 e-7
Listeria	2,84	3,80 e-8	0	0
Salmonelles	1268	1,7 e-5	0	0



Rapport EBoDE (2011)

- Impact environnemental hautes pressions négligeable
- Combinaison des hautes pressions et de la biopréservation : procédé innovant prometteur
- Importance des indicateurs santé humaine
  - Prise en compte de la qualité sanitaire du produit
  - Prise en compte de l'aspect santé humaine dans l'évaluation des produits
  - Prise en compte de l'impact de substances toxiques ou controversées
- Perspectives:
  - Calcul d'un facteur de caractérisation lié à l'adjonction de sel dans le jambon
  - Calcul d'un facteur de caractérisation lié à la contamination par des bactéries d'altération
  - Affinage des variations d'indicateurs pour la production du bioferment, consolidation des données

Oniris
École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation
Nantes Atlantique

AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

BLac HP

Merci de votre attention

GEPEA
Environnement • Énergie
Agro-alimentaire • Mer

20 novembre 2018

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

Journée de restitution du RMT-ACTIA-FlorePro & projet ANR BlacHP

« RMT-ACTIA-FLOREPRO »

« Mise en œuvre des procédés de biopréservation pour une meilleure qualité des aliments »

20 novembre 2018

souad.christieans@adiv.fr

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

ADIV viande performances

ACTIA

LES RESEAUX MIXTES TERCHNOLOGIQUES (RMT) : un outil de partenariat labellisé par le Ministère de l'Agriculture, de l'Agro-alimentaire et de la forêt (2006)

Coordination / ACTIA

www.actia-asso.eu

Objectif : Un réseau de compétences/visibles/reconnus et mobilisables

Animation **ADIV** - RMT FLOREPRO agrée en 2009 par le Ministère de l'Alimentation et de l'Agriculture (**2009-2014 ; janvier 2016-décembre 2020**)

15 partenaires, 4 filières agroalimentaires (viandes, poissons, fromages, végétaux)

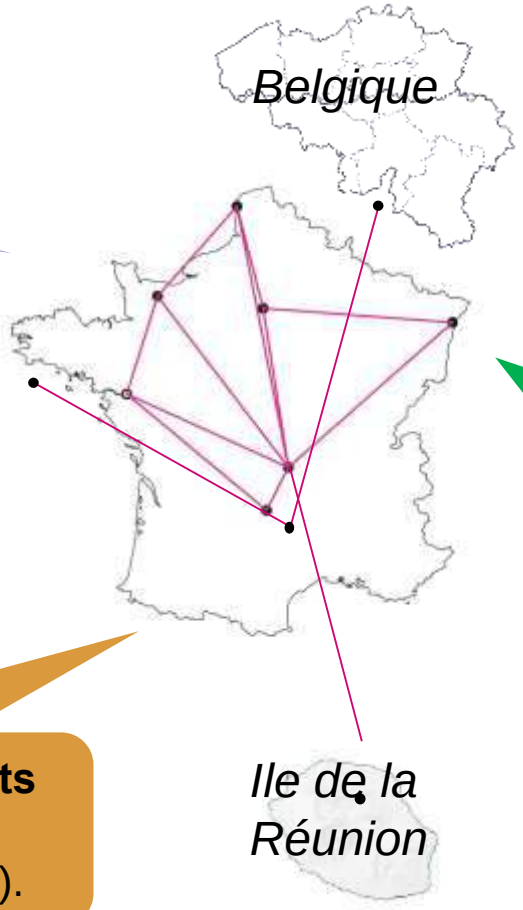
Les partenaires

RMT-ACTIA-FLOREPRO

ITAI
ADIV, ACTALIA, Aérial, IFIP

Etablissement d'enseignement supérieur
ONIRIS – SECALIM, AGROPARITECH

Etablissements d'enseignements Agricoles
Louis Pasteur (Clermont-Ferrand).



Organismes de recherche

France

4 UR-INRA (Auvergne Rhône-Alpes avec 2 sites : UR fromagères-Aurillac et l'UR Microbiologie-Theix), UR FLEC (Jouy en Josas) et UR GMPA (Grignon)

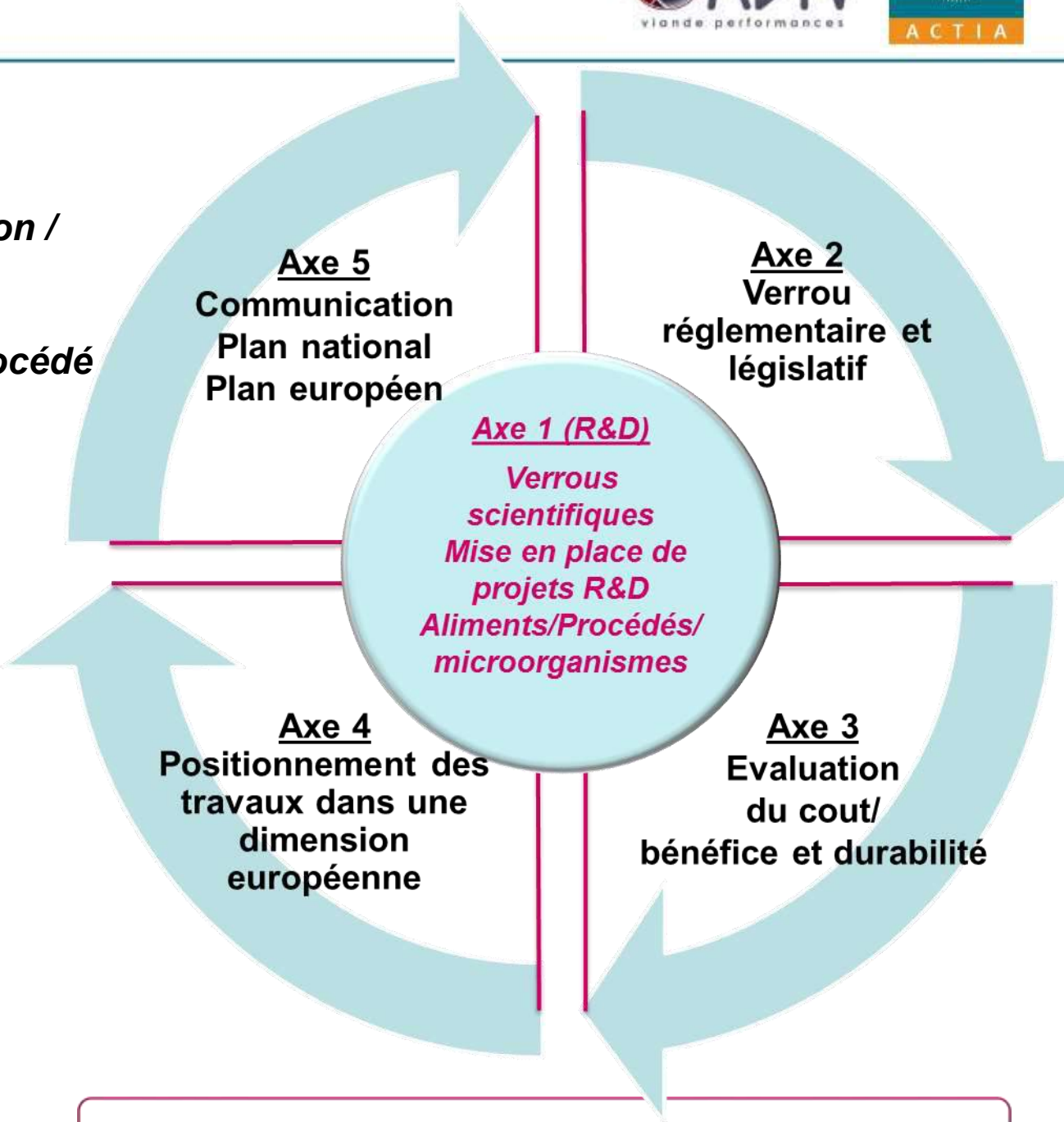
5 Universités : UBO, ENSAIA, Caen et l'Ile de la Réunion

IFREMER

Europe : L'université de Liège

Développer des travaux / actions : lever les freins et verrous (scientifique, techniques, réglementaire,….)
➡ Optimisation de la qualité des aliments / Applications et innovations industrielles

- ✓ ***Comprendre les mécanismes d'action / interactions / les conditions d'expression des fonctionnalités d'intérêt des cultures / produit & procédé***
- ✓ ***Evaluer : coûts / faisabilité / avantages / économie / durabilité***
- ✓ ***Contribuer à l'évolution de la réglementation des microorganismes de préservation en partenariat avec les pouvoirs publics (France/Europe) et les producteurs des ferments (Syndicat).***
- ✓ ***Valorisation/communication***



Programme de travail : 5 axes

RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE

FLOREPRO

Verrou scientifique
Projets R&D « Questionnements »

❖Initiation d'une dizaine de projet R&D (ANR, Europe, Région, FAM, ACTIA….)

❖Projet ANR « **PATHOFOOD** » 2018 – 2022 / coordination INRA-RA

(RMT-FLOREPRO- RMT QUALIMA et le Gis Sym'Previus)

Interactions microbiennes et modélisation

MH DESMONTS (Aérial)
Identification et recensement des indicateurs de l'altération microbiologique.
Projet ACTIA Indic'Alté

F. LEROI (IFREMER) / MF. PILET (ONIRIS)
Utilisation des cultures protectrices pour maîtriser la qualité et la sécurité microbiologique des produits à base de saumon. Projet européen SAFEFISHDISH)

M. ZAGOREC / (ONIRIS) et MC. CHAMPOMIER-VERGÈS (INRA) - l'altération des aliments

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

ADIV viande performances

ACTIA

Verrou réglementaire

Travaux de Recherche et Développement « questionnement »

Recommandations du RMT – ACTIA – FLOREPRO pour « l'usage des cultures protectrices »

Réflexion / collaboration avec : industriels, pouvoirs publics » - DG Santé

Véronique ZULIANI (CHR Hansen)
Position de l'EFFCA (European Food & Feed Cultures Association) sur le statut des cultures

C. FEURER (IFIP)
Quelles applications de la biopréservation dans les filières agro-alimentaires en France et à l'international ?

MERCI POUR VOTRE ATTENTION

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

Etude ACTIA « Indic'Alté »

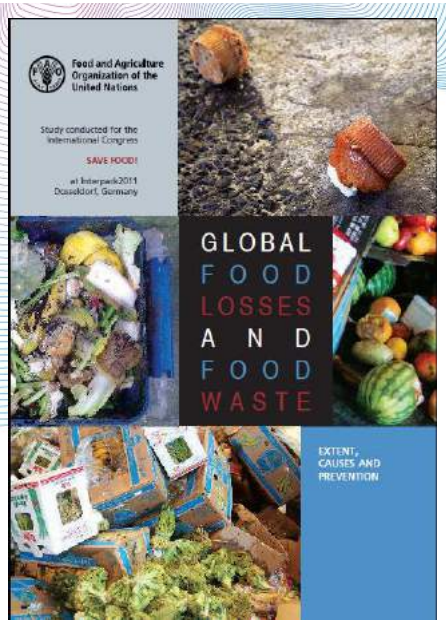
Identification et recensement des indicateurs de l'altération microbiologique

Journée de restitution

M.H. Desmonts et Erwann Hamon

Paris, le 20 novembre 2018

CONTEXTE : LE GASPILLAGE ALIMENTAIRE

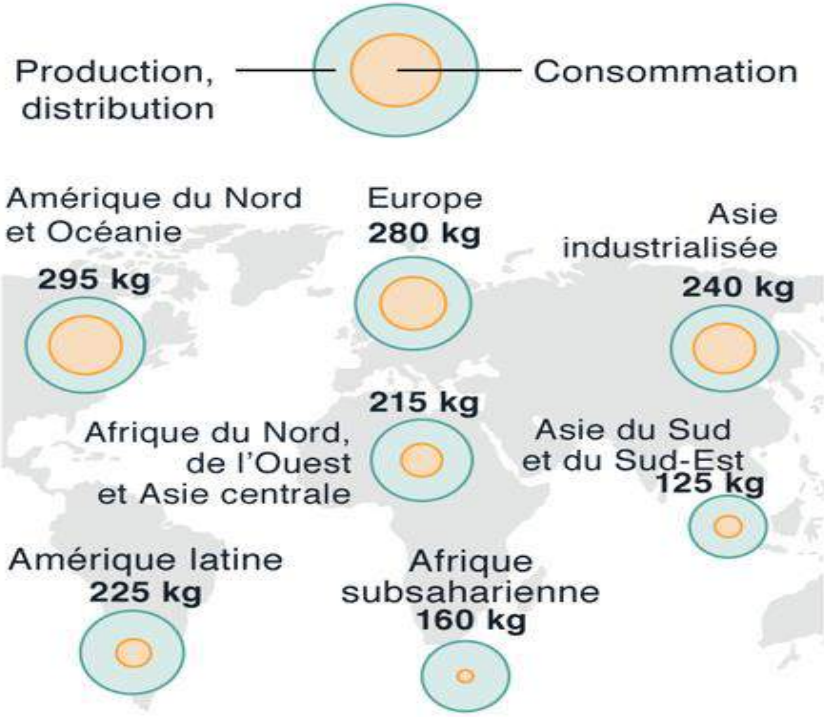


Rapport FAO 2011
Gustavsson et coll.

Dans le Monde

1/3
de la production alimentaire mondiale

Gaspillage alimentaire par grandes régions
Total en kilos par habitant, en 2011



Le Monde.fr En France, le gaspillage alimentaire en chiffres

CONTEXTE : LE GASPILLAGE ALIMENTAIRE

En France

En 2011 **136 kg** pertes / habitant

29 kg/ habitant

2013 Pacte National de Lutte contre le gaspillage alimentaire

2016 Loi contre le gaspillage alimentaire

30 octobre 2018
Loi Alimentation Egalim

Multiplication des initiatives privées et publiques pour lutter contre le gaspillage alimentaire

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

Etude ACTIA Indic'Alté (déc. 2016 – déc. 2017)

Identification et recensement des indicateurs de l'altération microbiologique

Mieux cerner l'altération d'origine microbiologique et les marqueurs d'altération pour mieux maîtriser la biopréservation des aliments.

- **Définir l'altération** pour les différentes filières agroalimentaires concernées (produits laitiers, produits carnés, produits de la mer, végétaux)
- **Recenser les marqueurs de l'altération actuels ou potentiels.**

Etude ACTIA Indic'Alté (2017)

Jan. ⟷ Oct. ⟷ Déc.

1 - Etat des lieux

Revue bibliographique

Analyse critique

Méthodes de mesure de l'altération

2 - Enquête

Elaboration - diffusion - synthèse

Cible : industriels ; syndicats ; autres centres techniques ...

Critères utilisés pour désigner l'altération ; fréquence, occurrence

3 - Interviews

Elaboration - réalisation – synthèse

Cible : industriels ; resp. org. pro.

Pertes et gaspillage liés à l'altération

Etude ACTIA Indic'Alté

1 - Etat des lieux

Revue bibliographique

Analyse critique

Méthodes de mesure de l'altération

2 - Enquête

Elaboration - diffusion - synthèse

Cible : industriels ; syndicats ; autres centres techniques ...

Critères utilisés pour désigner l'altération ; fréquence, occurrence

3 - Interviews

Elaboration - réalisation – synthèse

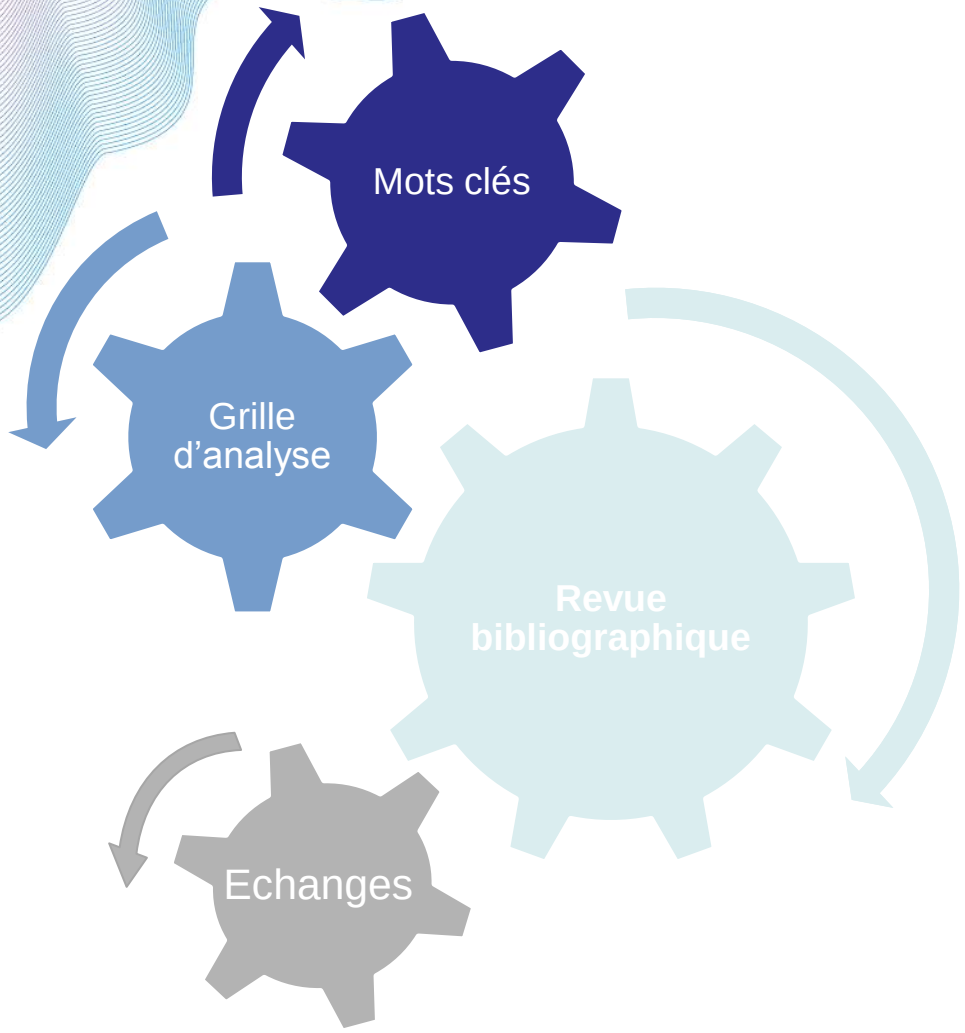
Cible : industriels ; resp. org. pro.

