



HAL
open science

Conception assistée d’emballage sous atmosphère modifiée

Dominique Thuault, Estelle Chaix, Rim Touhami, Véronique Huchet, Patrice Buche, Juliette Dibie-Barthelemy, Maxime Lecluse, Florence Coulon, Catherine Lorient, Thierry Vincelot, et al.

► **To cite this version:**

Dominique Thuault, Estelle Chaix, Rim Touhami, Véronique Huchet, Patrice Buche, et al.. Conception assistée d’emballage sous atmosphère modifiée. Industries Alimentaires et Agricoles, 2015, Dossier Emballage (sept-oct), pp.18-24. hal-01231247

HAL Id: hal-01231247

<https://hal.science/hal-01231247>

Submitted on 16 Jun 2022

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.

Conception assistée d'emballage sous atmosphère modifiée : prédiction de la qualité microbiologique des produits frais

D. THUAULT², E. CHAIX⁵, R. TOUHAMI³, V. HUCHET², P. BUCHE⁵, J. DIBIE³, M. LECLUSE⁵, F. COULON⁵, C. LORIOT⁶, T. VINCELOT⁶, S. DERVAUX³, L. MENUT⁴, V. STAHL⁷, C. DENIS¹, A. HANIN¹, O. COUVERT⁹, V. GUILLARD⁵

(1) ACTALIA, (2) ADRIA Développement, (3) INRA UMR MIA, (4) SOREDAB SAS, (5) UMR IATE, (6) LNE, (7) Aérial, (8) ACTALIA, (9) LUBEM - UBO

Cet article reprend les résultats du projet « Composition, dynamique des gaz et optimisation de la protection des denrées dans les emballages sous atmosphère modifiée », financé par l'ANR sous la référence ANR-10-ALIA-002. MAP'OPT.

Résumé

Les performances des conditionnements sous gaz d'aliments périssables dépendent principalement de la composition en gaz, de la qualité microbiologique initiale de l'aliment et de l'emballage. Les durées de vie des produits alimentaires sont limitées par le développement bactérien, la sécurité sanitaire et les propriétés organoleptiques. La solubilité des gaz (O_2/CO_2) et leur diffusivité dans l'aliment déterminent l'évolution de leurs concentrations dans l'aliment et leur efficacité. La perméabilité de l'emballage agira sur la pression partielle en gaz dans l'espace de tête. Des données sur les propriétés barrières de l'emballage, la solubilité et la diffusivité des gaz ont été collectées expérimentalement et à partir de publication. Des méthodes de quantification de l'effet du CO_2 sur les bactéries indépendamment de l'acidification ont été développées de manière à identifier l'agent actif (H_2CO_3) et de quantifier la sensibilité des souches en déterminant leur concentration minimale inhibitrice (CMI). Les modèles de transferts des gaz ont été validés sur le couple aliment/emballage à l'aide d'expériences dédiées et lors de challenges tests. Les effets des gaz sur le développement bactérien ont été combinés aux modèles déjà existants considérant les effets de la température, du pH et de l' a_w . Un outil de modélisation a été développé.

SUMMARY

The performances of Modified Atmosphere Packaging (MAP) for perishable foodstuffs depend mainly on gas composition, on the initial microbiological qualities, on the nature of the packaging. The expected shelf life will be limited by the bacterial development and the evolution of organoleptic properties. The solubility and diffusivity of the gas (O_2/CO_2) according to the food strongly impact the dynamics of gas in the system and therefore will determine its efficiency. The permeability of the packaging will act on the partial pressures in gas in headspace. Data on the packaging permeabilities, on gas solubility and diffusivity data have been collected using methods developed in the project. Methods of quantification of the effect of the CO_2 on bacteria independently of the acidification were developed and thus the active agent was identified as the ion H_2CO_3 . The bacterial effect of CO_2 was

quantified by determining the minimal inhibitory concentration (MIC). The models for gas transfers were validated on the food/packaging system. The effects of gases on the bacterial development on food were combined with already existing models on the effects of temperature and pH. A modelling tool was developed.

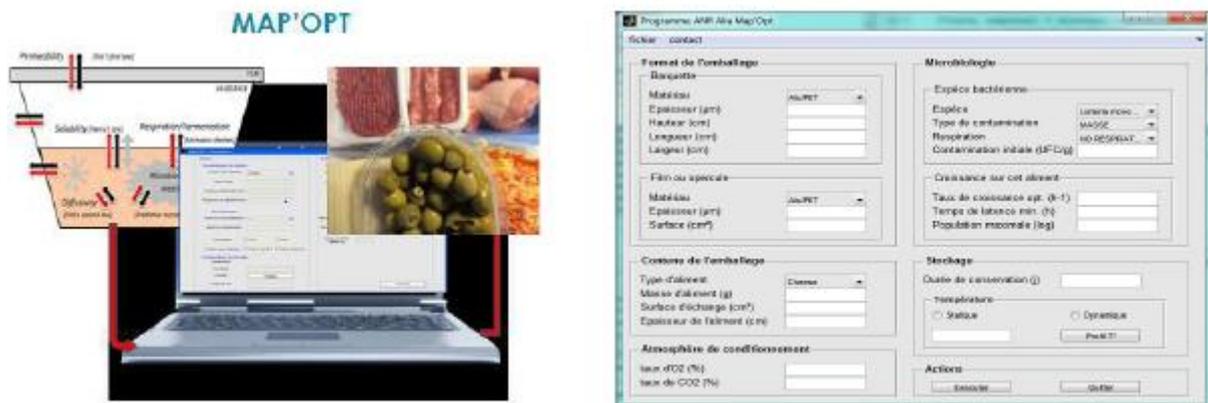


Fig. 1 - MAP'OPT : De la connaissance scientifique à l'outil d'aide à la conception d'emballage sous atmosphère modifiée garantissant la qualité sanitaire des produits frais.

Introduction.

