



HAL
open science

Rétention de différentes espèces microbiennes lors de l'épuration du lait par microfiltration en flux tangentiel

Emmanuel Trouvé, Jl Maubois, M Piot, Mn Madec, J Fauquant, A Rouault, J Tabard, G Brinkman

► To cite this version:

Emmanuel Trouvé, Jl Maubois, M Piot, Mn Madec, J Fauquant, et al.. Rétention de différentes espèces microbiennes lors de l'épuration du lait par microfiltration en flux tangentiel. *Le Lait*, 1991, 71 (1), pp.1-13. hal-00929225

HAL Id: hal-00929225

<https://hal.science/hal-00929225>

Submitted on 11 May 2020

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

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

Rétention de différentes espèces microbiennes lors de l'épuration du lait par microfiltration en flux tangentiel *

E Trouvé ^{1**}, JL Maubois ¹, M Piot ¹, MN Madec ¹, J Fauquant ¹,
A Rouault ¹, J Tabard ², G Brinkman ³

¹ INRA laboratoire de recherches de technologie laitière, 65, rue de St-Brieuc, 35042 Rennes Cédex ;

² Société Alfa-Laval, 78340 Les Clayes-sous-Bois;

³ Société des céramiques techniques, 65001 Tarbes, France

(Reçu le 2 août 1990 ; accepté le 26 novembre 1990)

Résumé — La rétention de 7 espèces bactériennes représentatives de la flore contaminante des laits crus par les membranes de microfiltration mises en œuvre dans le procédé Bactocatch a été étudiée. Ces espèces étaient ensemencées dans 4 fluides laitiers : perméat d'ultrafiltration; microfiltrat de lait obtenu sur membrane 0,2 µm; solution de phosphocaseinate; lait écrémé pasteurisé. Les résultats obtenus montrent que le nombre de réductions décimales observé est en moyenne de 2,6 et est indépendant du niveau initial de contamination, ce qui amène à la conclusion que les membranes utilisées dans le procédé fonctionnent comme des filtres en profondeur et non pas comme des filtres écrans. Le taux de rétention des bactéries par la membrane 1,4 µm varie avec le volume cellulaire moyen entre 99,93% et 99,99%. La comparaison des rétentions observées en fonction de la composition des fluides mis en œuvre laisse supposer un effet positif non négligeable des composants solubles du lait, qui interagissent avec les grains d'alumine composant la membrane avant de favoriser l'adsorption interne des microorganismes.

microfiltration / épuration bactérienne / Membrane céramique / lait / qualité bactériologique

Summary — Retention of various microbial species during milk epuration by cross-flow microfiltration. Retention of 7 bacterial species representative of typical contaminant flora of raw milks by microfiltration membranes used for the Bactocatch process was studied. These bacteria were added to 4 dairy liquids: milk ultrafiltrate; milk microfiltrate obtained with 0.2 µm membrane; native phosphocaseinate solution and HTST pasteurized skim milk. The results show that the average decimal reduction equals 2.6 and is independent of the initial level of the bacterial population. This indicates that membranes were acting as depth filters and not as screen filters. Bacterial retention rates on 1.4-µm membrane were between 99.93–99.99 %. They were slightly linked to average cellular volume. Comparison of retention observed in function of the biochemical composition of liquids experimented with, led to the conclusion that there is a non-negligible effect of soluble milk components which interact with alumina particles before favorising internal adsorption of microorganisms.

microfiltration / bacteria removal / ceramic membrane / milk / bacteriological quality

* Cette étude a été réalisée dans le cadre d'un programme contractuel financé par l'Association Bretagne biotechnologies alimentaires, par la région Bretagne et par le ministère de la Recherche et de la Technologie.

** Correspondance et tirés à part

INTRODUCTION

L'assainissement des liquides alimentaires et notamment du lait se réalise généralement par application d'un traitement thermique. Selon l'effet bactéricide recherché, le couple temps-température appliqué détruira une proportion convenable de la flore pathogène (pasteurisation) ou de tous les types de microorganismes présents (stérilisation). Mais de ce traitement thermique résultent des modifications irréversibles des composants du lait et de leurs équilibres d'interactions, modifications se traduisant globalement par une diminution de l'aptitude à la transformation fromagère. Aussi a-t-il été recherché d'autres moyens physiques d'élimination des germes contaminants du lait et notamment de leurs formes de résistance : les spores qui sont à l'origine des défauts de conservation des laits pasteurisés de consommation (*Bacillus cereus* - *Bacillus subtilis*, etc) ou de qualités organoleptiques en fromagerie de pâtes pressées cuites (*Clostridium tyrobutyricum*).