Pertes et gaspillage liés à l'altération

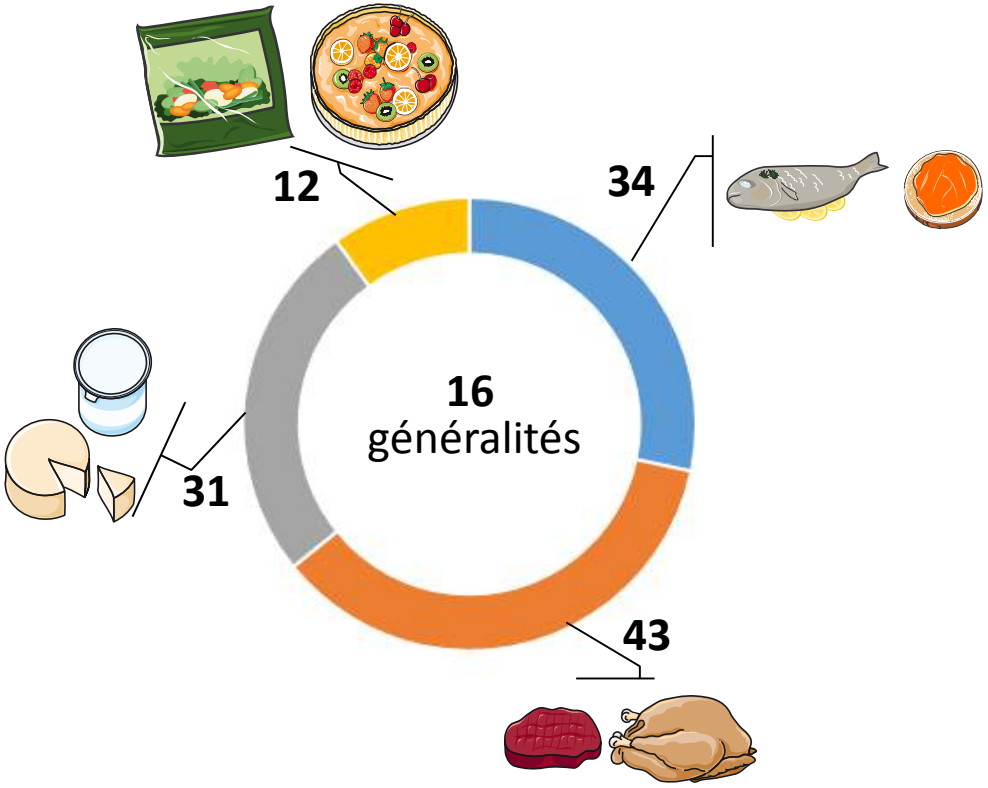
Projet ACTIA Indic'Alté : 1 – état des lieux

Méthodologie

Marqueurs de l'altération d'origine microbienne



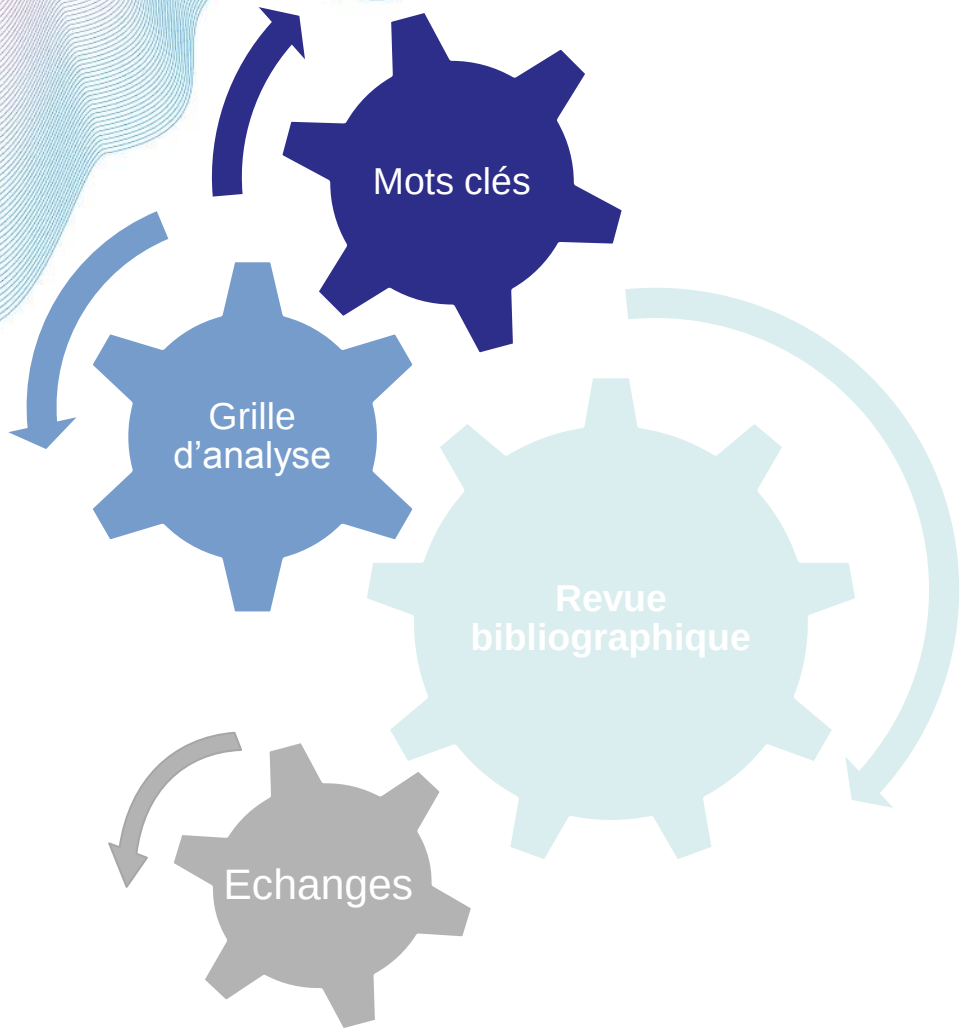
134 références
(y compris sources partenaires)



1 – état des lieux

Méthodologie

Marqueurs de l'altération d'origine microbienne



Panorama des marqueurs et méthodes de mesure associées

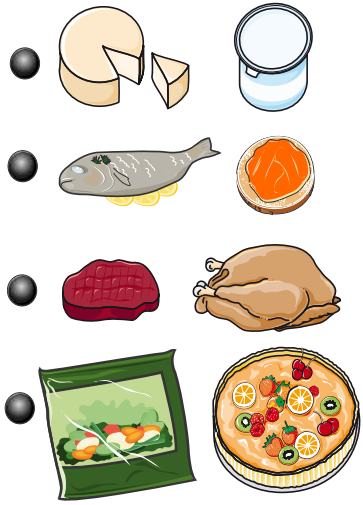
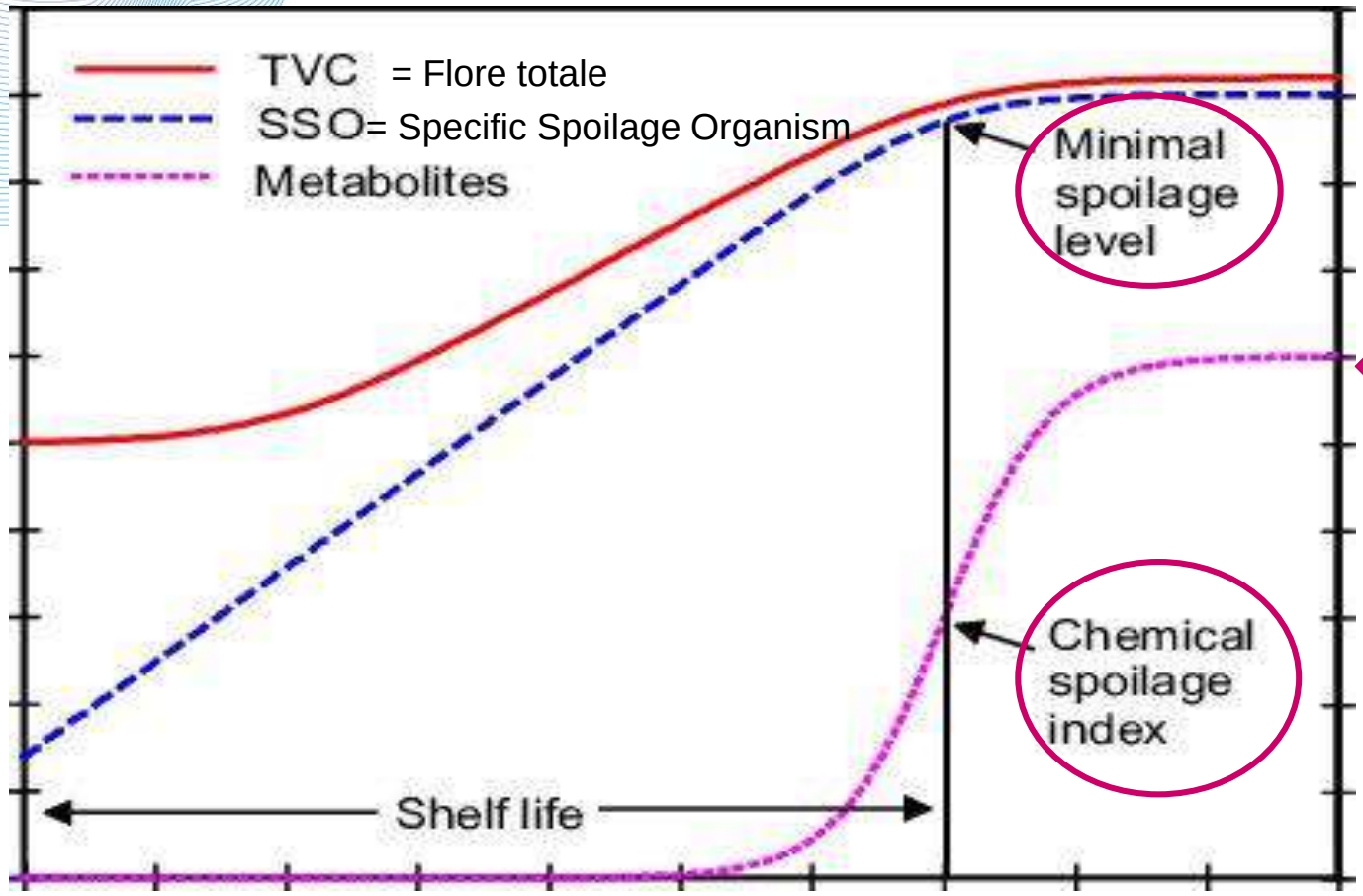


Schéma général de l'altération microbienne (Dalgaard, 1993)



Perception sensorielle

1 - Etat des lieux

Typologie des articles sur l'altération microbienne des aliments

Microbiologie

- Méthodes a-culturales
- Méthodes culturales

Analyse sensorielle

- Jury entraîné
- Sujets non-entraînés

Plan expérimental

- Altéré *vs.* témoin
- Suivi dynamique

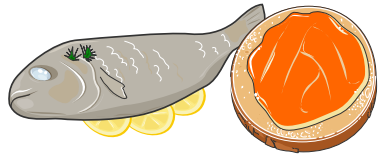
Chimie analytique

- Méthodes ciblées
- Méthodes non-ciblées

1 – état des lieux

Produits de la mer : Rapport MIPROMER (Viel-Brillet 2010)

Points principaux



Microbiologie

- Critères d'usage (ex. 10^6 UFC/g flore mésophile aérobie totale)
- SSO : bactéries (modèles prév. et méthodes de détection précoce)

Analyse sensorielle

- Barême de quotation (CE 2406/96)
- *Quality Index Method*
- Méthode de la Torry

Chimie analytique

- ABVT (réglementé), TMA & Co
- Catabolites de nucléotides (IMP, Ino, HX)
- Amines biogènes (réglementé)
- Indole
- Composés volatiles (9 études post 2000)

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

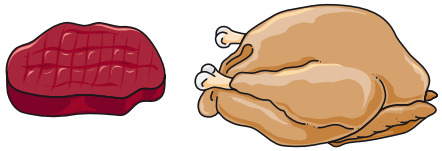
Indic'Alté

Aérial ADIV viande performances ACTIA

1 – état des lieux

Produits carnés :

Points principaux



Critères d'usage

SSO : bactéries
(modèles prév. et méthodes de détection précoce)

Microbiologie

Odeur > aspect > texture

Sujets entraînés ou non

Analyse sensorielle

Chimie analytique

- ~~ABVT (réglementé), TMA & Co~~
- Catabolites de nucléotides (IMP, Ino, HX)
- Amines biogènes ~~(réglementé)~~
- Autres (couleur, ptés électriques, activité enzymatique)

Valeur d'activité odorante

Casaburi et al. 2015

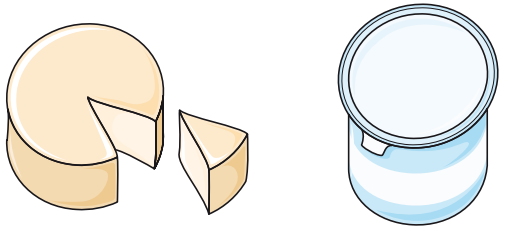
- Composés volatiles (alcools, aldéhydes, des cétones, acides, esters et composés soufrés)

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO **Indic'Alté** Aérial ADIV viande performances ACTIA

1 – état des lieux

Produits laitiers :

Points principaux



Microbiologie

- SSO : bcp de levures / moisissures (méthodes de détection précoce, caractère souche spécifique)

Analyse sensorielle

- Défauts visuels essentiellement (notion d'accident de fabrication)

Chimie analytique

- Protéolyse & métabolisme de la tyrosine
- Analyse de la couleur (chromamétrie Lab, RAMAN)
- Composés volatiles (très peu d'étude des défauts)

1 – état des lieux

Bilan

Disparité des recherches en fonction des filières

- La viande et le poisson ont fait l'objet du plus grand nombre d'investigations en lien avec la criticité des produits (caractère périssable).

- Accent mis sur l'altération bactérienne pour les produits carnés et de la mer / les levures et moisissures sont plus souvent étudiées dans les produits laitiers et végétaux.

→ Hétérogénéité des enjeux & problématiques d'altération en fonction des produits

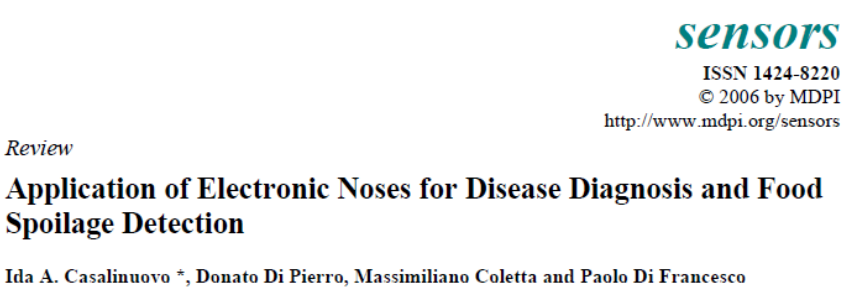
Distinction entre aliments fermentés ou non?

1 – état des lieux

Bilan

Le progrès des techniques instrumentales et d'analyse de données comme moteur des recherches et avancées sur l'altération microbiologique des aliments

- Exemple de la SPME-GC-MS et du volatilome au début des années 2000 (nez électronique)
- Aujourd'hui : les technologies NGS et autres méthodes de biologie moléculaire permettent d'explorer de manière approfondie les écosystèmes bactériens.
- L'émergence de la méta-métabolomique (par SM ou RMN) et l'utilisation améliorée des bases de données et des méthodes statistiques et informatiques offrent des perspectives en matière d'identification de nouveaux indicateurs chimiques (CSI) et/ou microbiologiques (SSO)

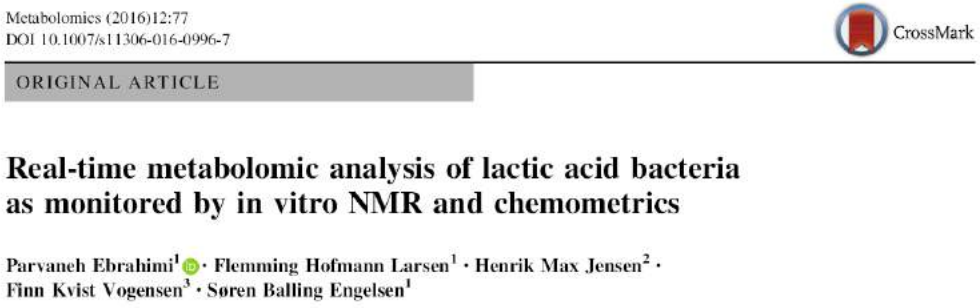

Sensors **2006**, *6*, 1428-1439

sensors
ISSN 1424-8220
© 2006 by MDPI
http://www.mdpi.org/sensors

Review

Application of Electronic Noses for Disease Diagnosis and Food Spoilage Detection

Ida A. Casalinuovo *, Donato Di Pierro, Massimiliano Coletta and Paolo Di Francesco


Metabolomics (2016)12:77
DOI 10.1007/s11306-016-0996-7

ORIGINAL ARTICLE

Real-time metabolomic analysis of lactic acid bacteria as monitored by in vitro NMR and chemometrics

Parvaneh Ebrahimi[1] · Flemming Hofmann Larsen[1] · Henrik Max Jensen[2] · Finn Kvist Vogensen[3] · Søren Balling Engelsen[1]

Etude ACTIA Indic'Alté

1 - Etat des lieux

Revue bibliographique

Analyse critique

Méthodes de mesure de l'altération

2 - Enquête

Elaboration - diffusion - synthèse

Cible : industriels ; syndicats ; autres centres techniques ...