Le choix de l'emballage et des teneurs en gaz dans un conditionnement sous atmosphère modifiée impacte fortement son efficacité et le gain en terme de durée de vie. Il présente également des enjeux importants en termes de développement durable, de coût et de compétitivité de l'entreprise. En allongeant la durée de vie de l'aliment de 20 à 50%, l'Emballage sous Atmosphère Modifiée (EAM) permet de réduire le gaspillage alimentaire, il permet aux entreprises d'optimiser leurs lignes de production en réduisant les fréquences de changement de recettes et de produits sur une ligne. A ces enjeux, il convient également d'ajouter la demande des consommateurs pour des produits sains, naturels et sans (ou avec peu de ?) conservateurs ajoutés.

L'optimisation d'un EAM implique une optimisation de la composition en gaz, du volume de l'espace de tête, et donc de l'emballage et ainsi des coûts de transport des produits emballés, de la nature du matériau (donc de son coût d'achat) impactant par ailleurs les taxes telles que « éco emballage » et son comportement en fin de vie (recyclage, biodégradation, etc.). La composition en gaz initialement injectée va varier au cours du temps en fonction de la solubilisation et diffusion de ce gaz dans l'aliment et de sa perméation au travers de l'emballage vers l'atmosphère extérieures. L'intensité de ces phénomènes est fortement dépendante de la nature de l'emballage et du ratio volume de l'emballage sur masse de l'aliment.

Du point de vue sécurité sanitaire, le CO₂ par son effet inhibiteur permet de ralentir le développement de bactéries pathogènes, mais en créant une atmosphère sans oxygène, on peut

favoriser dans certains cas, le développement de flores anaérobies indésirables. Il est donc nécessaire de combiner parfois l'utilisation du CO₂ avec une teneur modérée en O₂.

Chaque produit exige une composition en gaz et des caractéristiques d'emballages spécifiques afin de maintenir cette composition gazeuse dans l'espace de tête. Cela tient compte bien évidemment des microorganismes présents, mais également de la capacité du mélange gazeux à traverser l'emballage, à se solubiliser et diffuser dans la matrice alimentaire. L'intensité de ces deux derniers phénomènes va dépendre de nombreux facteurs extrinsèques (température) et intrinsèques à l'aliment (teneur en matière grasse, pH, teneur en eau, structure dense ou poreuse, composition en acides gras, etc.).

Le design d'un emballage sous atmosphère modifiée (EAM) doit donc prendre en compte (fig. 2) :

- les transferts de matière au travers de l'emballage et dans les aliments, ce qui permet de prédire les gradients de gaz au sein de l'aliment et l'évolution des concentrations gazeuses dans l'espace de tête,
- les microorganismes présents et les effets des compositions gazeuses sur la croissance bactérienne,
- l'environnement de conservation (température) de l'aliment et les caractéristiques physico-chimiques de l'aliment (aw, pH ...).

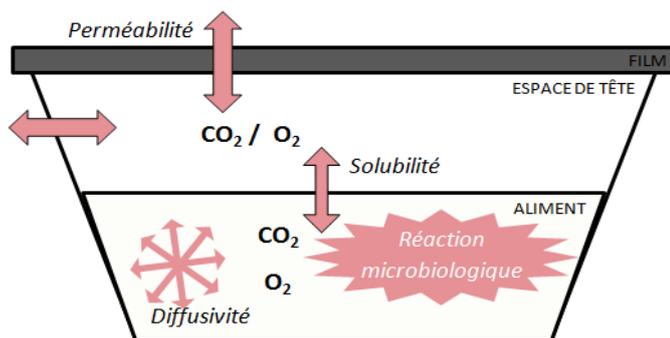


Fig. 2 – Transferts de matière et réactions biologiques se produisant dans le système aliment/emballage et pris en compte dans MAP'OPT.

La solubilité et la diffusivité de l'O₂ et du CO₂ sont deux facteurs clés pour comprendre, quantifier et modéliser les variations de ces deux gaz dans un emballage sous atmosphère modifiée et donc l'impact de ces deux gaz sur le comportement des microorganismes en surface ou dans la masse de l'aliment. Au démarrage du projet, les possibilités d'acquisition de ces valeurs dans les aliments étaient limitées par la disponibilité et la faisabilité des méthodes de quantification de ces gaz notamment l'O₂ (Pénicaud et al. , 2012) et du CO₂ (Gill, 1988). De rares données de solubilité et de diffusivité des gaz dans les aliments solides avaient été publiées comme recensées de façon exhaustive dans la revue de (Chaix et al., 2014).

La combinaison des lois régissant les transferts de masse avec les modèles de croissance bactérienne n'avait encore jamais été tentée. Les modèles de croissance publiés au démarrage de Map'Opt ne prenaient pas en compte la dynamique d'évolution des concentrations en gaz dans l'espace de tête. L'O₂ n'était quasiment jamais considérée et le CO₂ pris comme une

valeur constante. En outre, ces modèles prenant en compte l'effet du CO₂ obtenus bien souvent par ajustement simultané de tous les facteurs (CO₂, aw, pH, T, etc.), résultent en des paramètres fortement auto-corrélés ou sans signification biologique (ex modèle racine Carré). Une revue publiée par les partenaires du projet a permis de faire un point à date sur ces modèles microbiologiques prenant en compte l'effet des gaz sur la croissance microbienne (Chaix et al., 2015).

Dans ce contexte général, la problématique du projet était d'établir, de valider et de hiérarchiser l'importance relative des mécanismes physiques et biologiques se produisant dans le système EAM et de proposer un modèle général couplant les modèles de transfert de masse avec des modèles de croissance bactérienne. Un des objectifs du projet était également de proposer une démarche de collecte et de capitalisation de données permettant de traiter de manière la plus exhaustive possible les problématiques de conservation auxquelles les entreprises doivent faire face. Une des sorties attendues du projet était notamment la réalisation d'un outil d'aide à la conception d'EAM et d'aide au choix d'un emballage (Fig. 1) utilisable par les acteurs de la filière (centres et instituts techniques, entreprises de l'agroalimentaire, et du secteur de l'emballage, cabinet de conseil).

Travaux réalisés dans le projet ANR MAP'OPT

L'approche utilisée combine la mise au point de méthodes analytiques et numériques originales permettant (1) l'acquisition de données de solubilité et diffusivités des gaz (O₂/CO₂) dans les aliments, (2) le développement de modèles décrivant les gradients et les teneurs en gaz dans le système aliment/emballage ainsi que les cinétiques de croissance des microorganismes liées à ces teneurs en gaz, (3) la validation expérimentale des modèles et (4) la capitalisation des données acquises avec des outils issus des sciences de l'ingénieur. Ce projet est donc pluridisciplinaire à l'interface entre sciences de l'aliment, génie des procédés, microbiologie, informatique et sciences de l'ingénieur.