L'emploi de la force centrifuge (10 000 g) est une pratique devenue courante dans la plupart des grandes fromageries productrices d'emmental. Mais les équipements utilisés, les bactofugeurs, n'éliminent que 95 % des spores butyriques, ce qui est très insuffisant en cas de moyenne à forte contamination des laits. De plus, une proportion, certes faible, mais non négligeable de la caséine est sédimentée, ce qui abaisse le rendement fromager s'il n'y a pas de réincorporation de ce sédiment après stérilisation (Simonart et Debeer, 1954 ; Bergère, 1987).

L'utilisation de la microfiltration tangentielle sur membrane a été suggérée par Holm *et al* (1986) et Piot *et al* (1987). Les progrès accomplis dans la mise au point de nouvelles membranes en céramique ayant un support très perméable et une

géométrie multicanaux (Gillot *et al*, 1984) et la mise en œuvre d'un nouveau concept hydraulique - réalisation d'un co-courant et d'une contrepression dynamique côté microfiltrat aboutissant à une pression transmembranaire uniforme (Sandblom, 1974) - ont permis d'accroître l'efficacité de l'opération de séparation particulière envisagée. Il en est résulté les équipements et la technologie qualifiés de «Bactocatch» (Vincens et Tabard, 1988; Malmberg et Holm, 1988; Meersohn, 1989). Ce procédé met en œuvre des membranes en alumine ayant un diamètre nominal moyen de pores de 1,4 μm . Les performances annoncées sont : un débit de perméation supérieur à 500 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ à 50 °C maintenu pendant au moins 6 h avec un taux d'élimination des germes microbiens supérieur à 99,5 % (Meersohn, 1989).

La mise à notre disposition dans le cadre d'une collaboration contractuelle d'un équipement pilote Bactocatch nous a permis de vérifier ces performances sur les laits crus de mélange, collectés dans l'Ouest de la France (Trouvé *et al*, 1989).

Etant donné, d'une part, l'ampleur du champ d'utilisations du procédé Bactocatch en transformation laitière - *a priori*, son application permettrait une amélioration généralisée de la qualité bactériologique et hygiénique de tous les produits dérivés des laits collectés - et d'autre part, le fait que les mesures de rétention bactérienne par les membranes n'avaient été réalisées que sur des groupes peu définis de bactéries - flore mésophile totale, spores de *B cereus* ou de *C tyrobutyricum* (Olesen et Jensen, 1989) - nous nous sommes attachés dans le présent travail à étudier systématiquement la rétention de 7 espèces bactériennes, les plus fréquemment rencontrées dans le lait cru, ajoutées en populations connues à des liquides simulant progressivement le lait écrémé.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Équipement utilisé

L'appareillage mis en oeuvre était la partie micro-filtration d'un équipement pilote Bactocatch. Elle comportait une cartouche 7 P 19 de membranes en alumine Membralox (SCT, Tarbes, France) ayant une longueur de 850 mm, un diamètre interne de 4 mm. Le diamètre moyen des pores était de 1,4 μm . La perméabilité à l'eau à 20 °C était de 1 450 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$.

Le circuit hydraulique comprenait : une pompe d'alimentation centrifuge ayant une capacité de 30 000 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}$ et maintenant la pression d'entrée du circuit rétentat à 3,2–3,5 bars ; une pompe de recirculation du rétentat ayant une capacité de 50 000 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}$ ce qui assurait une vitesse tangentielle de 7,6 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, une pompe de recirculation du microfiltrat ayant une capacité de 20 000 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}$, ce qui permettait, grâce à la présence de billes de polypropylène dans le compartiment microfiltrat de la cartouche, de maintenir la pression transmembranaire à une valeur voisine de 0,55 bars en tout point de la membrane.

Conditions expérimentales

La température était maintenue à 50 °C \pm 1 °C. Les flux d'extraction étaient maintenus constants aux valeurs de 678 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ côté microfiltrat et de 36 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ côté rétentat, soit en facteur de concentration volumique produit entrant / rétentat voisin de 20. Le microfiltrat et le rétentat étaient recyclés pendant la durée des expérimentations (45 min chacune). Le volume mis en oeuvre à chaque essai était de 200 l.

Prélèvement des échantillons

Les échantillons destinés à l'analyse étaient prélevés à l'aide de seringues stériles de 10 ml, mono-usage. Ces seringues étaient implantées dans des septum placés sur la tubulure d'alimentation et sur les boucles de recirculation du rétentat et du microfiltrat. Les prélèvements étaient réalisés à 15, 20, 25 et 30 min après addition des cultures dans le bac d'alimentation ex-

cepté pour *Citrobacter intermedius* dont la thermosensibilité imposait des prélèvements à 2, 5, 8 et 11 min. Ces prélèvements étaient immédiatement plongés dans la glace. Les dénombrements étaient réalisés aussitôt.

