

Résultats de recherche 2024



**Incidence de la nature de
l'acidifiant sur la stabilité des
produits acides pasteurisés**

Projet MICACIDES

Crédit photo : Pixabay

Nathalie PANIEL

CTCPA Avignon
Service Documentation
449, av. Clément Ader - BP 21203
84911 AVIGNON CEDEX 9
Tél. : 04 90 84 17 09 - doc@ctcpa.org

Établissement reconnu d'utilité publique par arrêté ministériel du 11 octobre 1950.
Le CTCPA est qualifié Institut Technique Agro-Industriel par le Ministère de l'Agriculture par arrêté du 22 décembre 2022.

JUIN 2025

CONTEXTE ET ENJEUX

Les tendances actuelles dans le domaine de la fabrication des conserves visent à réduire la cuisson et les traitements thermiques des aliments afin de préserver leurs qualités organoleptiques et nutritionnelles tout en garantissant leur sécurité sanitaire.

Dans cette optique, certains produits acides sont uniquement traités par pasteurisation (traitement thermique réalisé à température réduite inférieures à 100°C) et leur stabilité à température ambiante résulte de la combinaison d'une pasteurisation et d'un pH acide < 4,5 : soit naturellement acide, soit obtenu par une acidification volontaire.

Historiquement, cette limite de pH a été définie par rapport au risque botulique, *Clostridium botulinum* ne pouvant pas se développer en dessous d'un pH de 4,6.

Or d'autres germes sporulés, acidotolérants, ont la capacité de se développer à partir de leurs spores, à des pH inférieurs. Le plus représentatif est *Bacillus coagulans*, germe ayant été observé par le CTCPA dans des produits appertisés non-stables jusqu'à des pH de 4,2.

Cependant, les industriels sont limités, pour l'acidification artificielle des produits, par des barrières organoleptiques : il est souvent difficile d'abaisser le pH aux valeurs cibles souhaitées, à l'aide de vinaigre ou d'autres acides organiques tels que les acides citrique, malique, acétique ou lactique, à cause d'un impact organoleptique trop fort.

Toutefois, la nature de l'acidifiant utilisé semble jouer un rôle, à pH d'équilibre identique, sur la stabilité des produits obtenus : phénomène peu documenté mais observé empiriquement par les industriels conserveurs.

OBJECTIFS

Le projet PASTA-MICACIDES s'est donc intéressé à l'impact de différents acides organiques (acide citrique, acide lactique et acide acétique) (i) sur la thermorésistance des spores des bactéries sporulées d'altération les plus souvent rencontrées parmi les produits végétaux acidifiés (*Bacillus coagulans*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus macerans*) et du surrogate du pathogène *Clostridium botulinum* (*Clostridium botulinum* like), et (ii) sur la stabilité post pasteurisation de produits acides (pH cibles 4,4 ; 4,6 et 4,8) à base de légumes transformés.

La question posée étant : la nature de l'acide organique utilisé influe-t-elle sur la stabilité des produits acidifiés pasteurisés, à pH d'équilibre équivalent, et cela en fonction des germes d'altération responsables de cette non-stabilité ?

La démarche expérimentale consistait en la préparation d'une matrice modèle de type coulis de ratatouille puis, en son acidification avec les trois acides (lactique, acétique et citrique) retenus pour l'étude avec trois cibles de pH (4,4 ; 4,6 et 4,8) pour chacun des acides.

Des pré-essais ont été réalisés afin, d'une part, de déterminer précisément les volumes des différents acides à introduire pour chacune des valeurs cibles de pH, et d'autre part de s'assurer de la stabilité du pH au cours du temps.

Des déterminations des thermorésistances des différentes souches retenues pour l'étude ont également été réalisées dans le but de pouvoir par la suite, calculer et appliquer un barème de traitement thermique qui permettait en théorie d'obtenir une réduction maîtrisée de la population de spores (cible : 2 log spores/100 mL) restantes, inoculées dans la matrice modèle de type coulis de ratatouille.

RÉSULTATS

L'étude de l'impact du couple [pH ; nature de l'acidifiant] sur les spores de *Bacillus coagulans*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus macerans* et de *Clostridium botulinum* like a montré qu'il existe des différences de sensibilité à l'acidification, pour la fonction attendue d'inhibition de germination des spores, dans la zone entre pH 4,0 et 4,9 qui est connue pour constituer la « frontière » de pH (usuellement pH 4,5) entre les produits acides / non-acides :

La matrice support « coulis de ratatouille » a été stérilisée afin de laisser les inoculums sans flores de compétition. Tous les échantillons inoculés ont été ensuite pasteurisés afin de laisser volontairement une contamination résiduelle en spores d'environ 2 log UFC/g.