La stratégie adoptée a été de développer un modèle général permettant de prédire l'évolution des compositions gazeuses et la durée de vie estimée à partir de la qualité microbiologique des aliments conditionnés sous EAM. Ce modèle avait pour but de permettre de mieux comprendre et hiérarchiser les phénomènes mis en jeu, mais également de proposer un outil d'aide à la conception d'EAM. Le manque de données sur les transferts de gaz et sur l'impact de ces mêmes gaz sur la croissance bactérienne nous a conduits à focaliser les premiers travaux du projet sur ces aspects de manière à disposer de données quantitatives. Une fois les données acquises, le modèle a été validé par des tests en conditions simplifiées et réelles (tests de croissance). Ces approches ont été conduites sur 2 microorganismes cibles, (*Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*) et trois aliments (fromage processé, volaille, saumon frais) et dans des conditionnements (atmosphère et matériau d'emballage) variés permettant de représenter un large panel de systèmes industriels.

Une capitalisation des données acquises ou collectées au cours du projet a été systématiquement menée de manière à adosser à l'outil mathématique des bases de données relativement exhaustives pour permettre une utilisation rapide dès la fin du projet de l'outil

par le monde industriel. Enfin, pour faciliter l'exploitation rapide des résultats de Map'Opt par les industries, une application informatique a été créée.

Différentes méthodes ont été revisitées, améliorées et/ou développées :

- Revue, amélioration et test des méthodes de détermination de la solubilité et de la diffusivité du CO₂, et de l'O₂, dans des matrices solides et acquisition de données,
- Mesures des perméabilités des emballages cités dans le projet dans les conditions de leur mise en œuvre, c'est-à-dire à des températures de réfrigération (4°C et 8°C),
- Enrichissement avec des données de perméabilité des emballages par une approche de capitalisation de connaissances basée sur le développement d'ontologie et d'une méthode semi-automatisée d'extraction de données,
- Développement de méthodes microbiologiques permettant de mesurer l'effet des gaz indépendamment des autres facteurs environnementaux sur le comportement des bactéries, identification des formes actives des gaz et acquisition de données et développement de modèles de croissance bactérienne en fonction de la teneur en gaz. Détermination de valeurs critiques pour la croissance et pour l'inhibition.
- Développement de modèles prévoyant la modification de la teneur en gaz liée à la perméabilité de l'emballage avec la première loi de Fick, la solubilité des gaz (loi de Henry), la diffusion des gaz dans l'aliment solides (seconde loi de Fick), et les développements de modèles mathématiques de croissance bactérienne (modèles cardinaux).
- Développement d'un guide d'utilisation et d'optimisation des teneurs en gaz dans l'aliment et développement d'un logiciel de calcul.

LES PRINCIPAUX RESULTATS

Des méthodologies innovantes pour caractériser la diffusion et les gradients de gaz (O₂/CO₂) dans les aliments

La quantification de la teneur en gaz et du gradient de concentration des gaz dans l'aliment constitue l'un des points clé pour la validation des modèles de transferts de gaz et la simulation des développements bactériens. Des méthodes de dosage du CO₂ dissous et de la pression partielle en O₂ ont été choisies à partir d'une synthèse bibliographique (Chaix et al., 2014). Pour le CO₂ la méthode par titration chimique (Gill and Ahvenainen, 2003; Gill, 1988) s'est révélée la plus versatile à mettre en œuvre dans les dispositifs de mesure de la solubilité et de la diffusivité ainsi que pour mesurer les gradients de concentration en CO₂ dans l'aliment (fig. 4) (Chaix et al., 2014). La solubilité du CO₂ a été mesurée dans divers produits alimentaires réels (fromage processé, jambon et beurre) ; la loi de Henry a été validée dans le fromage processé avec une meilleure corrélation que celle obtenue dans une étude précédente sur fromage à pâte pressée (Jakobsen et al., 2009). Cette meilleure corrélation a été obtenue grâce à une amélioration de la technique de dosage du CO₂ (meilleur contrôle du « blanc »).

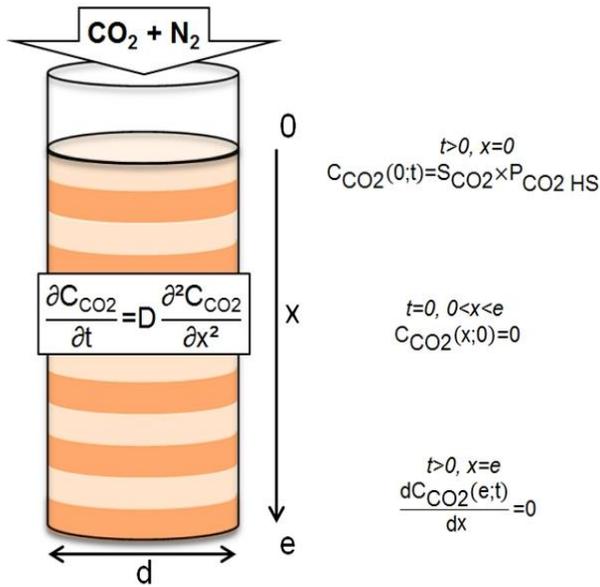


Fig.4 - Méthode de mesure des profils locaux de distribution en gaz dissous dans l'aliment et mise en équation du système pour une identification du coefficient de diffusion du CO₂ à partir de ces profils