Nettoyage et désinfection de l'équipement

Les séquences suivantes étaient observées :

- pousse à l'eau tiède (45°–50 °C) jusqu'à l'eau claire (environ 10 min);
- nettoyage alcalin avec Ultrasyll 25 (Henkel, Chalons/Marne, France) à 1,5% : recirculation de 100 l de solution à 60 °C pendant 20 min;
- rinçage à l'eau tiède 10 min;
- nettoyage acide avec HNO_3 0,5% - recirculation de 100 l de solution à 60 °C pendant 5 min;
- rinçage à l'eau tiède 10 min.

Lors des expérimentations comportant l'addition de spores de *C tyrobutyricum*, une étape de désinfection était introduite dans la séquence avant le nettoyage alcalin comme suit :

- les fluides contenant les spores étaient refroidis à 25 °C, additionnés de 750 ppm de Cl actif (v/v) et recirculés 30 min, ce qui assurait la destruction des spores avant l'évacuation des fluides. On procédait ensuite à la pousse à l'eau tiède comme indiqué ci-dessus.

Fluides mis en oeuvre

Quatre fluides ont été mis en oeuvre après ensemencement avec les différentes espèces bactériennes. Leur composition est donnée dans le tableau I.

L'ultrafiltrat était un perméat industriel de lait cru obtenu sur des membranes Carbosep M1 (Techsep, Miribel, France) - seuil de coupure 80 000 Da à l'usine Triballat (Noyal-sur-Vilaine, France). Pour pallier d'éventuelles contaminations durant son extraction et son transport, il était systématiquement à nouveau ultrafiltré sur les mêmes membranes et dans les mêmes conditions hydrauliques dans notre halle pilote dans l'heure qui précédait les expérimentations sur équipement Bactocatch.

Tableau I. Composition des fluides expérimentaux en g/kg.
Composition of experimental solutions.

	Ultrafiltrat	Microfiltrat	Phospho- caséinate	Lait écrémé
Matière sèche	54,8	56,9	38,2	89,5
Matières azotées totales	2,6	6,4	33,4	33,4
Matières azotées non protéiques	1,9	1,9	abs	2,1
Matières azotées non caséiques	2,3	abs	abs	7,7
Lactose	48,8	47,1	abs	49,5
Cendres	4,6	4,7	3,1	7,6
Calcium	0,28	0,32	1,10	1,20
Phosphore	0,33	0,35	0,60	0,96
pH	6,66	6,71	7,40	6,68

Le microfiltrat était obtenu à partir de lait écrémé de grand mélange pasteurisé 15 s à 72 °C traité sur un équipement pilote équipé de 6,8 m² de membranes Carbosep M14 (diamètre de pores : 0,14 µm) dans les conditions décrites par Fauquant *et al* (1988).

La solution de phosphocaseinate natif était obtenue par microfiltration de lait écrémé cru, épuré préalablement sur équipement Bactocatch. Le lait ainsi épuré était mis en contact avec des membranes Carbosep M14 dans les conditions décrites par Fauquant *et al* (1988). Au facteur de concentration volumique de 3,5 vol d'eau courante filtrée sur filtre en profondeur de 5 µm étaient ajoutés par volume de rétentat. La concentration du rétentat était poursuivie jusqu'à FCV 6. Le rétentat était ensuite redilué jusqu'à obtention d'une teneur en matière azotée totale (Nx6,38) proche de 33 g/kg.

Le 4^e fluide était un lait écrémé de grand mélange pasteurisé 15 s à 72 °C et provenait de la Laiterie Préval (ULN, Montauban de Bretagne, France).

Ces 4 fluides étaient préparés le jour même des expérimentations d'épuration bactérienne. Leur flore mésophile totale (FMT) n'excédait pas 100 UFC/ml pour les 3 premiers fluides, et 1 000 UFC/ml pour le lait pasteurisé, et leur flore coliforme était toujours inférieure à 1 UFC/ml.

Souches bactériennes étudiées

Les caractéristiques des 7 espèces étudiées sont rassemblées dans les tableaux II et III. Le choix de ces 7 espèces a été guidé par la volonté d'étudier la rétention de bactéries Gram⁺ (5 espèces) et Gram⁻ (2 espèces), de volume cellulaire faible (< 1 µm³) (4 espèces) ou élevé (3 espèces), mobiles (2 espèces) ou non (5 espèces) et de différents types morphologiques : bâtonnets (2 esp), sphères (2 espèces), polymorphes (1 espèce) et coccoïdes (2 espèces).

Les espèces non sporulées étaient repiquées à 1 % (v/v) en tubes de 10 ml, 72 h avant les expérimentations. Après 36 h à 30 °C (48 h à 45 °C pour *Lactobacillus helveticus*), ces tubes de préculture servaient à ensemercer à 1% (v/v) 1 l de milieu de culture pour chaque espèce. Ce sont ces cultures qui, après développement dans les mêmes conditions de temps et de température (36 h à 30 °C sauf pour *L. helveticus* - 24 h à 45 °C), étaient ajoutées directement aux fluides expérimentaux.