Critères utilisés pour désigner l'altération ; fréquence, occurrence

3 - Interviews

Elaboration - réalisation – synthèse

Cible : industriels ; resp. org. pro.

Pertes et gaspillage liés à l'altération

Enquête ACTIA Indic'Alté

43 relais : syndicats, fédérations, associations, centres techniques, EPSCP, EPST, EPIC…

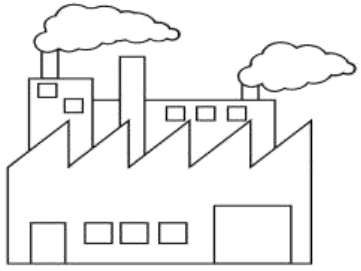
Partenaires

Contacts

Clients

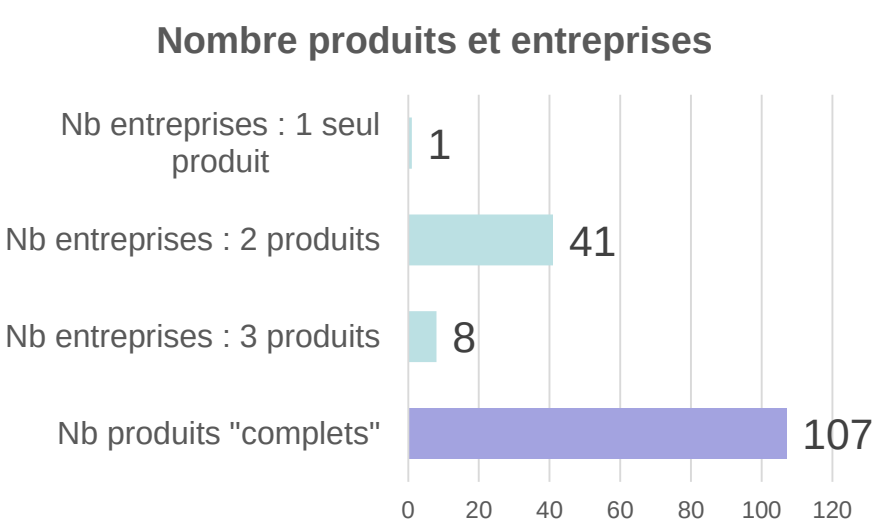
Adhérents

Membres



Enquête ACTIA Indic'Alté

2 - Enquête – retours



53 entreprises ont entièrement répondu au questionnaire

107 produits entièrement renseignés

Etude ACTIA Indic'Alté

1 - Etat des lieux

Revue bibliographique

Analyse critique

Méthodes de mesure de l'altération

2 - Enquête

Elaboration - diffusion - synthèse

Cible : industriels ; syndicats ; autres centres techniques ...

Critères utilisés pour désigner l'altération ; fréquence, occurrence

3 - Interviews

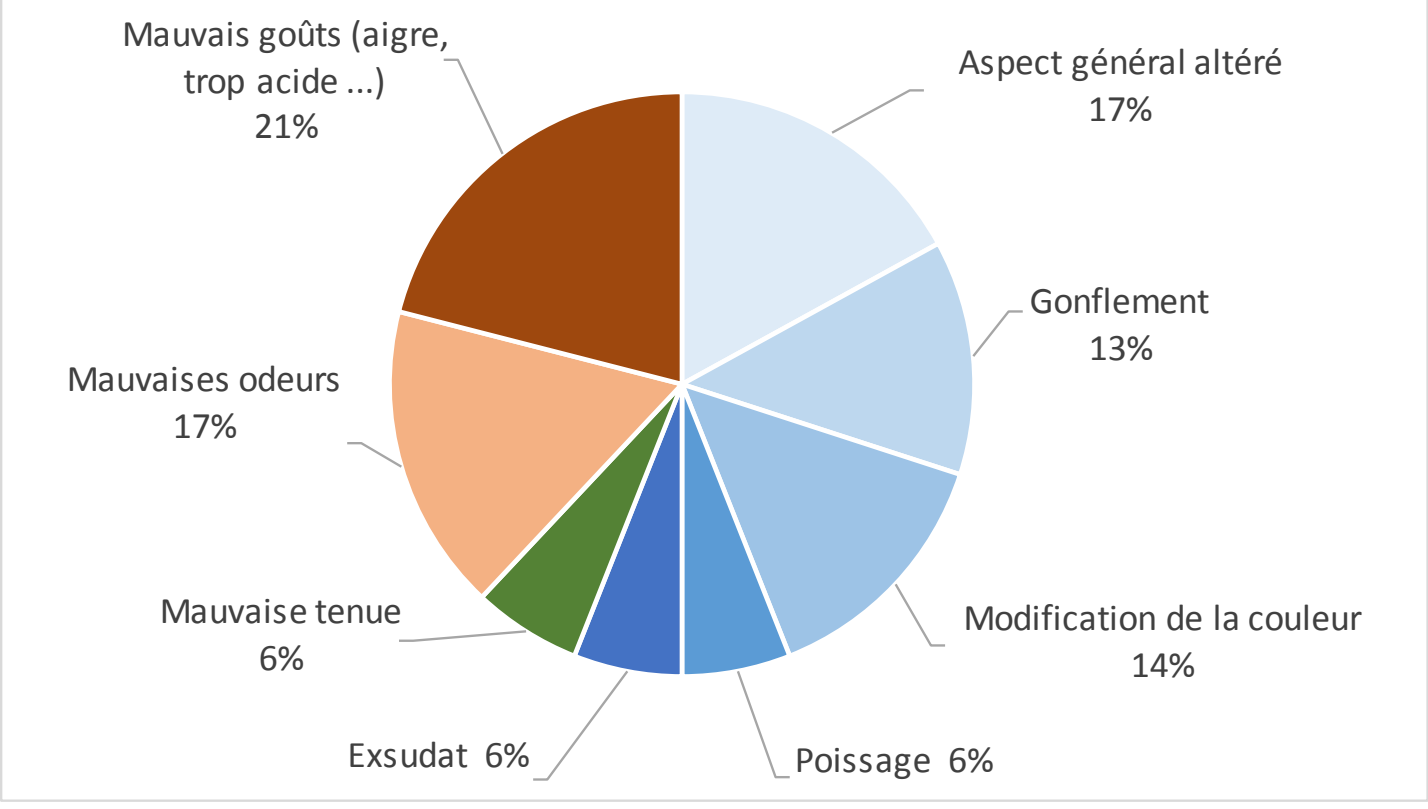
Elaboration - réalisation – synthèse

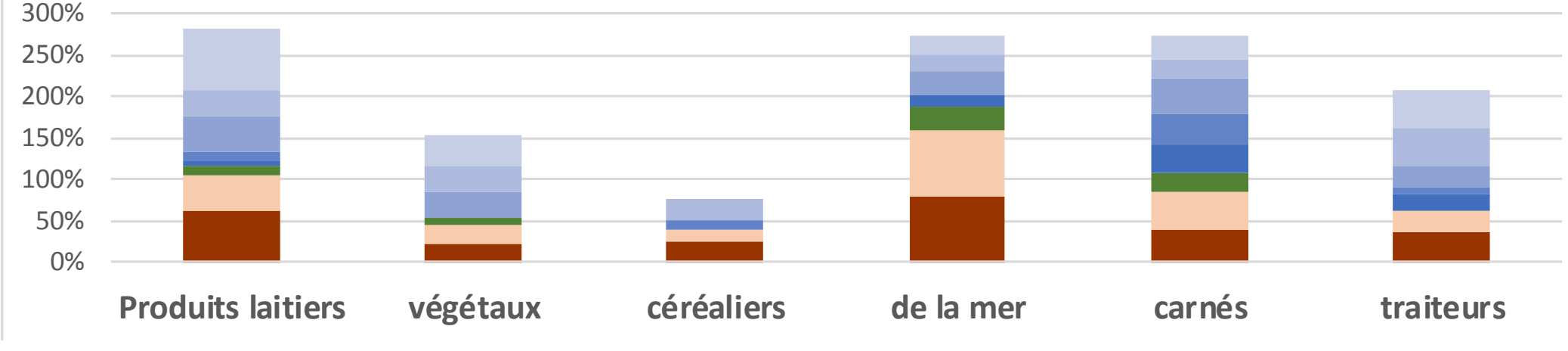
Cible : industriels ; resp. org. pro.

Pertes et gaspillage liés à l'altération

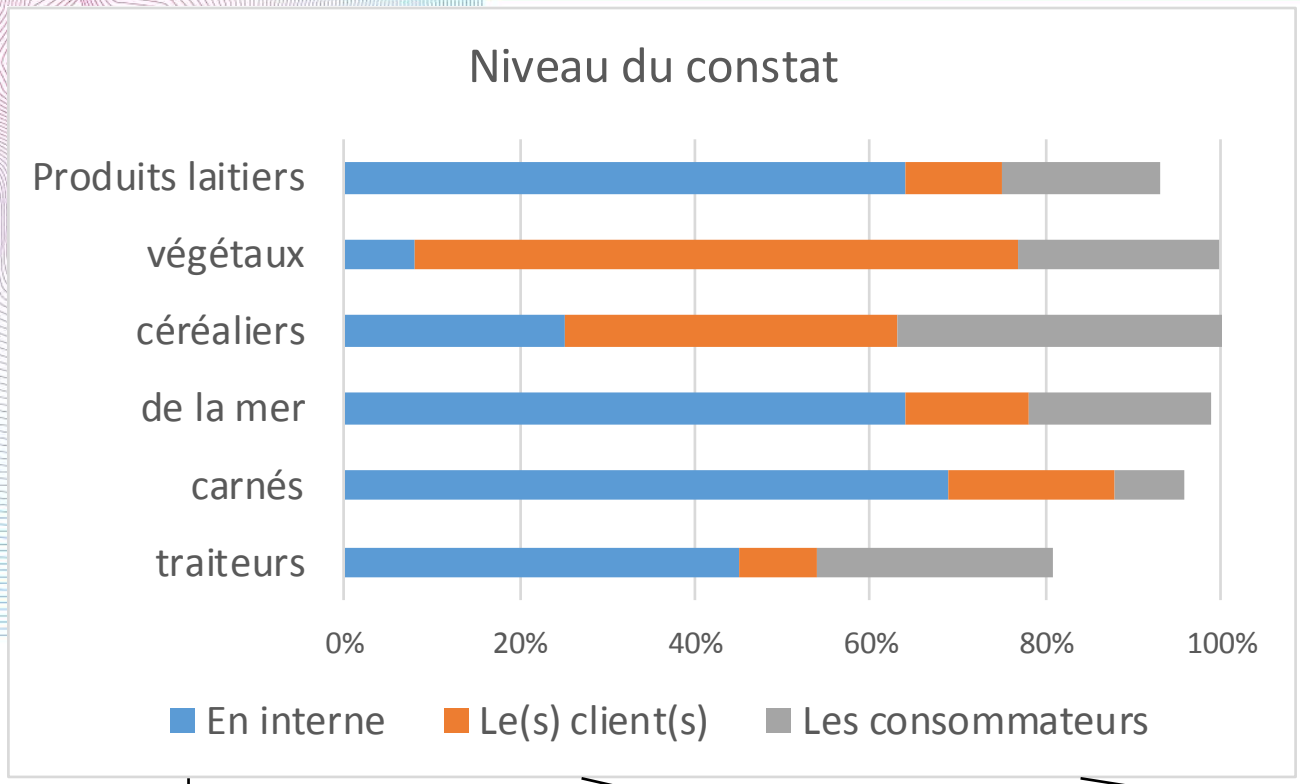
11 réalisés
PME
domaines variés

Nature des défauts/altérations constatés par l'entreprise

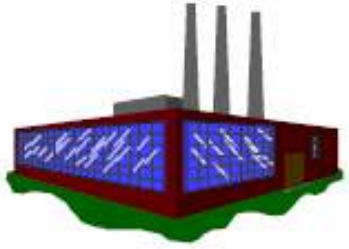




Nature des défauts/altérations constatés par l'entreprise



Tests de vieillissement

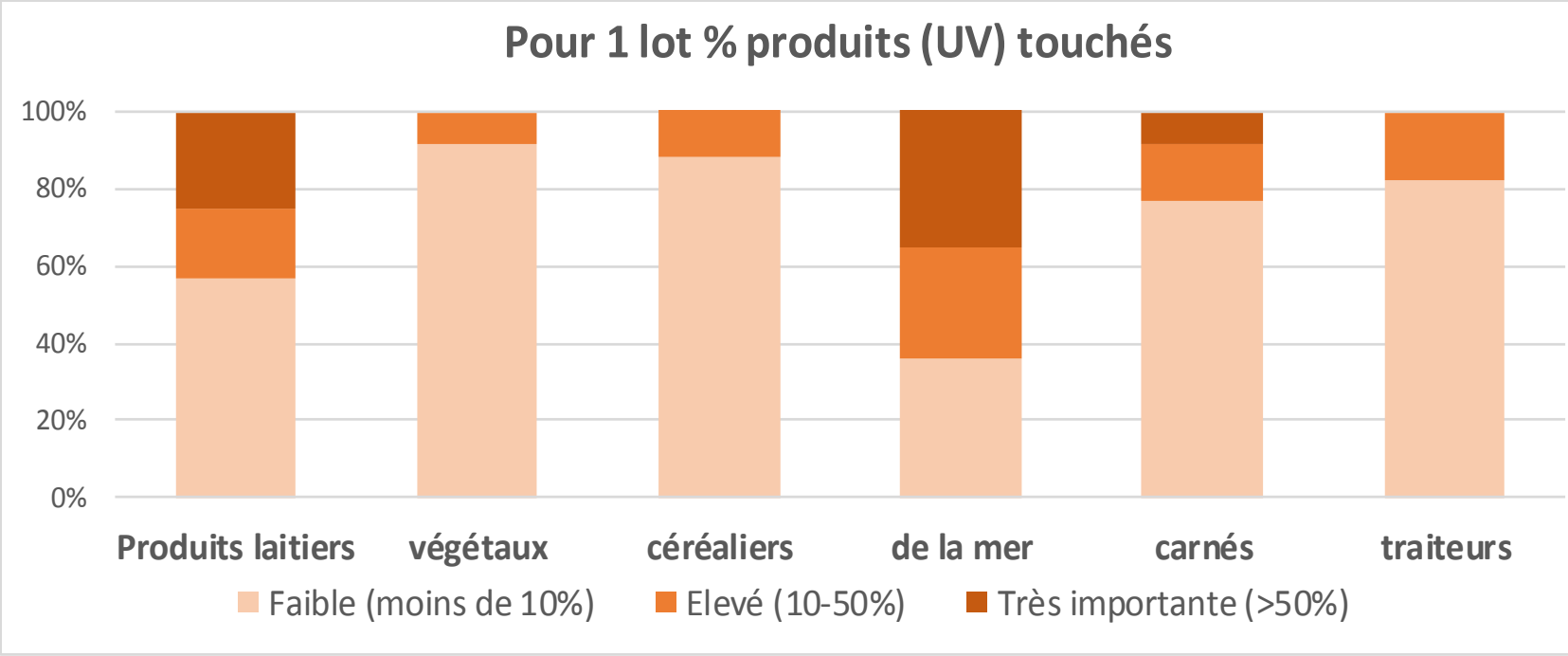


Retours distribution

Réclamation consommateurs

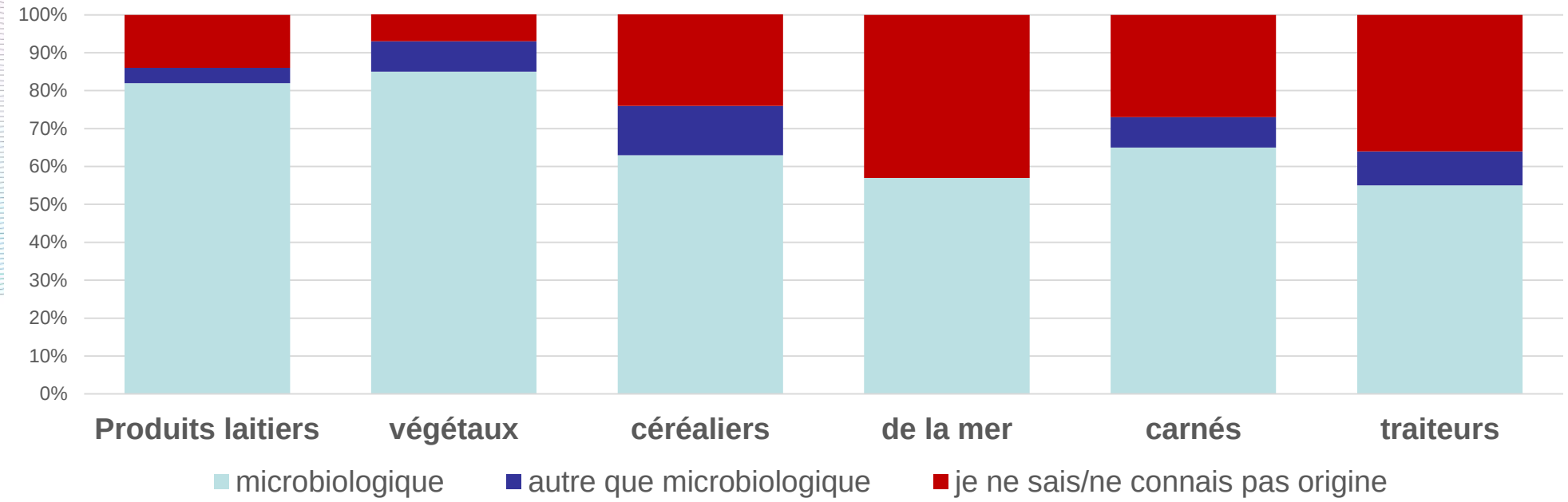
Impact économique de l'altération

- Un impact économique souvent difficile à apprécier mais toujours qualifié de non négligeable
  1. Cas peu nombreux de retrait de produits (gonflements barquettes ; retrait « préventif »)
  2. Coûts indirects liés à des opérations de N&D de surfaces des lignes renforcées ou soins supplémentaires (fromages)
  3. Déclassements ou réorientation de produits (ex : fromage Bio ou mimolette jeune)



Origine des défauts/altérations : être ou ne pas être microbiologique ?