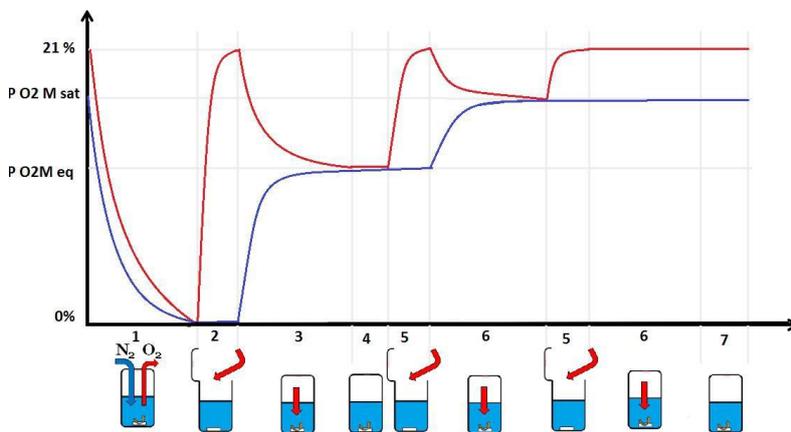


Fig. 5 - Méthode de mesure de la solubilité de l'O₂ dans des produits liquides basées sur la détermination de la chute de pression partielle dans l'espace de tête au contact par extinction de luminescence

En ce qui concerne l'O₂, aucune méthode de dosage direct n'a pu être utilisée et des sondes à extinction de luminescence permettant seulement une mesure de la pression partielle en O₂ ont été mises en œuvre dans des dispositifs dédiés ((Chaix et al., n.d.; Pénicaud et al., 2010). Cela a nécessité d'adapter les systèmes expérimentaux, notamment pour la mesure de la solubilité, de manière à pouvoir calculer, à partir de cette pression partielle et de ses variations au cours du temps, une quantité d'O₂ dissous dans l'aliment.

Les méthodes de mesure de la sorption de l'O₂ étudiées sont : 1) une sorption de l'O₂ détectée par chute de pression partielle de l'espace de tête (détection par sonde à extinction de luminescence), 2) par désorption de l'O₂ du produit sous flux dynamique et dosage par chromatographie gazeuse, 3) un dosage direct de l'O₂ par titration chimique, et 4) une désorption d'oxygène en phase aqueuse et détection du saut de pression partielle par sonde

à extinction de luminescence. Les deux méthodes les plus prometteuses sont la 1) pour les liquides et la 4) pour les solides. Dans le cas des liquides, le produit est placé dans une enceinte fermée, et la pression partielle dans l'enceinte à l'équilibre est suivie (fig. 5). Le dosage est précis pour des volumes d'échantillons de 1 litre mais elle est difficile à appliquer pour des prises d'échantillon de l'ordre de 50 ml. Les temps de mise en équilibre peuvent être très longs dans le cas de produits solides car la diffusion de l'O₂ dans le produit est alors le phénomène limitant. Ce phénomène est d'autant plus important que le volume de produit minimum à mettre en œuvre est assez conséquent de manière à observer une chute de pression partielle quantifiable dans l'atmosphère au contact. Dans le cas des solides, il est donc préférable de placer le produit dans une phase aqueuse de volume considéré infini par rapport à celui du produit (méthode 4). La désorption d'O₂ dans la phase aqueuse sous agitation est mesurée par une sonde à extinction de luminescence. A l'équilibre, la loi des gaz parfaits permet de recalculer le nombre de moles d'O₂ dissoutes initialement dans le produit. Cette méthode est d'autant plus efficace que le produit peut se déliter dans la phase aqueuse augmentant ainsi la surface d'échange et l'extraction de l'O₂. Les valeurs de solubilité de l'oxygène dans l'eau et dans l'huile d'olive sont comparables à celles précédemment publiées. Pour l'huile de tournesol, les valeurs sont plutôt élevées avec une forte probabilité d'avoir un phénomène d'oxydation qui vient perturber la mesure. Dans le cas du fromage modèle (fromage processé), les valeurs obtenues sont cohérentes avec les valeurs publiées dans la littérature scientifique.

Les deux méthodes de dosages précédentes ont été adaptées dans des dispositifs dédiés pour mesurer un transfert et en déduire la diffusivité du gaz correspondant : O₂ (Chaix et al., n.d.) et CO₂ (Chaix et al., n.d.). Ces méthodes, quoique difficiles à mettre en œuvre, ont néanmoins permis d'estimer de façon précise < 20% la diffusivité de l'O₂ de produits solides (fromage processé et jambon) et de différentes huiles synthétiques. A partir de ces données, l'énergie d'activation de la diffusion de l'O₂, valeurs particulièrement rares dans la littérature en ce qui concerne les aliments, a pu être calculée. Des mesures de DO₂ dans des huiles synthétiques (miglyols) de viscosité croissante (jusqu'à l'état solide) n'ont pas permis d'identifier un impact significatif de ce paramètre sur DO₂.

Aucune relation permettant d'estimer la diffusivité que ce soit à l'O₂ ou au CO₂ à partir de la composition et/ou texture de l'aliment n'a pas pu être établie que ce soit à partir des données acquises dans le cadre du projet ou bien celles issues de la littérature. Au total, en comptant les valeurs acquises dans le projet plus celles recensées dans la littérature, ce sont 81 valeurs de solubilité de l'O₂, 138 valeurs de solubilité du CO₂, 43 valeurs de diffusivité à l'O₂, 33 valeurs de diffusivité au CO₂ qui ont été capitalisées.

De nouvelles données de Perméabilités des films et des barquettes operculées

En complément de ces travaux et dans le cas des couples matériaux/gaz/produits sélectionnés pour les validations des résultats des simulations, des valeurs ont été acquises sur les perméabilités des films et des barquettes operculées pour l'O₂ et le CO₂ et dans des conditions de température et d'humidité suivantes : 23°C-0%HR, 23°C-80%HR, 15°C-80%HR, 08°C-80%HR. Les résultats indiquent une bonne répétabilité. Pour la perméabilité à l'O₂ dans le cas de la condition à 8°C – 80%HR, des difficultés liées à la condensation dans la chambre et ne permettant pas de mesurer la perméabilité, des problèmes d'étanchéité liés aux fortes épaisseurs des feuilles ont nécessité le montage d'un système avec déport de cellules externes placées dans une enceinte climatique et la fabrication d'une nouvelle cellule.