Les spores de *C. tyrobutyricum* étaient ajoutées par apport direct à un niveau élevé (10³-10⁵ spores par ml) dans le but de permettre un dénombrement aisé sur gélose RCM (Hirsh et Grinstead, 1954).

Tableau II. Principales caractéristiques des espèces étudiées.
Bacterial species tested and their main characteristics.

<i>Espèces</i>	<i>Groupe usuel</i>	<i>Gram</i>	<i>Volume cellulaire Moyen (en μm^3)</i>	<i>Mobilité</i>	<i>Morphologie</i>
<i>Citrobacter intermedius</i>	Flore coliforme	-	4,1	+	Bâtonnets larges
<i>Propionibacterium acidi-propionici</i>	Flore propionique	+ (-)	0,7	-	Polymorphes
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	Flore butyrique	+	1,9	-	Spores ovales (coccoïdes)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Flore lactique	+	1,5	-	Sphères en paires et en chaînettes
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Flore lactique	+	2,4	-	Bâtonnets
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Flore psychrotrophe	-	0,9	+	Bâtonnets
<i>Micrococcus varians</i>	Flore caséolytique	+	1,2	-	Sphères

Traitement des résultats bactériologiques

Les 3 variables bactériologiques mesurées ont été :

- C_0 population bactérienne initiale (circuit d'alimentation du pilote)
- CM population bactérienne du fluide épuré (circuit microfiltrat du pilote)
- CR population de la fraction enrichie en bactéries (circuit rétentat).

Pour une espèce bactérienne et un fluide donnés, les valeurs de C_0 , CM et CR ont été obtenues en convertissant la moyenne arithmétique des 4 dénombrements (exprimés en log) en nombre de cellules noté UFC/ml ou en nombre de spores / l.

En conformité avec les critères d'évaluation de la destruction des microorganismes d'une

part, et en similitude avec les critères biochimiques du transfert membranaire d'autre part, nous avons calculé le nombre de réductions décimales obtenues par microfiltration, appelé «efficacité» et noté E :

$$E = \log (C_0 / CM) = \log C_0 - \log CM$$

Cette efficacité peut être exprimée en proportion relative avec :

$$E\% = 100 \times (1 - 10^{-E})$$

Pour chaque expérimentation, nous avons comparé la population dénombrée dans le circuit d'alimentation à celles dénombrées dans les circuits d'extraction du rétentat et du microfiltrat en calculant le rendement (noté Y) de la microfiltration selon l'expression :

$$Y = (CR + 19 CM) / 20 C_0$$

Tableau III. Milieux utilisés pour la culture et le dénombrement des espèces étudiées.
Culture and enumeration media for the bacterial species tested.

<i>Espèce</i>	<i>Souche</i>	<i>Milieu de culture</i>	<i>Milieu de dénombrement</i>
<i>Citrobacter intermedius</i>	CNRZ 43	Bouillon nutritif (Difco)	RVBA (norme FIL 73 A, 1985)
<i>Propionibacterium acidi-propionici</i>	CNRZ 85	YEL (Hettinga <i>et al</i> , 1968)	YELA (Hettinga <i>et al</i> , 1968)
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	CNRZ 566	Spores produites selon le protocole ITG, 1982 et conservées dans de l'eau distillée stérile à 4 °C	RCMA (Hirsch et Grindsted, 1954)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	CNRZ 702	M17 (Terzaghi et Sandine, 1975)	M17A (Terzaghi et Sandine, 1975)
<i>Lactobacillus helveticus</i>	ATCC 12046	MRS (de Man <i>et al</i> , 1960)	MRS (de Man <i>et al</i> , 1960)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	CNRZ 798	Bouillon nutritif (Difco)	PCA (norme FIL 101, 1981)
<i>Micrococcus varians</i>	ATCC 15306	Bouillon nutritif (Difco)	TSA base + 6% NaCl (Lenette <i>et al</i> , 1980)

qui prend en compte le facteur de concentration volumique de 20 mis en œuvre dans l'équipement Bactocatch.

Analyse chimique des fluides expérimentaux

Les teneurs en matière sèche étaient déterminées selon la norme FIL n° 21B (1987) ; celles en matières azotées totales, matières azotées solubles dans le TCA 12% et à pH 4,6, selon Aschaffenburg et Drewry (1959); celles en cendres, calcium et phosphore, comme indiqué par Brulé *et al* (1974). Les teneurs en lactose étaient déterminées selon Acton (1977).