Une origine majoritairement microbiologique



- Une méconnaissance de l'altération relativement répandue :

1. Définition même de l'altération
2. Origine non connue / non expliquée
3. Identification des « germes d'altération » rare (7/14)

Causes d'apparition des défauts/altérations

« cuisson pas assez longue/ jet vapeur défectueux sur 1 machine /

valeur stérilisatrice ou pasteurisatrice non atteinte »

-confitures -

-jus et desserts fruits-

«mauvais nettoyage »

- biscuits -

« Contamination aéroportée / ambiance d'atelier »

-fromage frais-

-crème -

«contamination par du matériel (cuves ouvertes)»

-fromages frais et blanc-

« lié à des mauvais scellages ou à des perforations du film / micro-fuite»

-pâte ménagère –

-découpe de volaille -

-traiteur mer-

Altérations et accidents à éviter par une maîtrise en production A RENFORCER

Attentes

Interviews

- Les solutions de lutte contre l'altération appliquées souvent non satisfaisantes

CAS PARTICULIERS

1. Ajout de conservateurs souvent efficace mais en contradiction avec attentes du clean label ou du Bio
2. Plans de N&D renforcés des surfaces et de l'environnement de production coûteux, parfois inefficaces et en contradiction avec attentes environnementales
3. Pour le contrôle de matières premières, mieux conserver conditionnements entamés

La **biopréservation** : une technologie diversement connue et reconnue

- Technique de lutte connue contre les pathogènes : largement utilisée pour fromages, saumon fumé, magrets de canard… contre *Listeria monocytogenes*
- Alternative possible à la réduction des teneurs en sel/sucre ou aux conservateurs chimiques pour préserver les DLC
  Contexte CLEAN LABEL – BIO - EXPORT

Conclusion et perspectives

L'altération d'origine microbiologique des aliments

- **COMPRENDRE et DETECTER** : grâce aux nouveaux outils
    1. établir des corrélations entre l'évolution des communautés microbiennes, y compris des levures / moisissures (métagénomique, métatranscriptomique) et celle des métabolites (méta-métabolomique).
    2. aller au-delà du volatilome et apprécier dans sa globalité la composition physico-chimique des matrices alimentaires → Des méthodes spectroscopiques (comme la RMN ou SM) peuvent apporter des solutions

- **PREDIRE** : définir des marqueurs précoces → ex : ANR REDLOSSES
  Notion de seuils (quantitatifs et d'acceptabilité,)…

REDLOSSES
RÉDUCTION DES PERTES ALIMENTAIRES
PAR LA PRÉDICTION DES ALTÉRATIONS
MICROBIOLOGIQUES

- **MAITRISER** → la BIOPRESERVATION comme méthode de lutte contre le gaspillage alimentaire en tant qu'alternative aux conservateurs

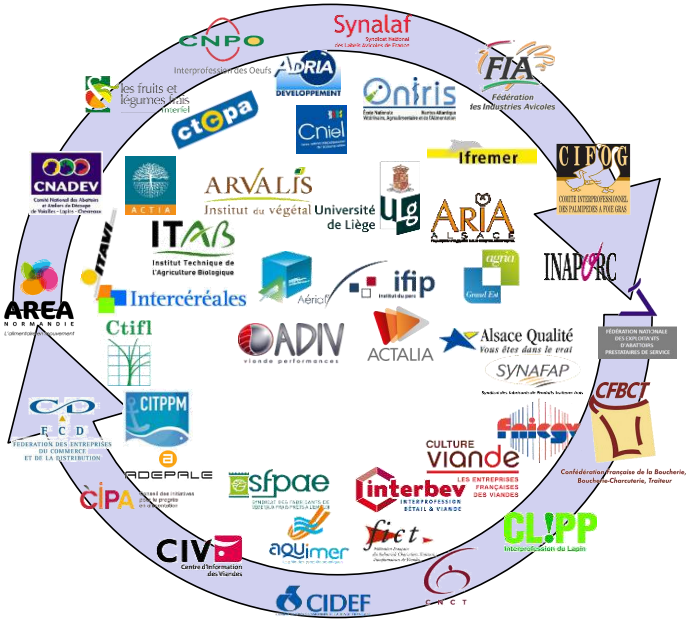
Etude ACTIA Indic'Alté (déc. 2016 – déc. 2017)

Nous remercions :

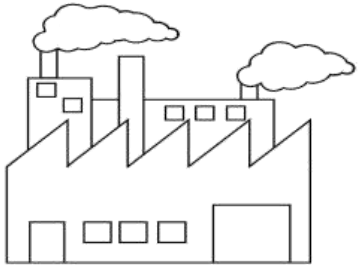
l'ACTIA

nos partenaires du RMT FROREPRO

nos relais



les responsables des entreprises qui ont répondu au questionnaire et nous ont reçu



RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE

FLOREPRO

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

Stratégies et premiers éléments pour mieux comprendre le phénomène d'altération des aliments

Monique Zagorec (UMR1014 Secalim, Nantes)
Marie Champomier-Vergès (UMR1319 Micalis, Jouy en Josas)

Thématique identifiée par le RMT **: comprendre l'altération pour savoir comment lutter par la biopréservation**

Phénomène complexe **: altération bactériologique dépend des conditions abiotiques (matrice, gaz, température…) et biotiques (interaction microbiennes, composition des communautés)**

Peu d'études complètes **: méthodologies diverses**

Deux exemples **: Altération de la viande et des produits de la mer par *Brochothrix thermosphacta***

Altération de saucisses de porc en conditions de réduction de sel

Stratégies d'approches

Dogme 1 **: un produit altéré, la flore majoritaire en est responsable. Pas toujours vrai.**

Dogme 2 **: on connait presque tout de la nature des bactéries contaminant les aliments. Faux.**

Importance de la composition des microbiotes, de la nature des interactions

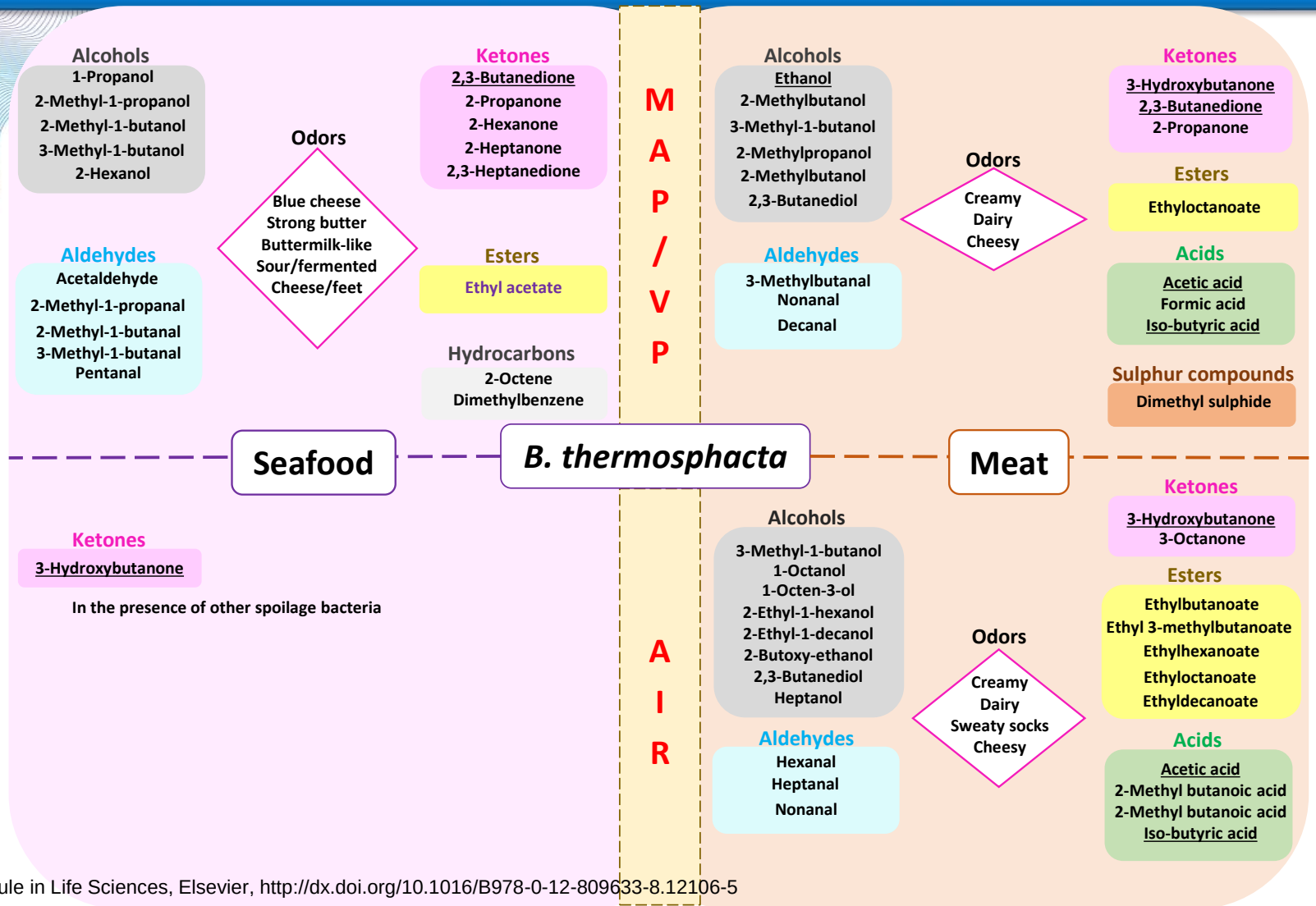
Approches possibles **:**

Souches pures, cocktails de souches, vrai microbiote

Méthodes en « omique » (génomique, transcriptomique, volatilome) et en « méta-omique »

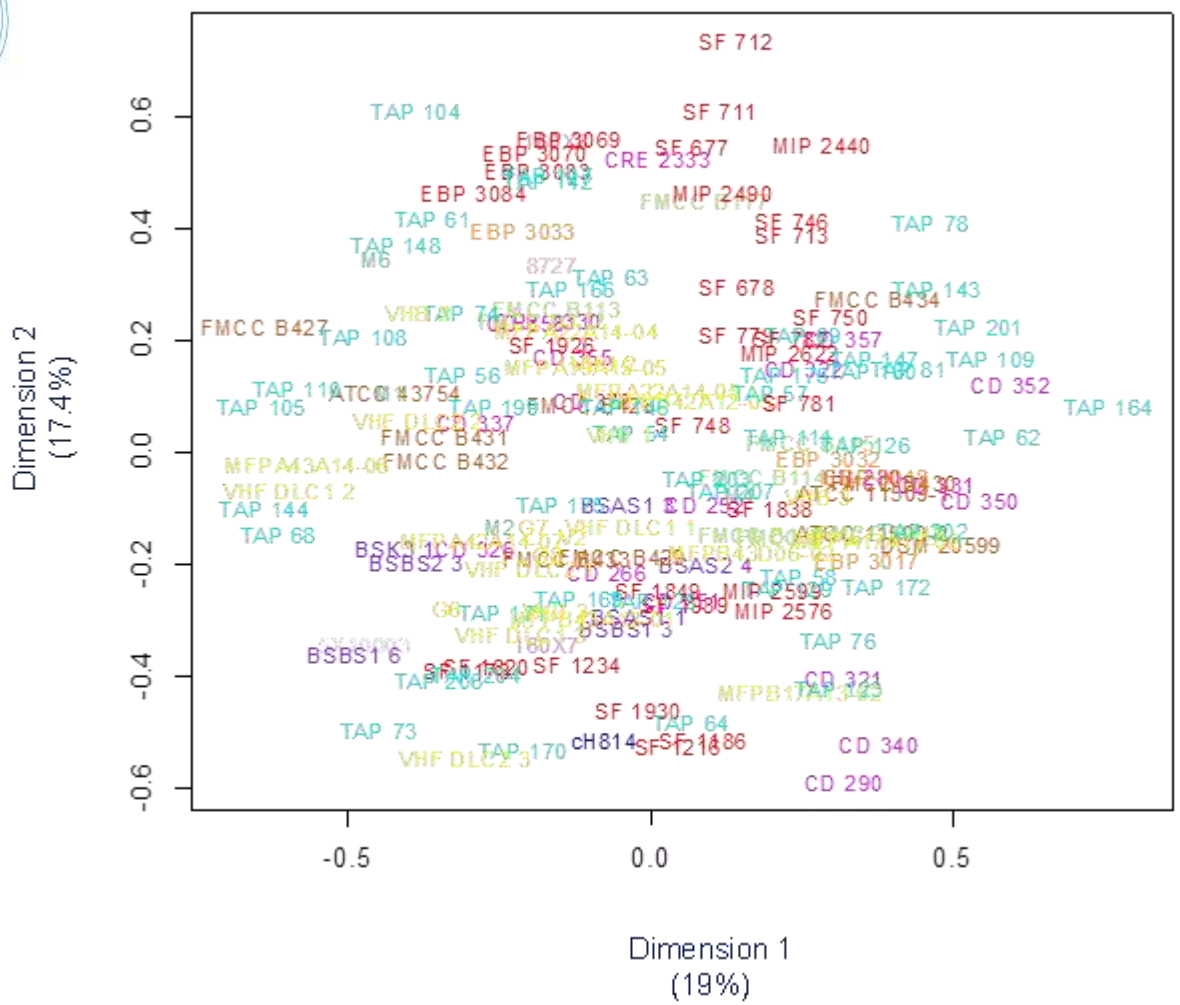
RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

L'altération par *Brochothrix thermosphacta* dépend des produits, du stockage. Les souches sont elles différentes ?