Pour la perméabilité au CO₂ dans les conditions à 80% d'HR, la barrière fonctionnelle des matériaux entraîne une sensibilité insuffisante pour descendre en dessous de 10cc/m²/24h, couplée à un problème pour générer de l'humidité à 80%. Une cellule de surface de 300 cm² au lieu de 100 cm² a été fabriquée pour atteindre une limite de détection à 3 cc/m²/24h et un montage spécifique a été réalisé avec un générateur de type point de rosée. Un piège d'humidité en sortie de la cellule a été ajouté pour éviter l'endommagement de la colonne chromatographique.

Les données de perméabilité ainsi obtenues ont été cumulées avec celles acquises et fournies par l'un des partenaires aboutissant à une base contenant plus de 800 données de perméabilité. Par ailleurs, plus de 300 données de solubilité/diffusivité O₂/CO₂ dans les aliments ont été capitalisées.

Des bases de données et un logiciel de capitalisation de données

Concernant la perméabilité aux gaz des emballages, la solubilité et la diffusivité O₂/CO₂ dans les aliments, un système d'intégration de données scientifiques hétérogènes, provenant de sources multiples a été développé pour permettre leur réutilisation dans l'outil de simulation développé dans le projet. Cette partie du travail a concerné l'extraction de données issues de tableaux scientifiques afin de constituer une base de données contenant une synthèse structurée de l'essentiel des informations contenues dans les sources utilisées.

Le point de départ de ces travaux a été la constitution d'une ontologie dans le domaine de la microbiologie alimentaire. Cette ontologie a été étendue au domaine de l'emballage de manière à enrichir la base de données préexistante sur la microbiologie alimentaire avec des données sur la solubilité et la diffusivité O₂/CO₂ dans les aliments et la perméabilité aux gaz des emballages étudiés dans le projet. Une annotation sémantique semi manuelle, guidée par l'ontologie ainsi étendue, a été réalisée sur les tableaux de documents pertinents pour le domaine d'étude ([Buche et al., 2013](#)). Les données capitalisées à partir de ces tableaux annotés ont ensuite été utilisées pour paramétrer le **modèle mathématique couplant transferts de gaz et développement microbien**. Par ailleurs, le vocabulaire de l'ontologie (Fig. 6) a été utilisé pour guider l'interrogation de la base de données construite. Une méthode d'évolution de cette ontologie a été développée ([Touhami et al. 2013](#))~~Buche et al., 2013~~.

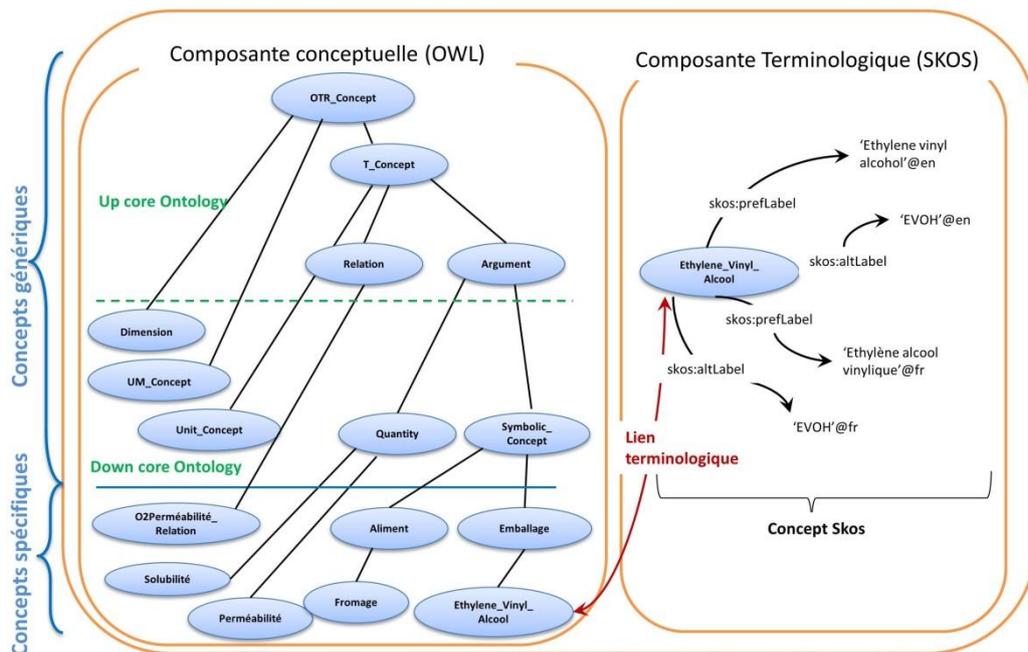


Fig. 6 - Exemple de représentation de l'ontologie dans le domaine des transferts dans le système emballage aliment.

Les résultats valorisables sont constitués de la base de données MySQL sur la solubilité et la diffusivité O₂/CO₂ dans les aliments et la perméabilité aux gaz des emballages, d'une ontologie dans le domaine de la microbiologie alimentaire étendue aux emballages, ainsi que ~~du~~ logiciel @Web permettant la gestion de cette ontologie (Fig. 7) et l'annotation semi-manuelle, guidée par cette ontologie, de tableaux issus de documents scientifiques de la littérature, ~~ceci afin d'enrichir la base de données existantes avec des données de solubilité, diffusivité et de perméabilité extraites de ces tableaux.~~ Cette base est interrogeable grâce à un système d'interrogation ~~adapté~~ qui s'appuie sur l'ontologie. Elle est également utilisée pour alimenter l'outil de calcul permettant de dimensionner un emballage pour un volume de produit, une composition gazeuse en lien avec une durée de vie d'une denrée (Guillard et al. 2015):