RÉSULTATS - DISCUSSION

Bilans entrées-sorties des populations bactériennes

Le tableau IV rassemble les résultats obtenus lors du calcul des rendements. Globalement, pour l'ensemble des fluides et des espèces bactériennes expérimentés, environ 1/3 des cellules introduites dans le microfiltre n'est plus dénombré aux 2 sorties de l'équipement. Ce résultat est, en fait, la moyenne de valeurs variant très largement : selon les espèces et les fluides, les

valeurs du rendement vont de 0,32 (déficit) à 1,12 (excédent). De telles variations sont à rapprocher de l'incertitude des mesures de débit du rétentat qui, faute de régulation automatique, oscillait entre 25 l.h⁻¹ et 75 l.h⁻¹ pour une valeur souhaitée de 50 l.h⁻¹, ce qui amenait à des facteurs de concentration volumique (FCV) variant entre 13,5 et 40 et donc à des rendements s'étalant en valeurs instantanées entre 0,68 (déficit) et 1,70 (excédent). À cette incertitude sur la mesure du débit rétentat de l'équipement s'ajoute celle des méthodes de dénombrement bactérien : $\pm 12\%$ à $\pm 37\%$ (AFNOR, 1978). Par ailleurs, la thermosensibilité de certaines espèces étudiées n'est pas nulle à 50 °C, température à laquelle était réalisée l'opération de microfiltration et c'est certainement à elle que doit être attribué le rendement inférieur à 0,50 constaté avec *C. intermedium*. Le $D_{50\text{ °C}}$ de cette espèce appartenant au groupe des bactéries coliformes est, en effet, égal à 8 min (Evans *et al*, 1970). Mais, même pour les espèces les plus thermorésistantes comme *S. thermophilus* ($D_{70\text{ °C}} = 15$ min) ou *L. helveticus* ($D_{70\text{ °C}} = 30$ min) (Frazier, 1967) ou encore les spores de *C. tyrobuty-*

ricum, les rendements moyens n'excèdent pas 0,58–0,69. Il est donc très probable qu'une partie des bactéries des fluides, soumis à microfiltration, se fixe soit à la surface externe, soit aux surfaces internes des membranes. Une telle hypothèse s'appuie sur les très importants volumes poreux disponibles au sein de la membrane et de son support ($1,4 \times 10^{13} \mu\text{m}^3$ et $4,0 \times 10^{15} \mu\text{m}^3$ respectivement pour la cartouche 7 P 19 utilisée) pour une éventuelle accumulation de microorganismes (Hsieh *et al*, 1988). À partir d'un volume cellulaire bactérien moyen de $2 \mu\text{m}^3$, une rétention intramembranaire de 5×10^{10} cellules/h ne conduirait qu'à une occupation de 5 % du volume poreux de la membrane *sensu stricto* ou de 0,002 % du volume poreux du support après 7 h de fonctionnement.

Efficacité de la microfiltration et espèce expérimentée

Le tableau V rassemble les déterminations effectuées sur les circuits d'alimentation et le tableau VI présente l'efficacité de la mi-

Tableau IV. Rendement de l'épuration bactérienne par microfiltration (hypothèse : FCV = 20). ($Y > 1$: bilan excédentaire; $Y < 1$: bilan déficitaire).

1. *Citrobacter intermedium*. 2. *Propionibacterium acidipropionici*. 3. *Clostridium tyrobutyricum*. 4. *Streptococcus thermophilus*. 5. *Lactobacillus helveticus*. 6. *Pseudomonas fluorescens*. 7. *Micrococcus varians*.

Efficiency (CR + 19 CM/Co) of bacterial removal by microfiltration on 1.4 μm membranes (hypothetical VCR = 20).

Espèces	1	2	3	4	5	6	7	Toutes
Fluides								espèces
Ultrafiltrat	0,33	0,74	0,42	0,64	0,54	0,54	1,12	0,58
Microfiltrat	0,39	1,12	0,82	0,66	0,65	0,65	0,32	0,62
Phosphocasiné	0,58	0,59	0,42	0,71	0,59	0,67	0,68	0,59
Lait écrémé	0,38	0,44	0,83	0,69	0,66	0,66	0,93	0,62
Tous milieux	0,41	0,68	0,58	0,68	0,60	0,62	0,69	0,60