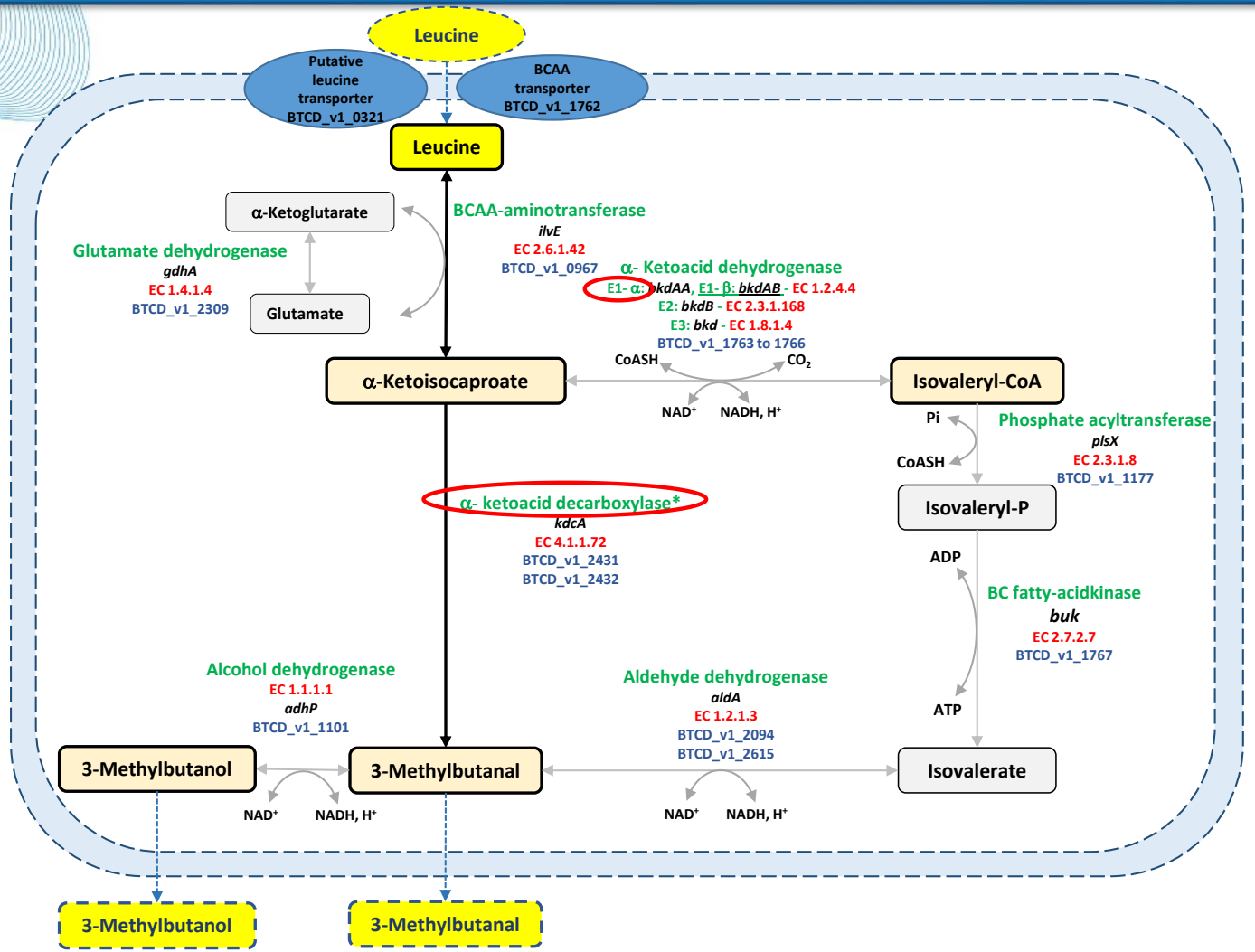
Illikoud et al, 2018. In Reference Module in Life Sciences, Elsevier, http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.12106-5

Souches différentes (génétique, phénotype).
Mais cela ne dépend pas de leur origine écologique. Au niveau des génomes ?



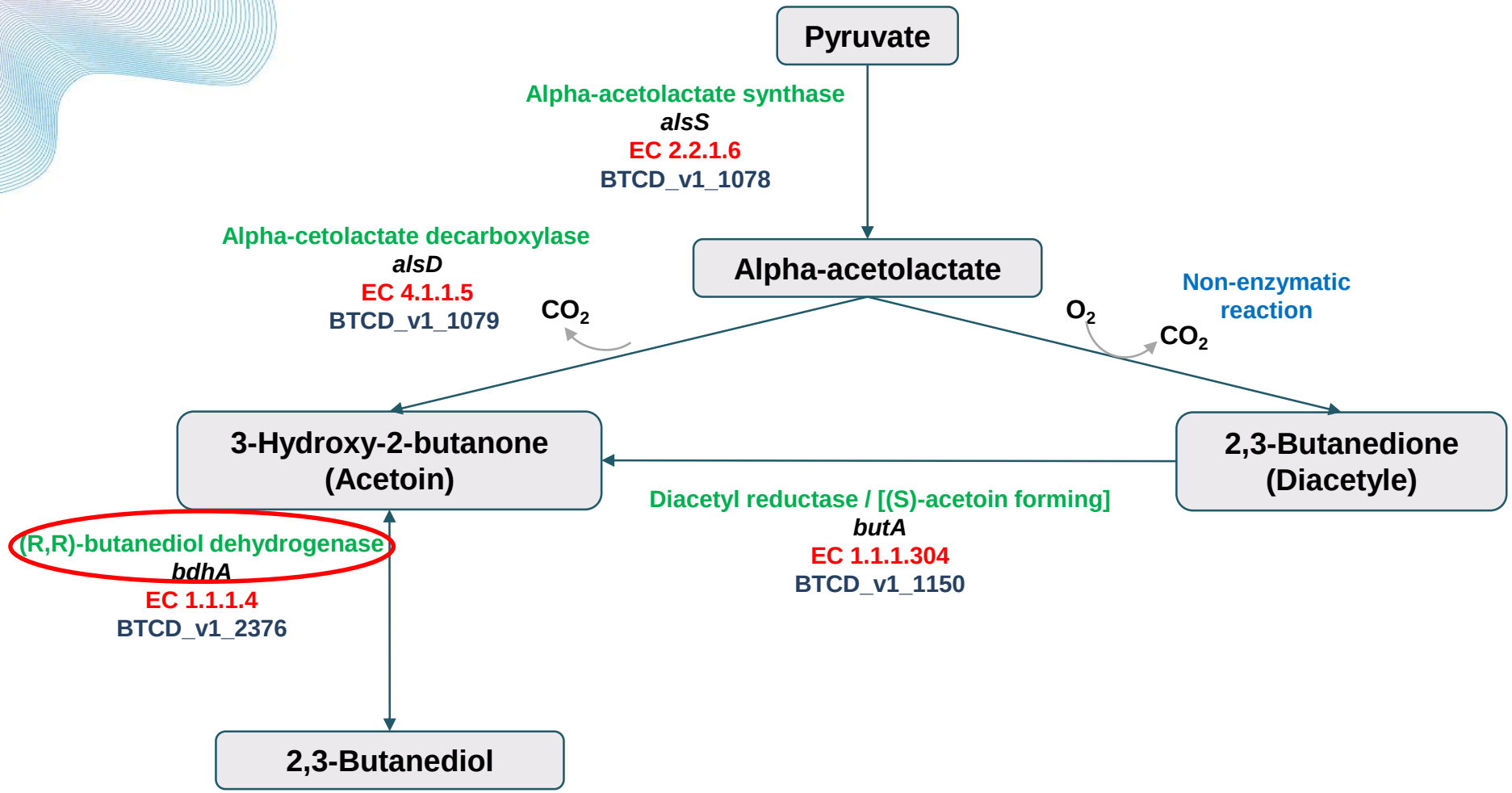
Illikoud et al, 2018. Food Microbiology, https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.015

Génomes proches. Différences de propriétés de surface (adhésion). Différences ponctuelles dans des gènes impliqués dans l'altération.



Illikoud et al, 2018. Standards in Genomic Sciences, https://doi.org/10.1186/s40793-018-0333-z

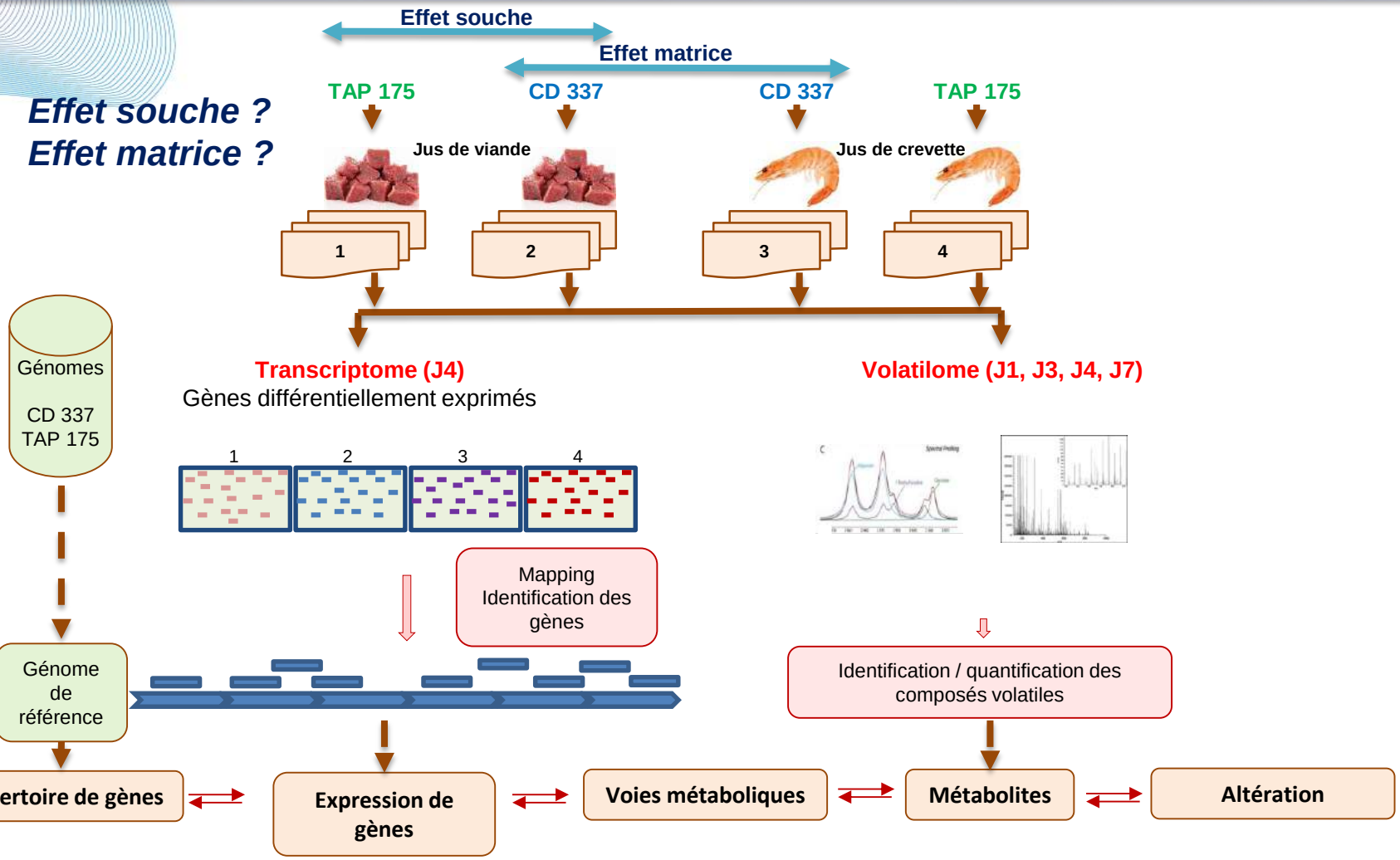
Génomes proches. Différences de propriétés de surface (adhésion). Différences ponctuelles dans des gènes impliqués dans l'altération.



Illikoud et al, 2018. Standards in Genomic Sciences, https://doi.org/10.1186/s40793-018-0333-z

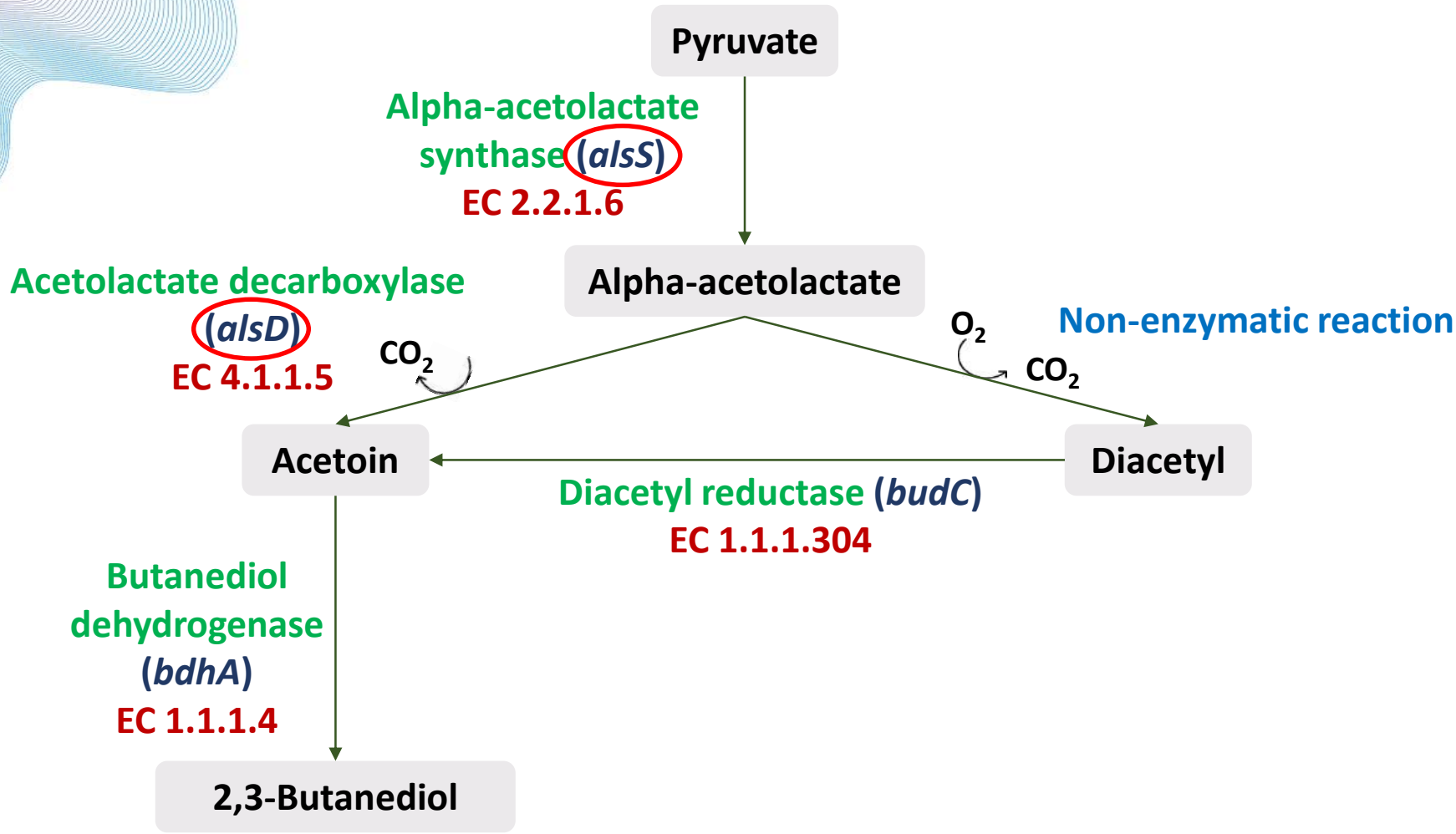
Gènes exprimés différentiellement suivant les souches, les matrices ?

Effet souche ?
Effet matrice ?



Illikoud et al, en préparation

Gènes exprimés différentiellement suivant les souches, les matrices ?
Sur crevette, 1 souche surexprime *alsSD*

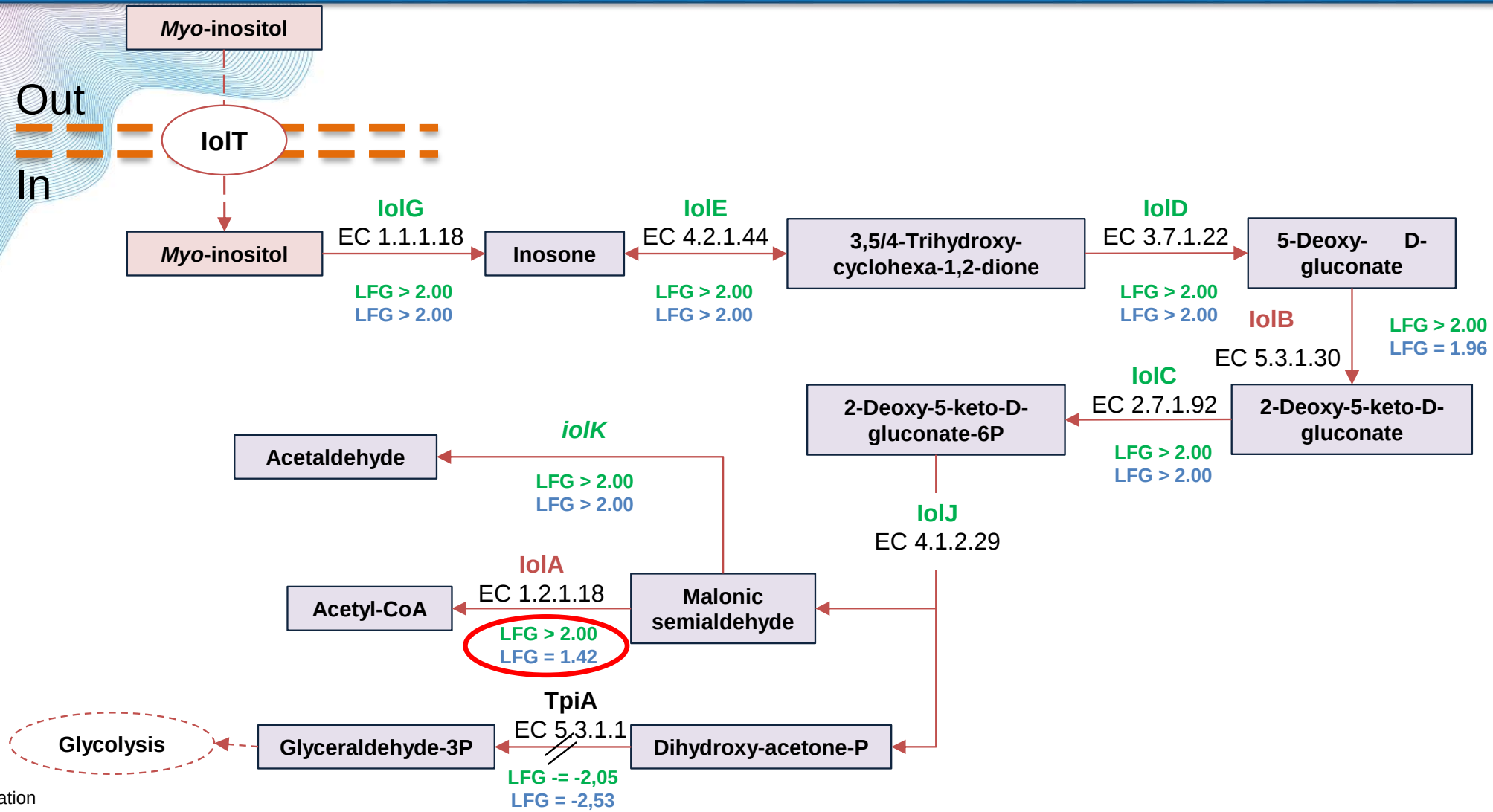


Illikoud et al, en préparation

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

ADIV viande performances ACTIA

Gènes exprimés différentiellement suivant les souches, les matrices ?
Sur viande, surexpression des gènes d'utilisation du myo-inositol, mais ≠