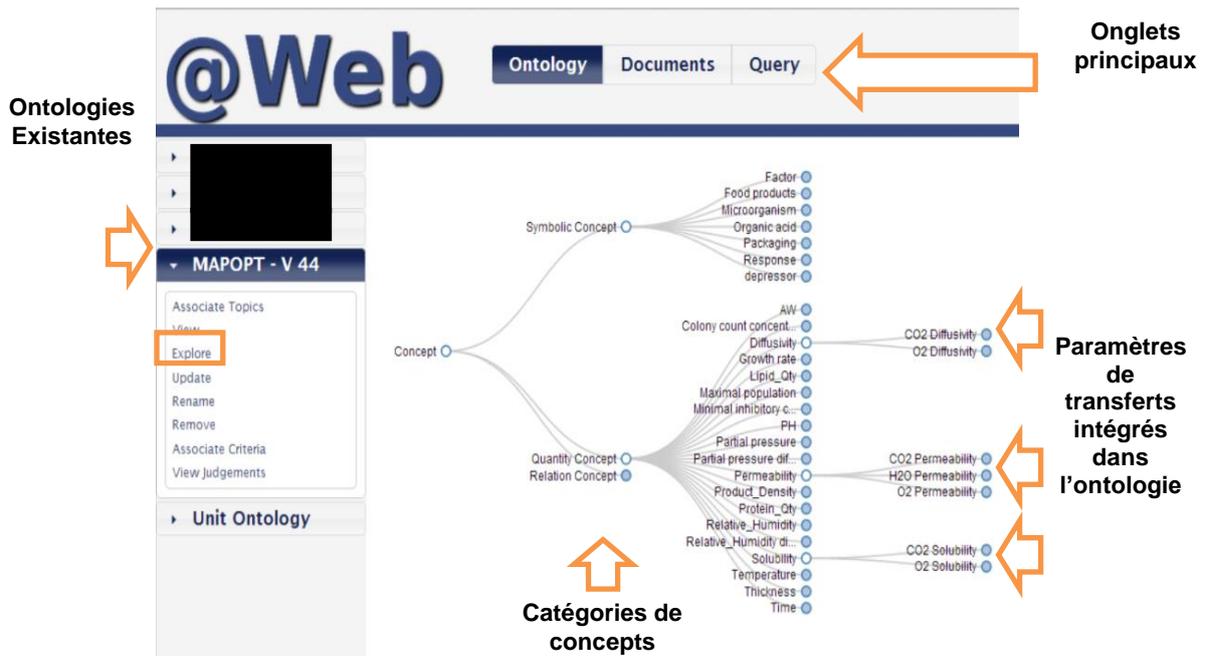


Fig. 7 - Exploration de l'ontologie "Map'Opt" prenant en compte les transferts de masse

De nouvelles connaissances et modèles sur l'impact des gaz (O_2/CO_2) sur la croissance microbienne

La modélisation de l'effet de la pression partielle en CO_2 sur le développement des espèces bactériennes *Listeria monocytogenes* et *Pseudomonas fluorescens* choisies dans l'étude a été développée à partir de données acquises dans des conditions constantes de teneur en gaz pendant la durée de l'essai sous un flux de 10 L/heure de gaz (fig. 8). Le gaz va se dissoudre et se dissocier selon la température, le pH et les constantes de dissociation du gaz. L'effet du CO_2 à différentes températures et à différents pH a été étudié pour différentes teneurs en gaz : 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.



Fig. 8 - Dispositif d'étude de l'effet du CO₂ à teneur constante sur la croissance bactérienne en flacon (gauche) ou sous hotte à atmosphère contrôlée (droite).

Dans le milieu de culture, les espèces chimiques en solution sont réparties en trois entités : H₂CO₃, HCO₃⁻, CO₃²⁻. Les concentrations sont fonction de la pression partielle en CO₂ atmosphérique et de la solubilité du CO₂ dans le milieu de culture et la température. Le pH intervient sur la dissociation et les proportions des différentes entités dans le milieu H₂CO₃, HCO₃⁻, CO₃²⁻. Les résultats indiquent une relation linéaire entre la concentration en H₂CO₃ et le taux de croissance de la bactérie (fig. 9). Ainsi, il y a peu d'effet du CO₂ à 37°C parce que la quantité solubilisée est faible et que la concentration en H₂CO₃ est insuffisante.

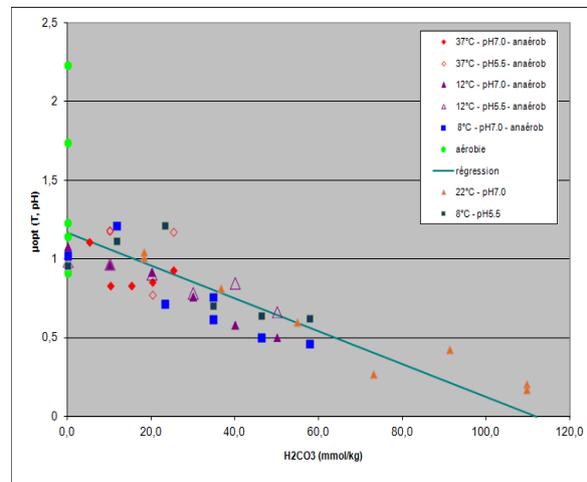
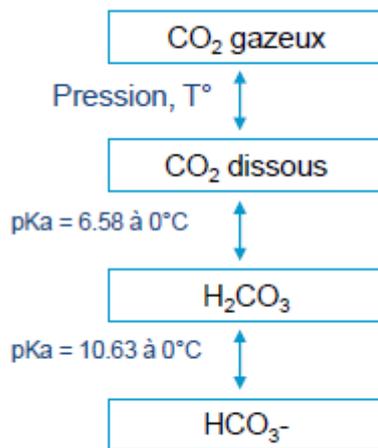


Fig. 9 - Les différentes formes du CO₂ dans l'emballage et l'aliment et Effet de la teneur en H₂CO₃ sur le taux de croissance de *Listeria monocytogenes*.

La fonction gamma (Zwietering et al., 1990) exprimant l'évolution du taux de croissance en fonction du taux de H₂CO₃ a été exprimée de la manière suivante : $\gamma_{CO_2} = 1 - H_2CO_3/MIC$, MIC étant la concentration minimale inhibitrice en H₂CO₃. La concentration en H₂CO₃ est mesurée à partir de la constante de Henry et la prise en compte du coefficient de dissociation.