- Entre les souches : la germination de certaines souches de spores est inhibée dans la fourchette de pH 4,18 à 4,9 avec des comportements différents, propres à chaque souche. Certaines souches testées présentent une plus ou moins forte tolérance à l'acidification. Cela conforte la cible de pH = 4,2 recommandé par le CTCPA pour les produits appertisés acidifiés soumis à pasteurisation pour conférer la stabilité à l'ambiance.
- En fonction de l'acidifiant utilisé : on observe des différences peu marquées (à pH identique ou très voisin) pour la fonction inhibitrice de germination. Ces petites différences sont peut-être en relation avec le niveau de dissociation de l'acide en fonction du pH. Les acides présentent des pKa légèrement différents. Dès le pH cible de 4,4 et en dessous, plus aucune non-stabilité n'a été observée dans nos conditions d'étude, quel que soit l'acidifiant utilisé.

Les résultats des tests de stabilité sont synthétisés dans le tableau ci-dessous

Dans le cas de *Bacillus coagulans*, Seule l'acidification de la matrice avec l'acide citrique pour des pH compris entre 4,49 et 4,89 a permis l'obtention d'un produit stable à l'ambiant. Tandis que pour la matrice acidifiée avec l'acide lactique et l'acide acétique, seule une valeur de pH de 4,76 et 4,80 respectivement permettait la stabilité de la matrice.

Des non-stabilités pour 28 échantillons sur 39 et 26 échantillons sur 36 ont été obtenues lorsque le pH de la matrice avait été ajusté à 4,93 et 5,03 respectivement avec de l'acide lactique. La même observation a été faite dans le cas de la matrice dont le pH avait été acidifié à 4,93 et 5,10 avec de l'acide acétique avec 35 et 27 non-stabilités sur 35 échantillons respectivement.

Pour *Bacillus pumilus*,

Lorsque l'acidification de la matrice a été réalisée avec l'acide citrique, seul un pH de 4,18 permettait d'obtenir la stabilité de la matrice au cours du test de stabilité.

En revanche, lorsque les pH étaient de 4,39 et 4,59 des non-stabilités ont été observées pour 1 et 3 échantillons sur 35 respectivement.

Lorsque l'acidification avait été réalisée avec l'acide lactique, la stabilité avait été obtenue lorsque le pH était de 4,45 et 4,58. Toutefois, 10 échantillons sur 35 avaient été déclarés non-stables lorsque le pH était ajusté à 4,75.

Dans le cas d'une acidification avec de l'acide acétique, seul un pH de 4,41 a permis d'obtenir la stabilité des échantillons. Alors que pour des pH de 4,52 et 4,79, 1 et 27 échantillons sur 35 respectivement étaient non-stables.

- Les échantillons inoculés avec ***Paenibacillus macerans*** et acidifiés avec de l'acide citrique étaient tous stables à pH 4,5.

Cependant, pour un pH de 4,70 et 4,90, 1 et 3 non-stabilités sur 35 échantillons respectivement ont été mises en évidence. Lorsque l'acidification avait été réalisée avec de l'acide lactique ou avec de l'acide acétique, aucune non-stabilité n'avait été détectée pour des pH compris entre 4,50 et 4,90.

- Enfin, la germination de ***Clostridium botulinum* like** n'a pas été mise en évidence pour les trois acides lorsque le pH des matrices était de 4,5, 4,70 et 4,90.

Résumé des résultats des tests de stabilité suivant la norme NF V-08 401 réalisés sur les matrices type « coulis de ratatouille », acidifiées avec de l'acide citrique, de l'acide lactique ou de l'acide acétique pour atteindre des pH cibles de 4,4 ; 4,6 ou 4,8 et inoculées avec des spores de *Bacillus coagulans*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus macerans* et *Clostridium botulinum* like.

Spores	pH de croissance	Acide citrique						Acide lactique						Acide acétique					
		4,4		4,6		4,8		4,4		4,6		4,8		4,4		4,6		4,8	
		T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E
<i>Bacillus coagulans</i>	4,2 - 8,5	4,49	4,52	4,70	4,71	4,89	4,91	4,76	4,73	4,93	4,63	5,03	4,56	4,80	4,74	4,93	4,59	5,10	4,54
											28/39		26/36				35/35		27/35
<i>Bacillus pumilus</i>	5,0 - 9,0	4,18	4,18	4,39	4,84	4,59	4,11	4,45	4,39	4,58	4,53	4,75	4,19	4,41	4,35	4,52	4,06	4,79	4,80
				1/35		3/35							10/35				1/35		27/35
<i>Paenibacillus macerans</i>	5,0 - 9,5	4,5	4,50	4,70	4,70	4,90	4,90	4,50	4,50	4,70	4,70	4,90	4,90	4,50	4,50	4,70	4,70	4,90	4,90
				1/35		3/35													
<i>Clostridium botulinum</i> like	4,6 - 9,0	4,5	4,50	4,70	4,70	4,90	4,90	4,60	4,50	4,70	4,70	4,90	4,90	4,50	4,50	4,70	4,70	4,90	4,90