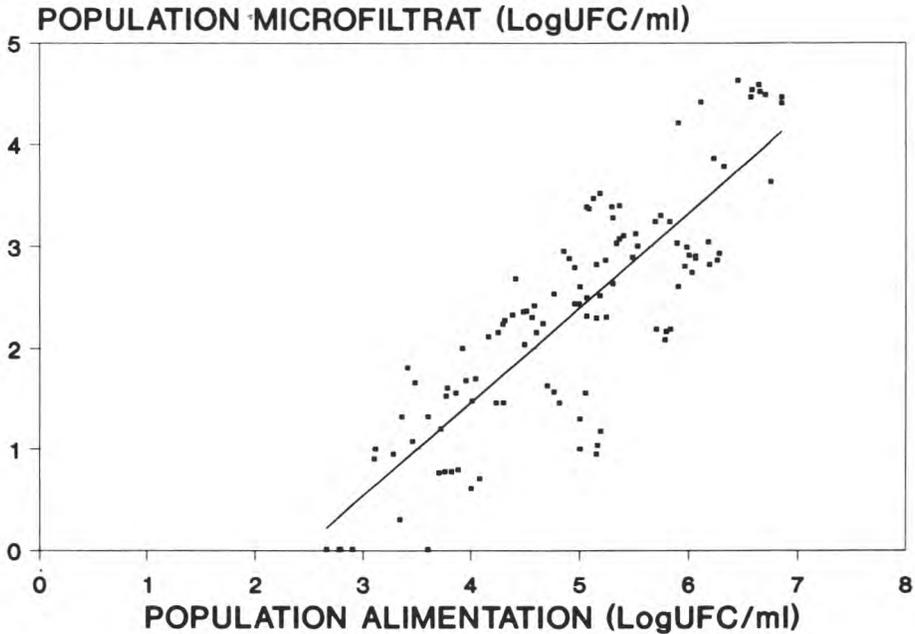


Fig 1. Relation entre populations bactériennes avant (alimentation, $\log C_o$) et après (microfiltrat, $\log C_m$) traitement par microfiltration ($1,4 \mu m$).

Relationship between bacterial populations in feed stream and microfiltrate.

le fluide traité. Comme pour les autres techniques d'assainissement des liquides alimentaires mettant en œuvre un traitement thermique ou une force centrifuge, le nombre de réductions décimales est indépendant du niveau de population présente dans le fluide mis en contact avec la membrane de microfiltration. La valeur de cette efficacité est en moyenne de 2,6 (99,75%). Il résulte de ces observations que vis-à-vis des bactéries, les membranes de microfiltration utilisées dans le procédé Bactocatch ne fonctionnent pas comme des filtres écrans mais bien comme des filtres en profondeur.

La taille des cellules des différentes espèces bactériennes expérimentées a été

évaluée à partir des données du *Bergey's Manual* et des modèles classiquement retenus pour le calcul du volume cellulaire. Les résultats rassemblés dans la figure 2 indiquent, comme on pouvait s'y attendre, que le taux de rétention bactérien s'élève avec l'accroissement du volume cellulaire. Toutefois, lors de l'épuration bactérienne sur membrane de liquides alimentaires contenant des flores dites sauvages, il est possible que des rétentions non corrélées à la taille cellulaire soient observées. Les bactéries peuvent être agglutinées en amas peu dissociables, les spores peuvent rester adhérentes aux parois de la cellule les ayant formées, des espèces bactériennes particulières peuvent enfin être

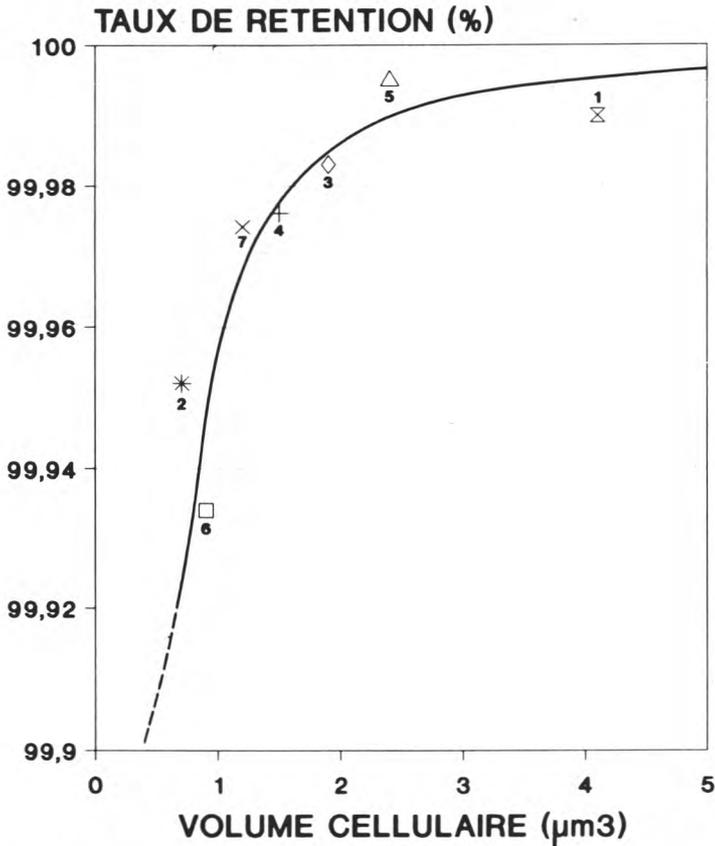


Fig 2. Effet du volume des cellules bactériennes sur le taux de rétention (Bactocatch).

1. *Citrobacter intermedius*. 2. *Propionibacterium acidi-propionici*. 3. *Clostridium tyrobutyricum*. 4. *Streptococcus thermophilus*. 5. *Lactobacillus helveticus*. 6. *Pseudomonas fluorescens*. 7. *Micrococcus varians*.

