

Protocole d'évaluation de l'efficacité bactériologique d'un acidifiant ou de tout produit réputé avoir un effet sur les entérobactéries

1. Objectif

L'objectif de ce type d'évaluation est de déterminer l'efficacité d'un acide simple, d'un mélange d'acide ou d'un autre produit sur la charge en entérobactéries d'un aliment. Le traitement sera considéré comme efficace si une réduction de 3 log de la population en entérobactéries est obtenue dans un temps donné.

2. Principe

Le principe de cette étude consiste à introduire dans un aliment, surcontaminé par des issues de meunerie, un produit actif à une dose définie. Puis, l'effet du produit est testé en comparaison de la population en entérobactérie dans l'aliment initial avec la flore, après un temps d'action donné.

3. Matériel

3.1. Les matières premières

3.1.1. Déchets de meunerie

Afin d'assurer la contamination initiale des farines, des déchets d'épaveuse de meunerie sont mélangés à l'aliment. Ils ont traditionnellement une contamination voisine de 10^7 ,

3.1.2. Aliments

L'action du produit actif est testée sur les types d'aliments ciblés selon le choix du producteur. La formule et les caractéristiques physiques de ou des aliments sont mesurées ou relevées.

3.1.3. Acide ou produit actif

Il est fourni par le fabricant et incorporé à la dose et de la manière choisie par lui-même.

3.2. Mélangeur

Un mélangeur à pâles, de marque Théaudin, d'une contenance de 100 l, est utilisé pour l'incorporation des déchets de meunerie et des acides.

3.3. Matériel de pulvérisation

Afin de pulvériser des acides liquides, un système de pulvérisation permettant un bilan massique de l'incorporation est utilisé. Il s'agit d'une cuve de 2 l en acier inox et d'un réseau d'air comprimé permettant de mettre le système sous pression (0 à 5 bars). Douze formats de buse d'injections à angles plats peuvent être utilisés avec ce système.

3.4. Matériel de prélèvement et de conditionnement

Le mélangeur et le bac de réception sont nettoyés par brossage et par aspiration. Suite aux mélanges, les aliments sont introduits dans des sacs plastifiés non stériles de 20 l, puis sont divisés à l'aide de deux diviseurs de taille différente.

Les mélanges sont divisés jusqu'à obtenir des échantillons d'environ 100 g (+/-10g). Ces échantillons sont ensuite placés dans des pots plastiques propres non stériles.

4. Méthode

4.1. Mélange

Les déchets de meunerie sont incorporés à 2 % à 50 kg d'aliment. La moitié du lot d'aliment est introduite dans le mélangeur, les déchets de meunerie sont ensuite répartis sur toute la longueur et le reste de l'aliment est introduit au-dessus. Après mélange de 2 minutes à 60 tr/mn, il est prélevé dans le mélangeur par quartage, avant l'incorporation de l'acide.

Les produits en poudre sont pesés avec une balance +/- 1 g et l'aliment avec une balance +/- 2 g. L'acide est ajouté et un mélange est à nouveau réalisé pendant 2 minutes à 60 tr/mn. Il est ensuite vidangé dans le bac de réception puis, sans délai, introduit à l'aide d'une pelle propre dans des sacs de 20 l plastifiés et identifiés par le code du mélange.

Pour les mélanges avec produits liquides,

l'incorporation est assurée par pulvérisation après le mélange avec les déchets de meunerie. Afin de procéder à la pulvérisation, une première phase de préparation est mise en place. Celle-ci consiste à peser le système de pulvérisation à vide avec une balance +/- 1 g, puis à le remplir avec la quantité d'acide nécessaire (+/- 5g). Le système de pulvérisation est ensuite placé sur le couvercle du mélangeur et est raccordé à l'air comprimé. Le manomètre réglant la pression appliquée sur l'acide est réglé à 1.5 bars. Le mélange est commencé et la pulvérisation commence 10 secondes après. La durée totale d'homogénéisation est de 2 minutes.

Le mélange obtenu est ensuite évacué dans un bac de réception, puis transféré, sans délai, à la pelle dans des sacs de 20 l plastifiés et identifiés. La masse totale du mélange est déterminée et relevée sur une fiche de suivi d'essai. Le mélangeur est enfin nettoyé par grattage avec une brosse et une spatule.

Le système de pulvérisation est ensuite déconnecté de l'air comprimé et retiré du couvercle du mélangeur. Le système est à nouveau pesé sur une balance +/- 1g, la masse est relevée, évent ouvert.

4.2. Préparation des échantillons

4.2.1. Nettoyage du matériel

Le matériel utilisé pour les divisions supérieures à 2 kg (diviseur Quater) est nettoyé par brossage et aspiration. Le diviseur à rifle et les moules associés sont nettoyés avant les essais à l'eau savonneuse et sont soufflés entre chaque lot.

4.2.2. Divisions

La totalité du mélange fabriqué et contenant l'acide est divisée afin de constituer au moins **8 échantillons de 100 g** représentatifs. Au moins **8 échantillons de 100 g** représentatifs de l'aliment initial sont également préparés.

4.3. Transport des échantillons

Le transport des échantillons vers le laboratoire d'analyse a lieu à la ou aux température (s) demandée (s) pour le test dans les 24 h suivant la fabrication du mélange.

4.4. Analyse

Le niveau de contamination initial est validé après incorporation des déchets d'éponteuses et avant mélange avec les produits acidifiants. Ils sont ensuite vérifiés 24h après incorporation de produits acidifiants.

Les analyses sont donc effectuées **24 h après l'incorporation**. Au total, chaque essai compte au minimum 16 analyses qui sont effectuées sur des échantillons **de 100g**. Des dénombrements d'entérobactéries sont effectués sur chaque échantillon. Ces dénombrements sont effectués selon la Norme NF V08-054 (37°C) ou assimilés avec une limite de quantification de 10 UFC/g pour les échantillons initiaux et avec une limite de 1 UFC/g après action de l'acide. Le laboratoire utilise de l'eau peptonée tamponnée et vérifie la neutralité du pH de la suspension mère. En cas de produits non acidifiants, un produit neutralisant l'action du produit testé devra être employé. Le cas échéant, des pré-essais peuvent être réalisés, afin de définir les conditions de neutralisation du produit employé.

4.5. Traitement des résultats

Deux types de résultats caractérisent les essais :

- Les conditions de réalisation (quantité d'acide incorporé, temps d'action, température de stockage...)
- Les résultats microbiologiques

Les résultats des numérations d'entérobactéries seront interprétés sur la base :

- De la contamination initiale
- De la variation de contamination
- De la contamination finale.

Des tests de comparaisons de moyennes non paramétriques sont recommandés.