Présence de non-stabilité observées : (ENS/ET) : nombre d'Echantillons Non-Stables / nombre d'Echantillons Total

Pas de développement : produit stable à l'incubation

T pH Témoin à 25°C durant 21jours

E pH Echantillons incubés à 32°C durant 21jours

CONCLUSIONS

L'étude de l'impact du couple [pH ; nature de l'acidifiant] sur les spores de *Bacillus coagulans*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus macerans* et de *Clostridium botulinum* like a monté qu'il existe des différences de sensibilité à l'acidification, pour la fonction attendue d'inhibition de germination des spores, dans la zone entre pH 4,0 et 4,9 qui est connue pour constituer la « frontière » de pH (usuellement pH 4,5) entre les produits acides / non-acides.

En effet, la germination de certains souches de spores est inhibée dans la fourchette de pH 4,18 à 4,9 avec des comportement différents, propres à chaque souche. De plus, des différences peu marquées (à pH identique ou très voisin) ont été observées pour la fonction inhibitrice de germination. Ces petites différences sont peut-être en relation avec le niveau de dissociation de l'acide en fonction du pH. Les acides présentent en effet des pKa légèrement différents.

Cette étude a également permis de montrer que sur ce type de matrice acidifiée il était important d'avoir un nombre d'échantillons incubés important lors d'études mettant en évidence la non-stabilité aux pH limites de croissance (35 échantillons incubés au minimum, mais on peut préconiser un nombre d'échantillons nettement plus important, par exemple 50 ou 70 échantillons incubés) afin de pouvoir mettre en évidence des altérations qui relèvent de l'événement rare (par exemple 1 échantillon altéré sur 35).

Bien entendu, une cible de pH assez basse et éloignée des pH limites de croissance pour les flores étudiées permet de garantir la stabilité des conserves acidifiées, même pour des traitements de pasteurisation peu intenses, susceptibles de laisser une flore sporulée assez conséquente dans le produit fini.



SIÈGE SOCIAL

CTCPA

44, rue d'Alésia
TSA 31444
75158 PARIS CEDEX 14
Tél. +33 153 9144 00 - paris@ctcpa.org

SITES

CTCPA - Nord-Est/ Île-de-France

41 avenue Paul Claudel,
80480 DURY-LES-AMIENS
Tél. : 03 22 53 23 00 - amiens@ctcpa.org

CTCPA - Sud-Est

Site Agroparc
449 Avenue Clément Ader, BP21203,
84911 AVIGNON CEDEX 9
Tél. : 04 90 84 17 09 - avignon@ctcpa.org

CTCPA - Sud-Ouest

ZAC du Mouliot, 2 allée Dominique Serres,
32000 AUCH
Tél. : 05 62 60 63 63 - auch@ctcpa.org

CTCPA - Ouest

64, rue de la Géraudière, BP 62241,
44322 NANTES CEDEX
Tél. : 02 40 40 47 41 - nantes@ctcpa.org

CTCPA - Dijon

Cité internationale de la Gastronomie
16 Rue de l'Hôpital, 21000 Dijon
Tél. : +33 7 57 08 46 97 - clucet@ctcpa.org

ANTENNES

CTCPA - Mont-de-Marsan

Agrocampus
1003 allée Jean d'Arcet, 40280 HAUT-MAUZO
Tél. : 06 34 14 49 24 - vmoret@ctcpa.org

DIRECTION MISSIONS D'INTERET GENERAL ET DIRECTION DE LA TRANSITION INDUSTRIELLE

Site Agroparc
449 Avenue Clément Ader, BP 21203
84911 AVIGNON CEDEX 9
Tél. : 04 90 84 17 09 - doc@ctcpa.org

DIRECTION RECHERCHE

Technopôle Alimentec, Rue Henri de Boissieu
01000 BOURG-EN-BRESSE
Tél. : 04 74 45 52 35 - bourg@ctcpa.org

LABORATOIRE EMBALLAGE

Technopole Alimentec, Rue Henri de Boissieu,
01000 BOURG-EN-BRESSE
Tél. : 04 74 45 52 35 - bourg@ctcpa.org

LABORATOIRE MICROBIOLOGIE ET QUALITE NUTRITIONNELLE

Site Agroparc
449 Avenue Clément Ader, BP21203,
84911 AVIGNON CEDEX 9
Tél. : 04 90 84 17 09 - avignon@ctcpa.org