L'influence du taux d'oxygène sur le comportement de *Pseudomonas fluorescens*, de *Listeria monocytogenes* et de *Clostridium perfringens* a été étudiée sous une hotte hypoxie avec un contrôle de la température et des conditions gazeuses en CO₂, O₂, et N₂. Cette méthode permet une acquisition rapide de données nécessaires à l'acquisition de valeurs cardinales pour l'utilisation des modèles. Pour *Listeria monocytogenes*, il n'y a pas d'influence du taux d'O₂ sur le taux de croissance. Par contre, les données expérimentales tendent à montrer une influence du taux d'O₂ sur le temps de latence. Pour *Pseudomonas*, le taux de croissance s'accroît avec l'augmentation du taux d'oxygène sans qu'il y ait d'effet sur le temps de latence ou le nombre maximum de bactéries en fin de croissance. Un modèle a été développé sur la base du modèle de Monod. Pour *Clostridium perfringens*, il n'y a pas de croissance pour des taux d'oxygène supérieurs à 5%.

Un modèle mathématique couplant transferts de gaz et développement microbien : nouvel outil d'aide au dimensionnement d'EAM

Les modèles de transfert de matière dans le système aliment/emballage ont été couplés aux modèles de microbiologie prévisionnelle dans un unique système d'EDO (Equations Différentiels Ordinaires) permettant de prendre en compte dans le modèle de croissance microbien la dynamique des profils gazeux dans l'aliment, ce qui n'avait jamais été fait auparavant (Chaix et al., 2015). Ce système EDO a été programmé et résolu sous MATLAB. Le modèle ne prend en compte, à date, que des transferts monodirectionnels ce qui s'est révélé assez bien représentatif de la réalité. Le modèle permet de prendre en compte également des phénomènes additionnels de consommation d'O₂ et production de CO₂ liés notamment à un métabolisme respiratoire non négligeable de la part du microorganisme d'intérêt et/ou d'une flore annexe.

Ce modèle a été validé en conditions de laboratoire sur produit modèle (fromage processé) en deux étapes : (1) une étape préliminaire où les transferts ont été validés sur le système complet aliment/emballage (sans microorganisme) et (2) une seconde étape combinant transfert et développement microbien (avec *Listeria monocytogenes* puis *Pseudomonas fluorescens*). Cette première étape a établi que le modèle général, bien que comportant pour une seule simulation, 47 paramètres d'entrée dont plus de la moitié estimés à partir de données de la littérature, permettait de prédire de manière tout à fait satisfaisante les transferts de gaz et le développement microbien et ce, sans réajustement d'aucun paramètre. Une analyse de sensibilité a révélé que les paramètres d'entrée du modèle microbiologique étaient les plus impactants sur la précision de la prédiction dans les conditions des expérimentations de validation (notamment large volume d'espace de tête entraînant un ratio espace de tête/aliment très grand). Cependant, dans des conditions plus réalistes, la solubilité du CO₂ et dans une moindre mesure sa diffusivité peuvent fortement impacter la prédiction des transferts de gaz mais également le développement microbien pour un germe sensible au CO₂. Il s'avère donc indispensable de considérer la dynamique des gaz dans les EAM de manière à prédire de façon satisfaisante l'impact des gaz sur la croissance microbienne.

Ce modèle a également été validé en conditions réelles au travers de challenge-tests réalisés sur trois produits (fromage processé, saumon frais, volaille) conditionnés avec des emballages commerciaux en entreprise ou sur pilote industriel.

Les challenges test ont généré un nombre très conséquent (17 tests au total, soit pas moins de 214 points de mesure des gaz de l'espace de tête et 1086 analyses microbiologiques en comptant la répétabilité) de données expérimentales de suivi de l'évolution des gaz intra-emballage et de croissance microbienne. Ces données ont été comparées de manière systématique avec les prédictions du modèle. De manière générale, le modèle prédit correctement l'évolution des gaz et le développement microbien dans les systèmes testés avec une erreur de moins de 15% sur les gaz et 25%¹ sur le développement microbien (fig. 10). L'erreur sur la prédiction provient en général d'une mauvaise estimation du taux de croissance optimal de la souche sur l'aliment ou de la géométrie du système (épaisseur, surface d'échange et volume du produit et de l'espace de tête qui ne sont pas faciles à évaluer sur produits réels) et qui a un fort impact sur la qualité de la prédiction. En outre, des phénomènes additionnels de consommation d'O₂ et production de CO₂ se produisent quasiment dans un test sur deux. Il s'agit en général d'une consommation par la flore annexe ou bien par le microorganisme étudié lui-même (cas de *Pseudomonas*). On ne peut donc pas exclure la consommation d'O₂ dans la mesure où celle-ci peut-être très importante : chute de 21% d'O₂ à 0% d'O₂ en moins de 4 jours dans l'espace de tête, par exemple. Il est donc indispensable de la considérer dans le modèle pour que la simulation représente bien la réalité. Une approche de modélisation de cette respiration à l'aide de l'équation de Michaelis-Menten a été tentée sur la base d'une précédente étude de la littérature (Thiele et al., 2006). Les paramètres d'entrée de cette équation de la littérature se sont révélés adaptés pour représenter la respiration dans notre étude dans la plupart des cas. Cependant, pour certains tests, nous avons dû ajuster cette valeur en fonction de nos données, notamment en ce qui concerne la production de CO₂. Il s'avère que la production de CO₂ n'est pas toujours corrélée à la production d'O₂ et que ce taux de production varie au cours du temps alors que pour la consommation de l'O₂, le taux semble constant au cours du temps.

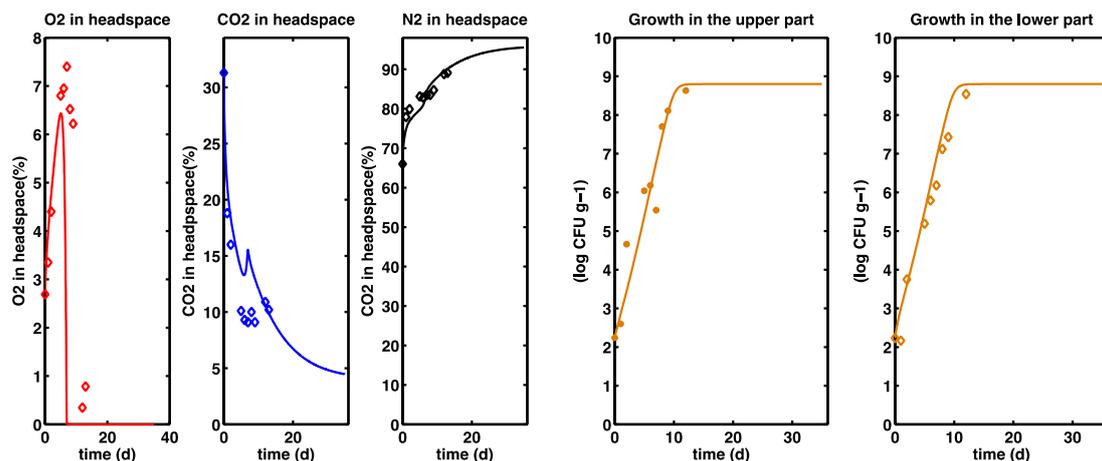


Fig. 10 : exemple de validation du modèle obtenu sur le challenge-test fromage + *Pseudomonas* conditionné sous 30% de CO₂, 2% d'O₂ résiduel et 68% d'N₂ à 8°C (gauche, transfert de gaz et droite, croissance des microorganismes dans la masse, face supérieure ou inférieure)