Effect of bacterial cells size on retention rate (TR).

étroitement associées à des cellules somatiques.

Efficacité de la microfiltration et fluide expérimenté

Dans le tableau VII, ont été indiqués pour chaque espèce bactérienne et pour chaque fluide expérimenté, le classement des efficacités de la microfiltration sur les es-

pèces bactériennes utilisées lors de nos expérimentations. La somme des rangs fait apparaître que la meilleure efficacité est obtenue pour le lait écrémé, qu'il n'y ait pas ou peu de différence avec l'ultrafiltrat et le microfiltrat mais que, par contre, la solution de phosphocasinat conduit à la moins bonne rétention bactérienne. Les composants solubles du lait semblent donc jouer un rôle déterminant dans l'épuration bactérienne sur membrane de microfiltra-

Tableau VII. Rangs de l'efficacité de la microfiltration pour chaque espèce (classement des 4 fluides). 1. *Citrobacter intermedium*. 2. *Propionibacterium acidipropionici*. 3. *Clostridium tyrobutyricum*. 4. *Streptococcus thermophilus*. 5. *Lactobacillus helveticus*. 6. *Pseudomonas fluorescens*. 7. *Micrococcus varians*.

Classification of the 4 tested media in order of decreasing logarithmic reduction.

Espèces	Classement des fluides par efficacité décroissante			
	Ultrafiltrat	Microfiltrat	Phosphocaséinate	Lait écrémé
1	1	3	4	2
2	2	1	4	3
3	3	4	2	1
4	4	3	2	1
5	1	3	4	2
6	4	1	3	2
7	1	3	4	2
Somme des rangs	16	18	23	13

tion. Comment ces composants interviennent-ils ? Est-ce par une modification de la réactivité électrochimique de surface des grains d'alumine du fait de leur interaction avec les sels solubles de phosphate de calcium, modification qui initierait la fixation de macromolécules ou d'adsorption suivie de l'adhésion de cellules bactériennes sur et/ou dans la membrane (Colletti-Previero et Previero, 1989) ? La plus faible teneur en phosphates de calcium solubles de la solution de phosphocaséinate expérimentée découlant de la diafiltration réalisée lors de sa préparation serait en bon accord avec cette hypothèse.

Contrairement à ce qui se passe avec les membranes d'ultrafiltration (Maubois, 1980), il ne semble pas, au vu des résultats obtenus par Baomy *et al* (1990) et avec la solution de phosphocaséinate dans cette étude que les phospholipides résiduels du lait ou de ses dérivés interviennent dans un éventuel colmatage irréversible des membranes en alumine de microfiltration.

CONCLUSIONS

Les résultats obtenus au cours de cette étude présentent la rétention des espèces bactériennes par les membranes de microfiltration 1,4 μm mises en œuvre lors du traitement du lait et de ses dérivés dans le procédé Bactocatch. L'efficacité de la microfiltration est, en moyenne, de 99,75% (2,6 log) pour les 7 espèces et les 4 fluides expérimentés. Cette valeur s'élève à 99,85% (2,83 log) pour le lait écrémé, ce qui est en bon accord avec les données publiées (99,99%) par Olesen et Jensen (1989). Cette efficacité est indépendante du niveau initial de population du fluide traité dans la plage étudiée (10^2 – 10^7 UFC/ml). L'assainissement bactérien réalisé par les membranes de microfiltration est donc, dans son effet, assez semblable à celui réalisé par un traitement thermique mais avec 3 différences fondamentales : la première étant qu'en cas de réalisation d'une seconde microfiltration poussant l'efficacité de la microfiltration à 99,9998%, il n'y aura

pas d'effet cumulatif dommageable pour les propriétés intrinsèques des macromolécules laitières ou sur leurs équilibres d'interaction, comme cela serait le cas avec les traitements thermiques; la seconde étant que, si le rétentat bactérien traité à ultra haute température n'est pas réincorporé au microfiltrat (Vincens et Tabard, 1988), le lait épuré sur membrane ne contient pas de cadavres bactériens comme tout lait traité thermiquement, et la troisième étant que la thermorésistance des microorganismes n'est pas un critère de sélectivité lors de l'épuration par microfiltration.

Les perspectives ouvertes par l'épuration bactérienne du lait sur membrane sont nombreuses et variées, que ce soit pour la transformation en laits de consommation, ou bien que ce soit pour la transformation en fromages (Vincens et Tabard, 1988; Maubois 1989). Les connaissances à acquérir sont multiples. Devront notamment être précisées l'efficacité de la microfiltration vis-à-vis des espèces bactériennes dangereuses pour la consommation humaine et les conditions dans lesquelles le procédé Bactocatch assure une élimination en proportion compatible avec la santé publique de la flore pathogène et de la flore d'altération (sporulées et non sporulées). Par ailleurs, des protocoles de réensemencement des laits ainsi épurés en vue de leur transformation en différents types de fromage devront être proposés.