Illikoud et al, en préparation

RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE

FLOREPRO

Saucisses
Quels effets de la réduction de sel?

saucisses

aspect

odeurs

Altération

pH

exsudat

couleur

atmosphere

Analyse sensorielle
physico chimique

UBD

T_0 — T_{21}

8°C

Saucisses

Bactéries

ADN

ARN

16S rRNA pyrosequencing
V1-V3 region

DIVERSITE

qPCR

ABONDANCE

RNAseq

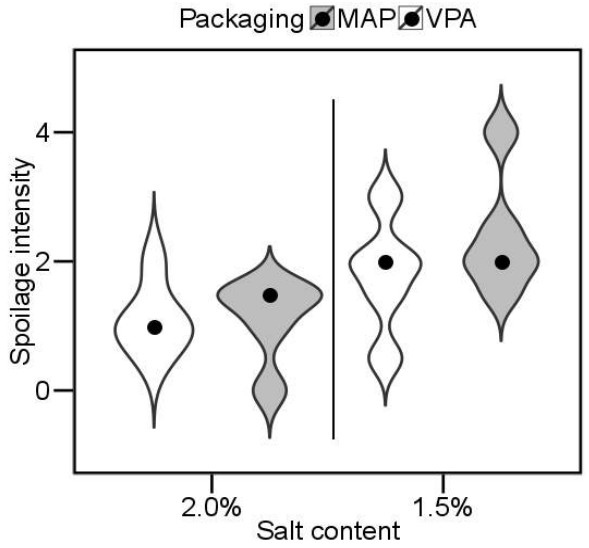
Gènes exprimés/analyse différentielle

ACTIVITES FONCTIONNELLES

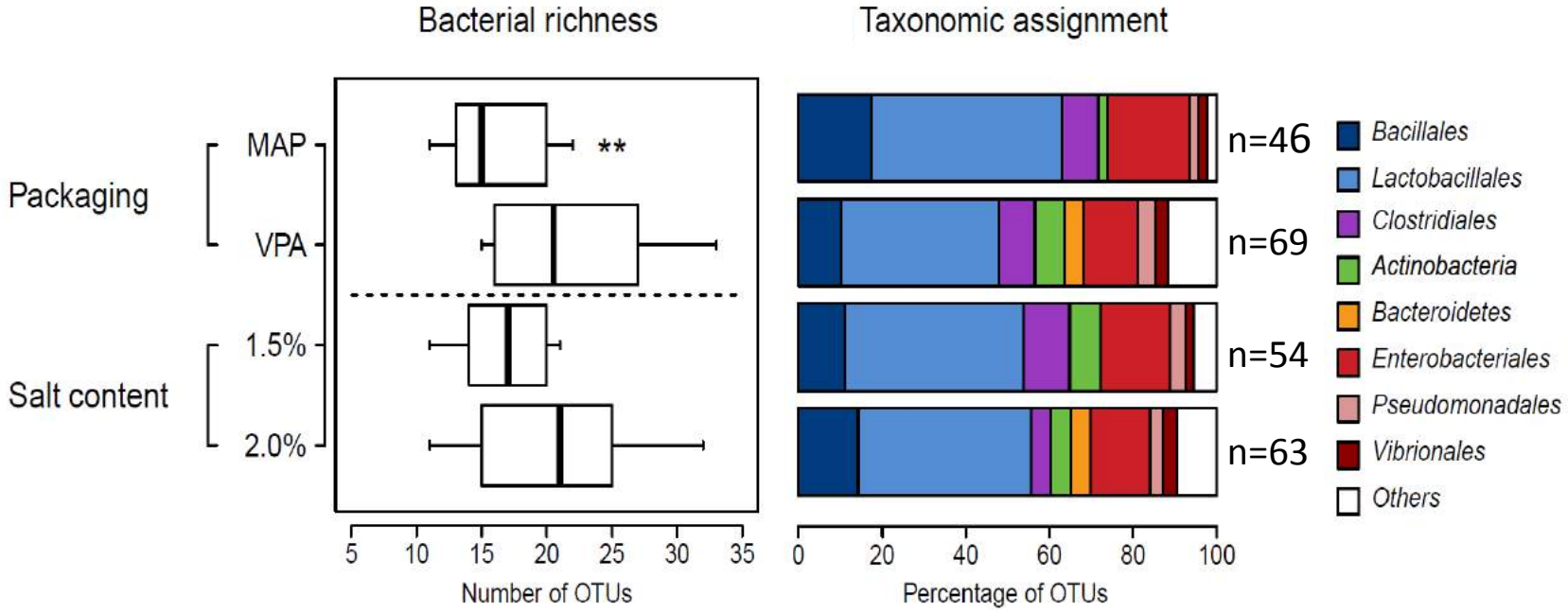
2,0%: sel normal
1,5%: sel réduit
MAP: Atmosphère modifiée (50% CO_2 + 50% N_2)
VPA: Sous vide

L'altération est augmentée quand on diminue le sel et les communautés bactériennes sont affectées

Altération plus prononcée à 1,5% qu'à 2% NaCl
Altération la plus forte à plus basse concentration de sel et sous MAP



Une plus faible richesse dans les échantillons sous MAP
Une plus faible richesse à faible concentration de sel



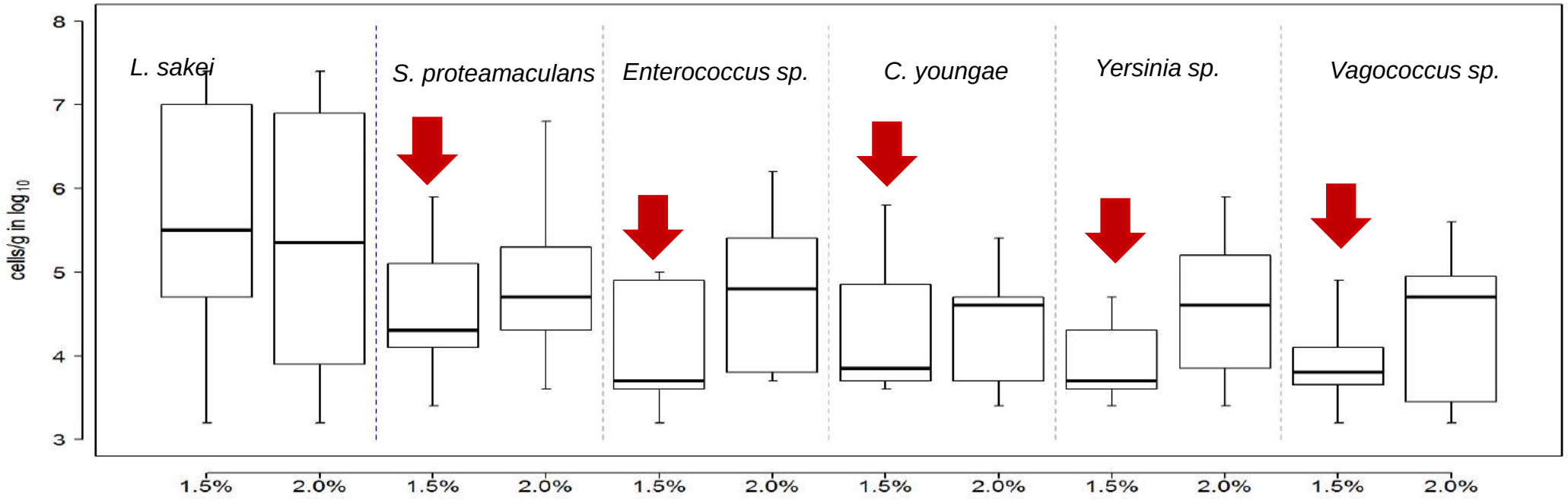
Fougy et al., 2016. App Environ Microbiol. 82:3928-3939

Quelles espèces?

Abondance relative (log_{10} nb reads)

Core principal (frequence : > 90% samples)		Core Secondaire (frequence : > 30% samples)	
5.1	• *Lactobacillus sakei*	• *Lactobacillaceae*	*L. fuchuensis* *L. curvatus* *L. oligofermentans*
	• *Lactococcus piscium*	• *Enterococcaceae*	*E. avium* *E. durans* *V. fluvialis*
	• *Carnobacterium divergens*		*L. carnosum* *L. citreum*
	• *Carnobacterium maltaromaticum*		
	• *Brochothrix thermosphacta*	• *Enterobacteriaceae*	*C. youngae* *E. kobei* *G. quercinecans* *L. amnigena* *Y. kristensenii*
3.9	• *Serratia proteamaculans*		

Une plus faible concentration de sel affecte les espèces sous dominantes

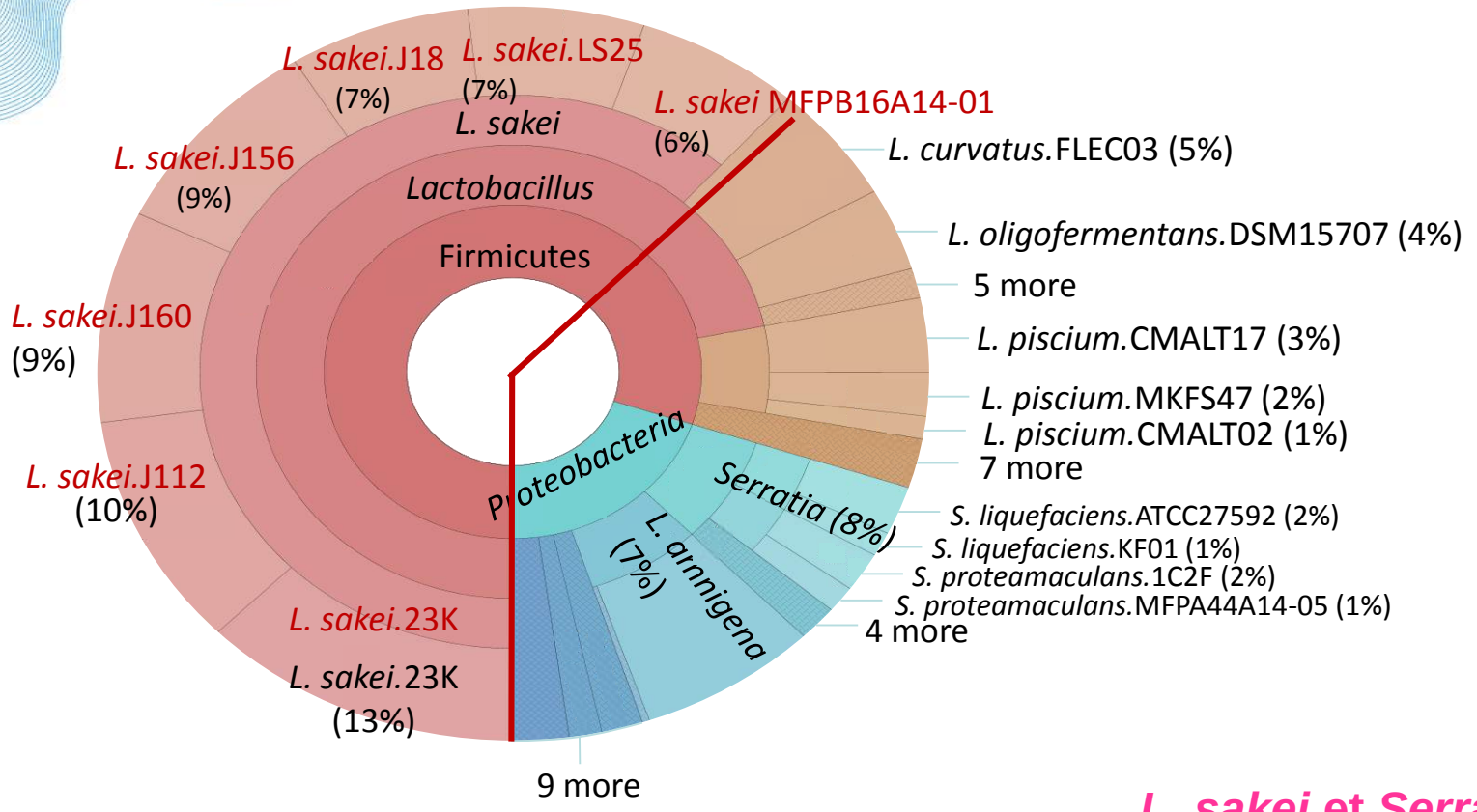


Espèces dominantes Espèces sous dominantes

A teneur en sel reduite, modification du rapport espèces sous dominantes et espèces dominantes

Fougy et al., 2016. App Environ Microbiol. 82:3928-3939

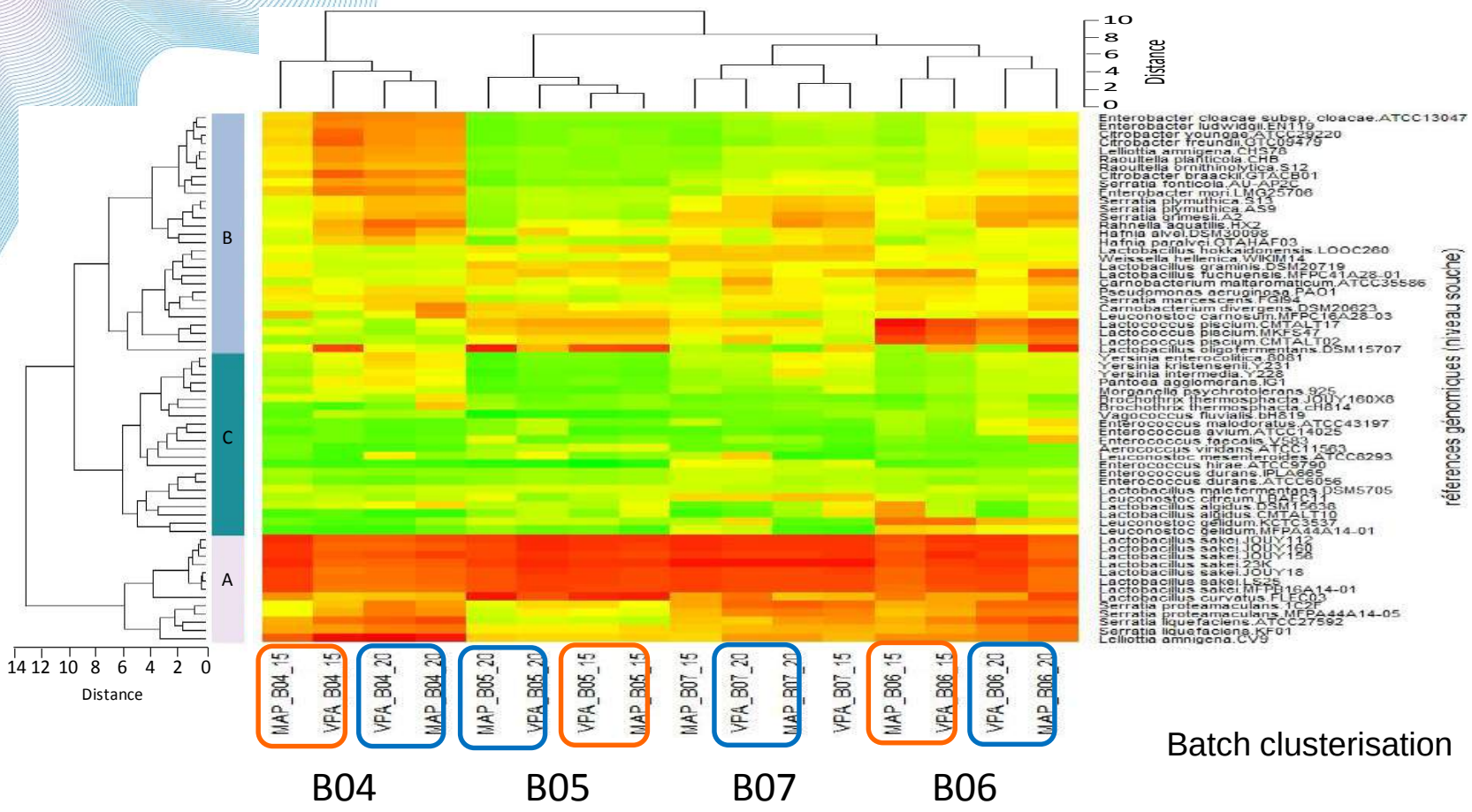
Mais quelles espèces actives?

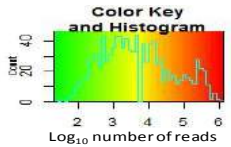


***L. sakei* et *Serratia* les plus actives**

Fougy et al., en préparation

Quels gènes sont exprimés?





B04 B05 B07 B06

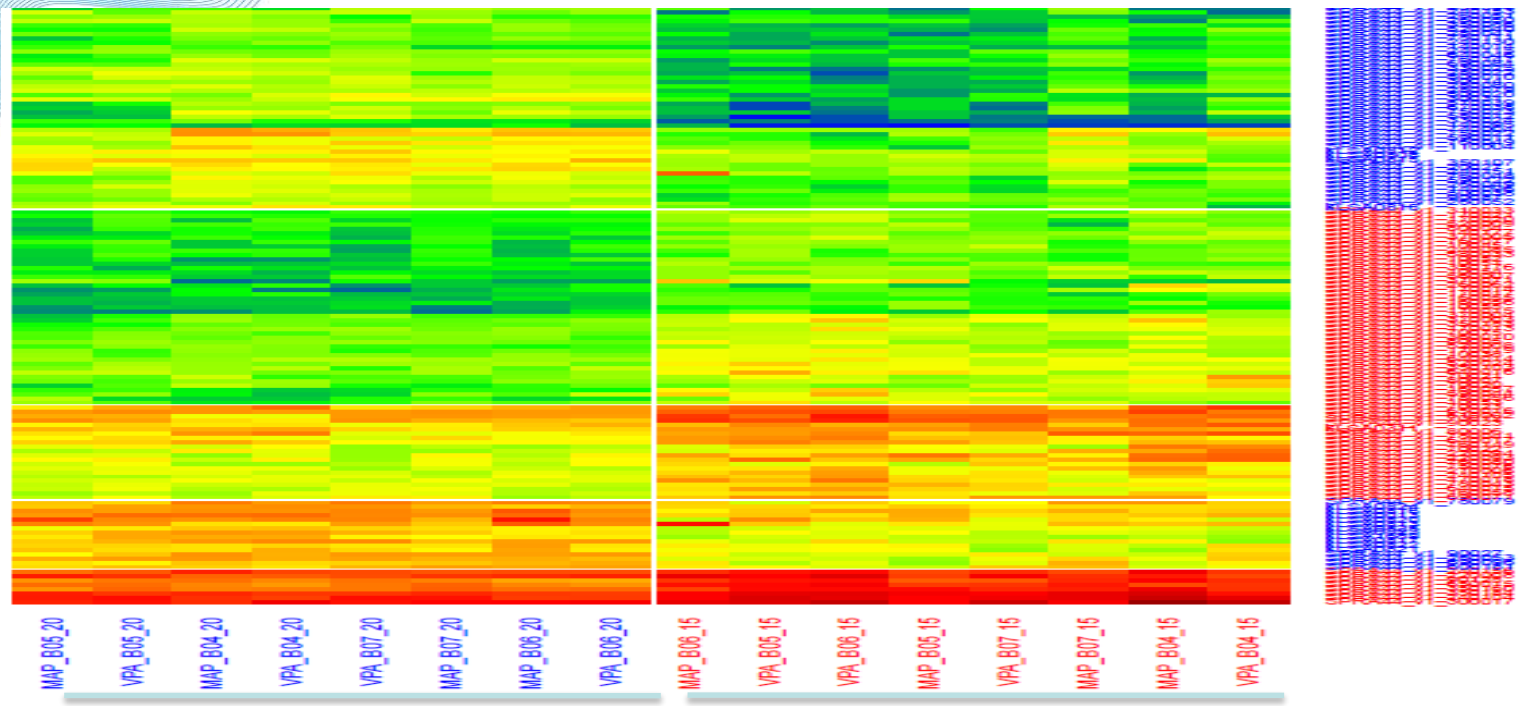
Batch clusterisation

Fougy et al., en préparation

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

ADIV viande performances ACTIA

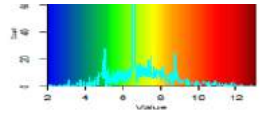
Quels gènes différentiellement exprimés?



2% sel

1,5%sel

Log2 fold of expression



Sous expression à 1,5% sel

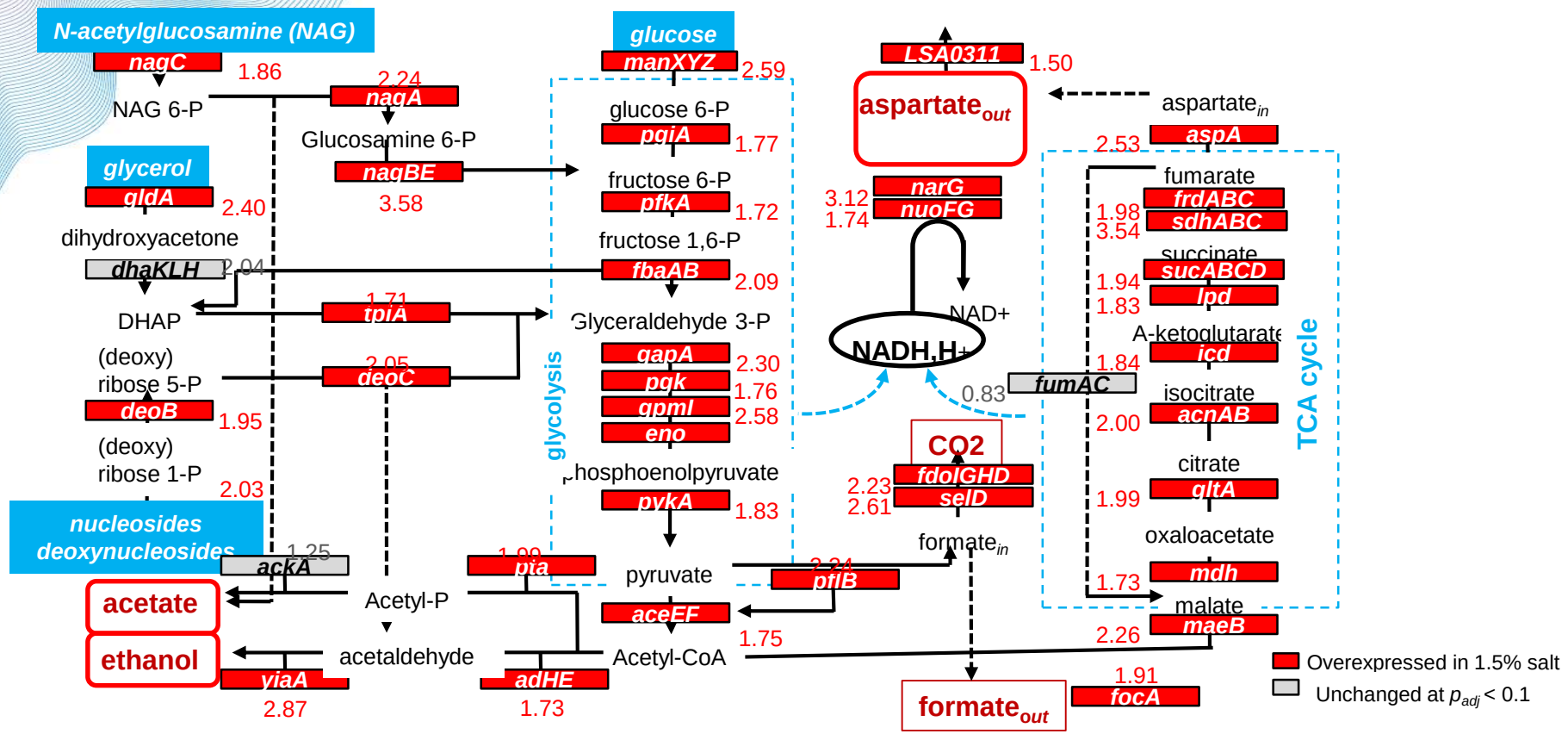
Sur expression à 1,5% sel

Rôle dans l'altération plus forte?

95% des genes différentiellement exprimés appartiennent à l'espèce sous dominante *S. proteamaculans*

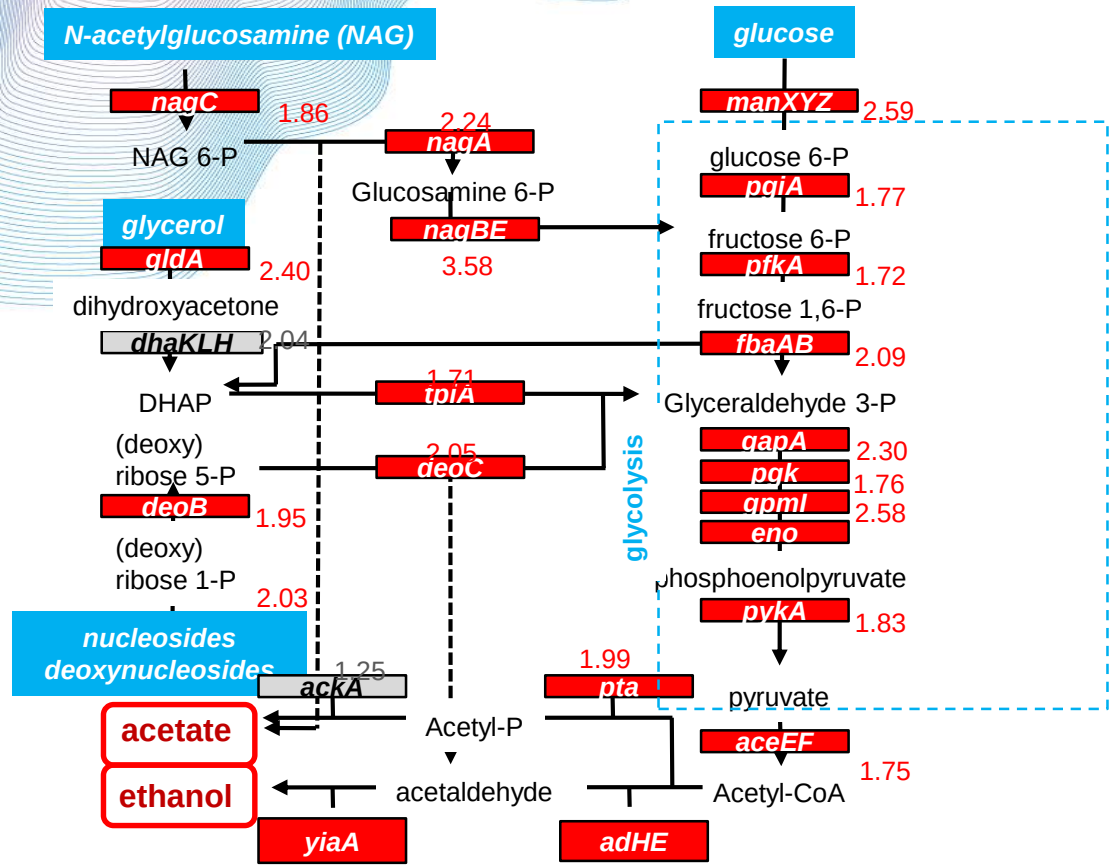
Fougy et al., en préparation

Quelles voies métaboliques?



Fougy et al., en préparation

Quelles voies métaboliques?



4 sources d'énergie

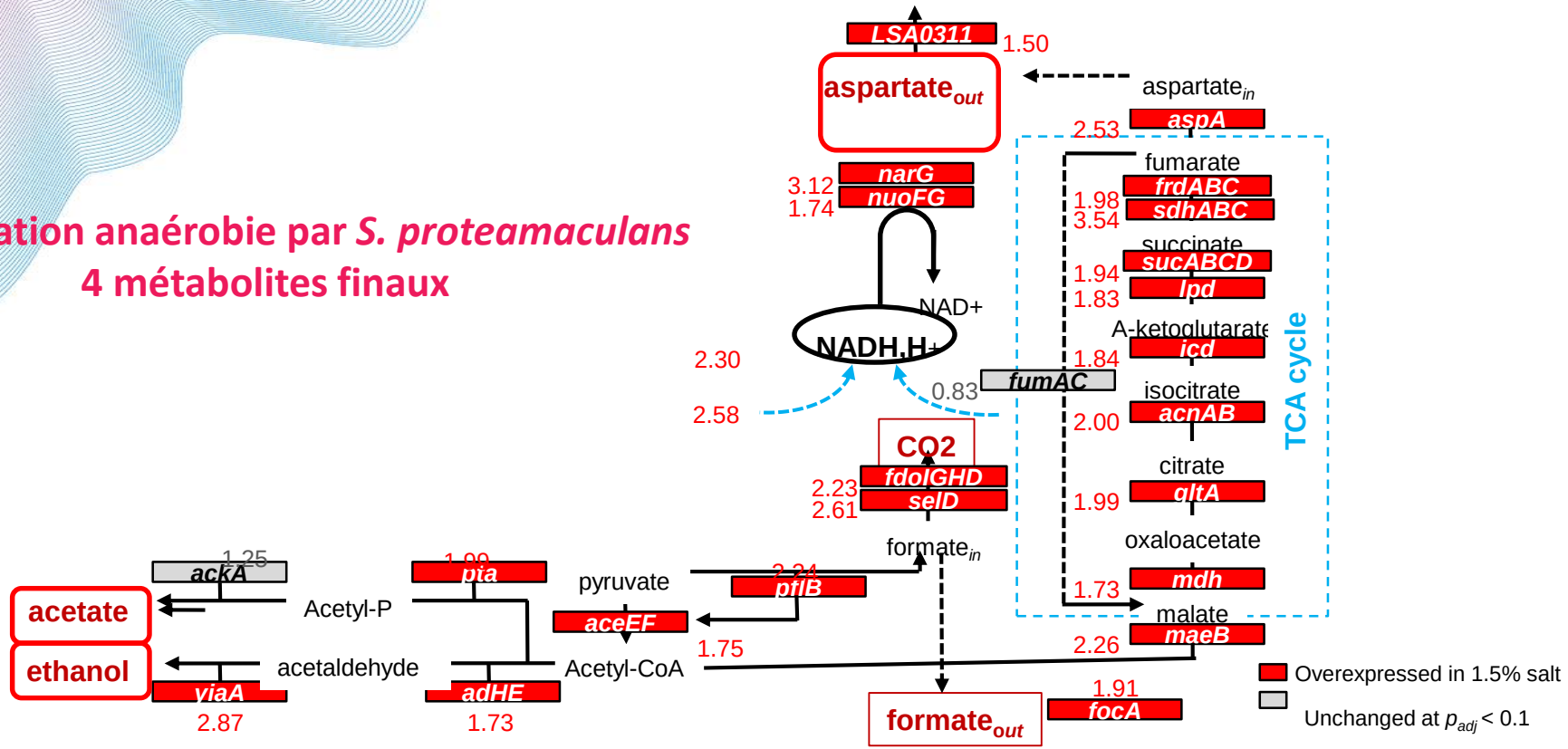
Activité glycolytique plus élevée à 1,5% de sel

Overexpressed in 1.5% salt

Unchanged at $p_{adj} < 0.1$

Quelles voies métaboliques?

Fermentation anaérobie par *S. proteamaculans*
4 métabolites finaux



Conclusions

Altération est un phénomène complexe

Utilisation des « omiques/méta-omiques » permet de le décrypter

B. thermosphacta : substrat procure des métabolites différents

souches expriment des fonctions différentes suivant le substrat, suivant les souches

Saucisses : ***diminuer le sel diminue la diversité bactérienne***

diminuer le sel impacte l'abondance des bactéries sous dominantes

Serratia est sous dominante

Serratia est la plus active à faible concentration de sel

Serratia sur exprime glycolyse à faible concentration de sel (métabolites altérants)

Rôle dans l 'altération pour une espèce sous dominante?

Merci à :

N. Illikoud, E. Jaffrès, A. Rossero, R. Gohier, D. Werner, MGX, GetPlage, Microscope, Genotoul

SecAliM Food Safety & Microbiology INRAE Oniris — Région Pays de la Loire — Université de Nantes — Aérial

L. Fougy, S. Chaillou, G. Coeuret, E. Hamon, B. Hezard, M.H. Desmonts

université Paris-Saclay — Micalis — anrt association nationale recherche technologie — Aérial

RMT RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE FLOREPRO

ADIV viande performances

ACTIA

Journée de restitution du RMT-ACTIA-FlorePro et du projet ANR BlacHP

« Quelles applications de la biopréservation dans les filières agro-alimentaires en France et à l'international »

ACTIA

20 novembre 2018

ifip institut du porc

carole.feurer@ifip.asso.fr

RMT
RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE

FLOREPRO

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

Etude de marché « cultures protectrices dans l'agro-alimentaire »
RMT Florepro –novembre 2014

Contexte

Meilleure connaissance d'utilisation des cultures et de leurs applications pour faciliter leur développement

Objectifs

✓ Quels produits bénéficient de cette technologie en filières produits laitiers, produits de la mer et carnés (référencement)

✓ Pour un produit emblématique / filière, recueillir des informations plus précises concernant :

- L'intérêt d'utilisation de cette technologie pour les industriels
- Leur perception de cette innovation
- Le rapport coût/bénéfice

Résultats marquants

✓ Filière produits carnés

Marché le plus important

Le magret de canard : cultures bactériennes majoritairement utilisées.

✓ Filière produits de la mer

Marché d'avenir, en particulier le saumon (fumé). Fort potentiel de développement selon producteurs de ferments même si peu appliqué en 2014

✓ Filière produits laitiers

Utilisation ambiguë des cultures bactériennes : cultures starter *vs* de biopréservation

✓ Coût

Entre 3 et 5 cts d'euros / Kg de matière fraiche

✓ Etiquetage

« ferments » dans la liste des ingrédients entrant dans la composition du produit.