RÉFÉRENCES

- Acton GH (1977) The determination of lactose in cheese. *Aust J Dairy Technol* 9, 111
- AFNOR (1978) Directives générales pour le dénombrement des microorganismes. Méthode par comptage des colonies obtenues à 30 °C. Norme NF V 08-011
- Aschaffenburg R, Drewry J (1959) New procedure for the routine determination of the various non casein proteins of milk. XVth Int Dairy Congr Londres, 3, 1631-1637
- Baomy JJ, Gestin L, Fauquant J, Boyaval E, Maubois JL (1990) Technologie de purification des phospholipides du lactosérum. *Process* 1047, 29-33
- Bergère JL (1987) Élimination des bactéries par centrifugation. In : *Le Fromage*, (A Eck, ed) Tech et Doc Lavoisier, Paris, 178-181
- Brulé G, Maubois JL, Fauquant J (1974) Étude de la teneur en éléments minéraux des produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane. *Lait* 54, 600-615
- Coletti-Previero MA, Previero A (1989) Alumina-phosphate complexes for immobilization of biomolecules. *Anal Biochem* 180, 1-10
- de Man JC, Rogosa M, Sharpe ME (1960) A medium for the cultivation of lactobacilli. *J Appl Bacteriol* 23, 130-135
- Evans DA, Hankinson DJ, Kutsky W (1970) Heat resistance of certain pathogenic bacteria in milk using a commercial plate heat exchanger. *J Dairy Sci* 53, 1659-1665
- Fauquant J, Maubois JL, Pierre A (1988) Microfiltration du lait sur membrane minérale. *Tech Lait Market* 1028, 21-23
- FIL (1981) Laits de consommation. Microorganismes psychrotrophes. Dénombrement à 6,5 °C. Norme n° 101
- FIL (1985) Lait et produits laitiers, dénombrement des coliformes. Norme 73A
- FIL (1987) Lait, crème et lait concentré non sucré. Matière sèche totale. Norme 21B
- Frazier WC (1967) *Food microbiology*, 2nd ed, Mc Graw Hill Book Co, New York, 88 p
- Gillot J, Brinkman G, Garcera D (1984) Nouveaux médias filtrants céramiques pour la microfiltration tangentielle et ultrafiltration. Congrès Filtra, Société Française de Filtration, Paris
- Hettinga DM, Vedamuthu ER, Reinbold GW (1968) Pouch method for isolating and enumerating *Propionibacteria*. *J Dairy Sci* 51, 1707-1709
- Hirsh A, Grinsted E (1954) Methods for the growth and enumeration of anaerobic sporeformers from cheese, with observations on the effect nisin. *J Dairy Res* 21, 101-110
- Holm S, Malmberg R, Svensson K (1986) Method and plant for producing milk with a low bacterial count. Int Patent, PCT n° WO 86/01687

- Hsieh HP, Bhave RR, Fleming HL (1988) Microporous alumina membranes. *J Membr Sci* 39, 221-241
- Lenette EH, Balows A, Hausler Jr WJ, Truant JP (1980) Manual of Clinical Microbiology, 3rd edn, Am Soc Microbiology, Washington DC
- Malmberg R, Holm S (1988) Producing low bacteria milk by microfiltration. *North Eur Food Dairy J* 54, 30-32
- Maubois JL (1980) Ultrafiltration of whey. *J Soc Dairy Technol* 33, 55-58
- Maubois JL (1989) Applications of membrane techniques in the dairy industry. Proposals for a new IDF group of experts. *Bull FIL* 214, 26-29
- Meersohn M (1989) Nitrate free cheesemaking with Bactocatch. *North Eur Food Dairy J* 55, 108-113
- Olesen N, Jensen F (1989) Microfiltration. The influence of operation parameters on the process. *Milchwissenschaft* 44, 476-479
- Piot M, Vachot JC, Veaux M, Maubois JL, Brinkman GE (1987) Écrémage et épuration bactérienne du lait entier cru par microfiltration sur membrane en flux tangentiel. *Tech Lait Market* 1016, 42-46
- Sandblom RM (Alfa Laval) (1974) Filtering process. Brevet suédois n° 74 16257
- Simonart P, Debeer G (1954) Centrifugation et teneur en bactéries du lait. *Neth Milk Dairy J* 8, 101-106
- Terzaghi BE, Sandine WE (1975) Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl Microbiol* 29, 807-813
- Truvé E, Maubois JL, Piot M, Madec MN (1989) Performances de l'équipement pilote MFS 7 Bactocatch sur laits écrémés de grand mélange. CR Bretagne Biotech Alim, Rennes, France
- Vincens D, Tabard J (1988) L'élimination des germes microbiens sur membrane de microfiltration. *Tech Lait Market* 1033, 62-64