Etude de marché « cultures protectrices dans l'agro-alimentaire »
Focus produits

Le magret de canard fumé (4 interviews / 3 en France)

- ✓ Pas de modifications organoleptiques associées
- ✓ Utilisation aisée
- ✓ Cible : lutte contre bactéries pathogènes et augmentation de la DLC
- ✓ Freins: absence de règlementation et coût d'utilisation

Le Saumon fumé (9 interviews/ 5 en France)

- ✓ Technologie encore mal connue dans ce secteur
- ✓ Modifications organoleptiques fortes lors des pré-essais pour 2 entreprises
- ✓ Moyens de maîtrise actuels estimés suffisants pour contrôler les bactéries pathogènes et assurer des DLC Convenables
- ✓ Marché de la biopréservation important en Scandinavie

Quid de la règlementation en France

- Absence de règlementation régissant l'usage des cultures bactériennes à des fins de préservation des aliments

- Code des usages de la charcuterie :
  - depuis 1997 : autorise l'intégration des ferments dans de nombreuses fiches produits sans précision écrite du rôle technologique
  - A ce jour, peuvent être utilisés dans 80 fiches produits / 112
    Dans la liste des ingrédients : *« ferments » +/- dénomination usuelle*

- Des entreprises ont reçu la validation des services vétérinaires dont elles dépendent pour certaines applications

Exemples d'application des cultures protectrices en France

Filière	Microorganismes cibles	Bactéries inhibitrices	
Fromages frais ou affinés	*S. aureus* *L. monocytogenes* *E coli* STEC *Salmonella* Levures/moisissures Bactéries hétérofermentaires	Bactéries lactiques Bactéries corynéformes	Souches protectrices ≠ levains lactiques ou d'affinage Ferments commerciaux disponibles

Mode d'application :

Dans le lait en tant que ou avec levains lactiques
Dans la saumure ou les solutions de frottage lors des soins de croûte

Exemple de ferment commercial
Application fromage

DUPONT
DANISCO.

Product	Benefit	Application
HOLDBAC® YM-C Plus HOLDBAC® YM-B Plus	Growth control of yeasts and molds and some heterofermentative lactic bacteria	Fresh fermented foods White cheese
HOLDBAC® LC	Growth control of leuconostoc, heterofermentative lactobacilli and enterococci	Hard and semi-hard cheese
HOLDBAC® Listeria	Growth control of Listeria	Soft and smear cheese, dry and semi-dry cured meats, cooked and fresh ground meats
HOLDBAC® YM-XPK	Growth control of Yeast and Mold spoilage	All cheese types

HOLDBAC™ Listeria 10 IP est un ferment de protection ayant une activité inhibitrice contre la listeria, et un pouvoir acidifiant faible. Il étend son action dès le début de l'application.

Lactobacillus plantarum

Pureté et législation

HOLDBAC™ Listeria 10 IP répond aux exigences définies par la législation européenne.

Les règlementations d'étiquetage alimentaires doivent être systématiquement consultées quant au statut de ce produit ; la législation liée à l'utilisation dans l'industrie alimentaire pouvant varier d'un pays à l'autre.

PARIS NORMANDIE

jeudi 16 novembre 2017
Édition(s) : Vernon - Les Andelys - Gisors, Pays de Caux, Grand Rouen, Dieppe - Pays de Bray, Evreux - Louviers - Bernay - Pont-Audemer...
Pages 21-5
569 mots

Les bactéries d'un camembert normand examinées par le Conseil d'État

Consommation La Direction de la consommation de la Manche reproche à la laiterie fromagerie du Val d'Ay l'utilisation de deux bactéries pour la fabrication de ses camemberts.

Une bataille bactériologique au conseil d'État ! À la demande de la Direction générale de la concurrence de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF), le contentieux qui l'oppose à la**Laiterie Fromagerie du Val d'Ay**, installée à **Lessay** (Manche), depuis 2015 a connu sa dernière manche tout récemment, à Paris. Depuis le 8 janvier 2015, date d'un premier contrôle, la DGCCF reproche à la laiterie fromagerie, solidement implantée et porteuse de 85 emplois, l'utilisation de deux bactéries pour la fabrication de ses camemberts d'Appellation d'origine protégée (AOP).

Deux bactéries?au centre du différend

Un fait parfaitement assumé par l'entreprise. Les techniciens de la DGCCRF considèrent que l'emploi des bactéries *Carnobacterium divergens* et *Lactobacillus platorum* n'est pas légal, pour la raison qu'elles ne figurent pas dans la liste officielle des additifs autorisés par la législation. Leur conclusion est sans appel : ces deux bactéries sont prohibées par l'AOP.

En janvier 2015, ce constat avait valu à la Laiterie Fromagerie du Val d'Ay, un simple avertissement. La laiterie affirme au contraire que ces deux bactéries ne sont pas des additifs introduits dans la mise en forme du camembert pour apporter ou améliorer une propriété spécifique, mais des souches permettant de lutter contre la listéria (pathogène pour les humains qui provoque la listériose).

Deux ans après ce premier avertissement, en avril de cette année, la DGCCRF est revenue à la laiterie fromagerie pour procéder à de nouveaux prélèvements. Constatant que les deux bactéries en cause étaient toujours utilisées, le ministère de l'Économie a enjoint la laiterie fromagerie de ne plus les utiliser pour la fabrication des camemberts AOP, avec un délai de deux mois pour s'exécuter.

La DGCCRF conteste l'utilisation de deux bactéries dans la fabrication du fromage

La DGCCRF conteste l'utilisation de deux bactéries dans la fabrication du fromage Photo : Image (2291993)

Persistant dans sa démonstration de «*produit non additif*», l'entreprise de Lessay a saisi le tribunal administratif de **Caen**, qui, le 11 juillet dernier, lui a donné raison en suspendant l'exécution de la décision du directeur départemental de la protection des populations de la Manche. Décision que la DGCCRF a donc contestée à Paris.

« Pas une question?de santé publique »

Pour le rapporteur public du Conseil d'État, le tribunal administratif de Caen n'a pas commis d'erreur car «*l'ajout des bactéries neutralisant la listeria ne peut être assimilable à un additif faisant fonction de conservateur*». Après avoir rappelé que «*les bactéries contestées n'avaient pas de caractère offensif et qu'en aucun cas elles ne pouvaient être assimilées à un traitement thermique supérieur à 30° (ce qui est interdit)*», le magistrat parisien a indiqué que l'innocuité des bactéries n'était pas contestée par la DGCCRF et que, par conséquent, «*il ne s'agissait pas d'une question de santé publique*». Raison de plus pour autoriser «*la culture de bactéries inoffensives qui ne sont pas des additifs*».

On saura dans les semaines à venir si sa conclusion tendant au rejet du pourvoi de la Direction générale de la concurrence de la consommation et de la répression des fraudes est prise en considération.

ALP■

par Alp

Tous droits réservés Paris-Normandie 2017

3F1EE28730C4FE50D6F274C84F09D13A6BEBA43D56399AC128B3DB9

ADIV viande performances

ACTIA

NSERVATION DES ALIMENTS :
IONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

Camembert AOP de Normandie

Lb plantarum et *C. divergens*

Cible : *Listeria monocytogenes*

Filière	Microorganismes cibles	Bactéries inhibitrices	
Produits carnés fermentés (salaison)	*S. aureus* *L. monocytogenes* *Salmonella*	Lactobacilles, *Enterococcus* Staphylocoques à coagulase négative	Ferments technologiques
Produits carnés non fermentés	*L. monocytogenes* *B. thermosphacta* *Bactéries lactiques altérantes*	Lactobacilles, *Enterococcus,* *Pediococcus*	Ferments commerciaux disponibles

Modes d'application :
Pulvérisation ou ajout dans la mêlée en fonction de la technologie du produit

Exemples d'application pour les produits non fermentés

Jambon cuit sous vide
Saucisse ou merguez fraîche
Magret de canard séché, noix de bœuf séché, knacks,…

Exemples de ferments commerciaux

Leuconostoc carnosum, Pediococcus acidilactici
Lactobacillus curvatus
Lactobacillus sakei

Filière carnée : Exemples d'étiquetage

Magrets de canard

Saucisses émulsifiées

Jambon cuit

*Sans nitrite (E250) ajouté, cependant contient des nitrites d'origines végétale pour assurer la bonne conservation du produit.

Ingrédients : Jambon de porc, sel, bouillon (eau, os de porc, viande de porc, épices), dextrose de maïs, jus concentrés (**céleri** , betterave jaune, blette et carotte), ferments, antioxydant : ascorbate de sodium.

Valeurs nutritionnelles moyennes	Énergie	Matières grasses	dont acides gras saturés	Glucides	dont sucres	Protéines	Sel
Pour 100 g	490 kJ / 116 kcal	2,8 g	1,0 g	0,7 g	0,7 g	22 g	1,8 g
Par tranche de 40 g	196 kJ / 46 kcal	1,1 g	0,4 g	<0,5g	<0,5 g	8,8 g	0,72 g

Exemple de ferment commercial Application produits carnés

CHR. HANSEN
Improving food & health

B-LC-48
Product Information

Lactobacillus curvatus

Applications produits:
- produits carnés cuits ou saumurés

Modes d'application:
- trempage, pulvérisation pour les produits tranchés et saucisses émulsifiées
- Dans la mêlée pour les saucisses fraîches saumurées et saucisses à tartiner
- Dans la solution de salage ou sur le produit fini pour les produits crus saumurés

Cibles:
- Inhibition de la croissance de *L. monocytogenes*
- Inhibition de la croissance des flores d'altération (ex.: bactéries lactiques)

Legislation	Chr. Hansen's cultures comply with the general requirements on food safety laid down in Regulation 178/2002/EC. Lactic acid bacteria are generally recognized as safe and can be used in food, however, for specific applications we recommend to consult national legislation.

Filière	Microorganismes cibles	Bactéries inhibitrices	
Produits de la mer	*L. monocytogenes* Bactéries productrices d'histamine Bactéries altérantes	*Carnobacterium*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*	Ferments commerciaux disponibles

Exemples d'application :

Saumon fumé : *L . monocytogenes*
Thon, anchois, … : histamine
Crevettes : allongement de la DLC

Modes d'application :

Pulvérisation ou immersion (saumure)
Par injection ou lors du salage

Exemple de ferment commercial
Application produits de la mer

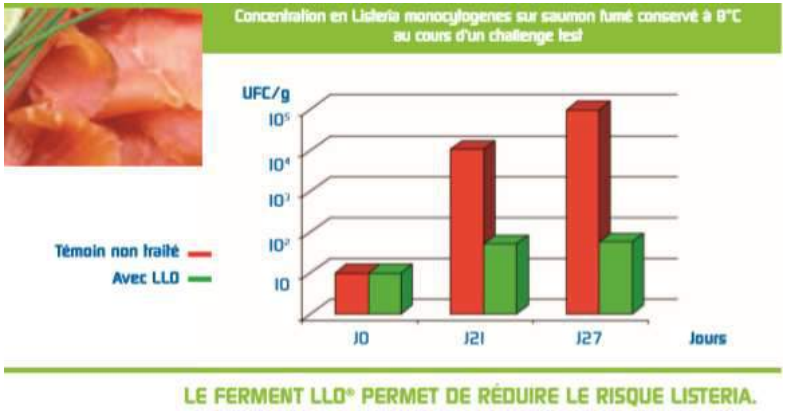
Modes d'application:
- Dans la saumure destinée à être injectée
- Dans la solution de salage
- Pulvérisation en surface des produits

***Carnobacterium* producteur de bactériocine**

Cible :
Contrôle de la croissance de *Listeria monocytogenes* dans les produits de la mer, comme le saumon fumé

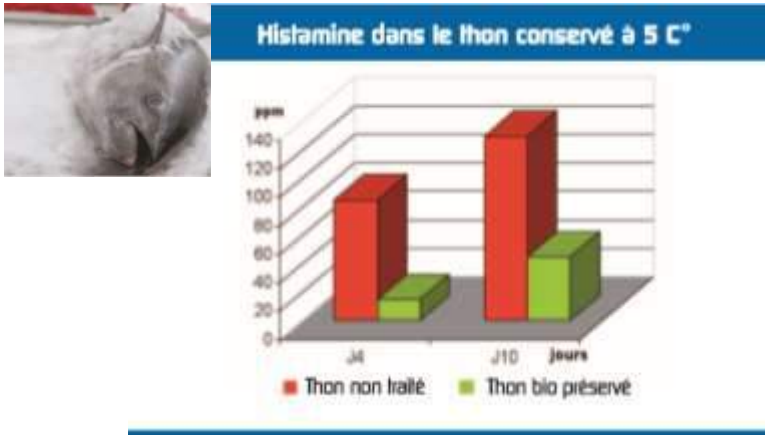
Photo Sacco System

Exemple de ferment commercial
Application produits de la mer



Lactococcus lactis
Ne produit pas de bactériocine

Cibles :
- Contrôle de la croissance de *Listeria monocytogenes*
- *Augmente et/ou sécurise la DV des produits en ralentissant le développement des flores d'altération*
- *Limite la production d'histamine*



Filière	Microorganismes cibles	Micro-organisme inhibiteur	
Grains et semences Fruits et légumes crus post récolte Végétaux transformés fermentés ou non	*L. monocytogenes, E. coli, Salmonella* Bactéries sporulées psychrotrophes Bactéries altérantes *(B. subtilis, B. licheniformis)* Moisissures (mycotoxines) Levures	Bactéries lactiques (*Lb. rhamnosus, Lb, plantarum, Lb sakei, Lb. brevis*) *Bacillus cereus, B. subtilis* Levures et moisissures antagonistes (*Pichia*, *Aureobasidium*, *Penicillium*)	Ferments commerciaux disponibles

Exemples d'application :
Pêches : Pourriture brune (*Monilinia fructicola*)
Fruits à pépins: Pourriture grise (*Botrytis cinerea*)
Salades traiteur : *L . monocytogenes*

Modes d'application :

Pulvérisation, immersion, trempage dans les eaux de lavage

Exemple de ferment commercial Application produits végétaux

CHR HANSEN
Improving food & health

SafePro® RTE
Product Information

Lactobacillus curvatus

Applications produits :
- Aliments prêts à manger réfrigérés sous atmosphère modifiée ou sous vide
- En particulier, salades, fruits et légumes

Mode d'application:
- trempage, pulvérisation

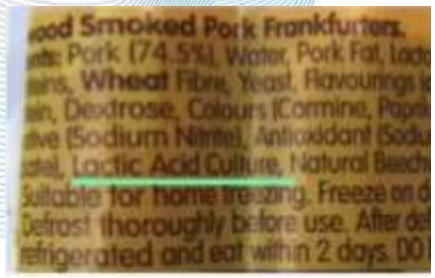
Cibles :
- Contrôle de la croissance de *Listeria monocytogenes*
- *Augmente et/ou sécurise la DV des produits en ralentissant le développement des flores d'altération*

Filière végétale : Exemples d'étiquetage

Salades traiteur

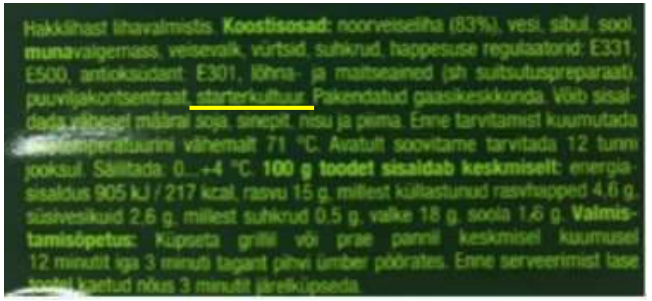
Et à l'international

Saucisses émulsifiées en Grande Bretagne

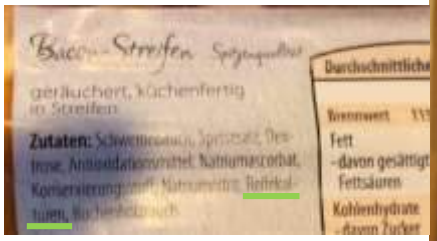


GEA Group

Burgers en Pologne et en Espagne

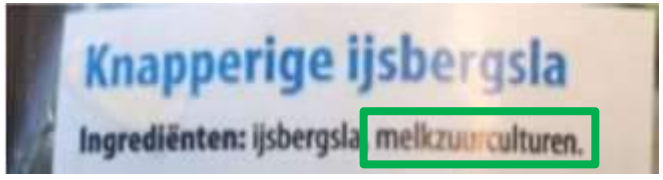


Lardons en Allemagne

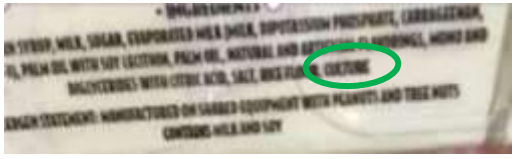


Et à l'international

Laitue Iceberg aux Pays-Bas



Pommes au caramel aux USA



Et à l'international

GRIZZLY

Fumoir grizzly – Canada (Quebec)
- Culture de *Carnobacterium divergens* et sa bacteriocine *Bac M35*

Application :
- bioconservation des produits de saumon et de truite fumés
- Volonté d'étendre l'application aux végétaux et produits carnés

Cible :
Listeria monocytogenes

Règlementation :
- homologuée par Santé Canada
- Demande d'homologation en cours aux USA et Europe

MERCI POUR VOTRE ATTENTION