¹ Déterminée par calcul de la RMSE sous Matlab, Root Mean Square Error, racine de la somme des écarts au carré entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales

Les prédictions du modèle et leur confrontation avec les challenge tests ont permis de confirmer/infirmier que :

- *Listeria monocytogenes* n'est que très peu sensible au CO₂ dans les conditions de l'étude et que pour des teneurs initiales en CO₂ < 50% dans l'espace de tête, il n'était pas utile de prendre en compte ce gaz dans la prédiction de la croissance
- *Pseudomonas* est sensible au CO₂ et à l'O₂ ce qui est bien représenté par le modèle. Cependant, l'O₂ semble prépondérant dans l'inhibition de la croissance notamment lorsqu'il y a consommation d'O₂ dans le produit par une flore annexe. La concentration en O₂ dans l'espace de tête chute alors rapidement à 0 limitant la croissance de *Pseudomonas* ;
- Il est indispensable de prendre en compte la dynamique des gaz dans les EAM de manière à (i) représenter correctement l'évolution des concentrations gazeuses intra-emballages et (ii) prédire correctement la croissance des germes aérobies et/ou sensibles au CO₂ ;
- Il est nécessaire de mieux formaliser la consommation d'O₂ et la production de CO₂ dans les EAM pour bien représenter la dynamique des gaz et donc la croissance microbienne (germes aérobies et/ou sensibles au CO₂).

Une fois validé, le modèle a été utilisé pour réaliser des simulations dans différentes configurations. Il permet entre autres, de déterminer l'atmosphère initiale et les perméabilités de l'emballage nécessaires pour maintenir la croissance du microorganisme ciblé au dessous d'un certain niveau. Un exemple de l'utilisation du modèle comme outil d'aide au dimensionnement d'emballage peut-être trouvé dans (CHAIX et al., n.d.).

Pour un usage plus convivial du modèle développé (programme sous Matlab), celui-ci a été interfacé et exporté dans une application.

EXPLOITATION DES RESULTATS

Les résultats valorisables sur le plan industriel sont:

- La base de données MySQL sur la solubilité/diffusivité O₂/CO₂ des aliments et la perméabilité aux gaz des emballages.
- Le logiciel @Web (Annotating Tables from the Web) qui permet d'alimenter un entrepôt de données avec des données extraites de tableaux trouvés dans des documents scientifiques issus du web qui ont été sémantiquement annotés avec des concepts de l'ontologie, ceci afin d'enrichir les bases locales existantes. Le logiciel @Web comporte trois modules complémentaires permettant (1) la gestion de la RTO, (2) l'annotation manuelle d'un tableau en utilisant la RTO et (3) l'interrogation de l'entrepôt de données.
- L'outil de calcul pour le dimensionnement d'un emballage pour un volume de produit, une composition gazeuse en lien avec une durée de vie d'une denrée.
- L'outil de simulation et la base de données associée (perméabilité, O₂/CO₂ des emballages, solubilité/diffusivité O₂/CO₂ des aliments) seront proposés à Sym'Previs pour intégration :
 - o Soit sous forme de lien à partir du portail Sym'Previs,
 - o Soit sous forme complètement intégrée à Sym'Previs,

Une valorisation directe par les instituts techniques lors de leurs activités de prestation/conseil sera réalisée.

Des modules de cours et des études de cas seront accessibles via la plateforme ACTIA ProPack Food Training (<http://rmt-propackfood.actia-asso.eu>).

Des formations et une exploitation des résultats seront réalisées via les RMT ACTIA ProPack Food et QUALIMA « Maîtrise de la qualité microbiologique des aliments ».

Références

- Buche, P., Dervaux, S., Dibie-Barthélemy, J., Soler, L., Touhami, R. and Ibanescu, L. (2013). Intégration de données hétérogènes et imprécises guidée par une Ressource Terminologique, Application au domaine des sciences du vivant. *Revue d'Intelligence Artificielle* (article invité), 27, 539-568
- CHAIX, E., BROYART, B., COUVERT, O., GUILLAUME, C., GONTARD, N., Guillard, V., n.d. Mechanistic model coupling gas exchange dynamics and listeria monocytogenes growth in modified atmosphere packaging of non respiring food. *Food Microbiol.*
- Chaix, E., Couvert, O., Guillaume, C., Gontard, N., Guillard, V., 2015. Predictive Microbiology Coupled with Gas (O₂/CO₂) Transfer in Food/Packaging Systems: How to Develop an Efficient Decision Support Tool for Food Packaging. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14, 1–21.
- Chaix, E., Guillaume, C., Gontard, N., n.d. Diffusivity and solubility of CO₂ in dense solid food products. *J. Food Eng.*
- Chaix, E., Guillaume, C., Gontard, N., Guillard, V., n.d. Oxygen diffusion in liquid and solid food products: impact of temperature and viscosity. *Food Chemistry. Food Chem.*
- Chaix, E., Guillaume, C., Guillard, V., 2014. Oxygen and Carbon Dioxide Solubility and Diffusivity in Solid Food Matrices: A Review of Past and Current Knowledge. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 261–286. doi:10.1111/1541-4337.12058
- Gill, C.O., 1988. The solubility of carbon dioxide in meat. *Meat Sci.* 22, 65–71.
- Gill, C.O., Ahvenainen, R., 2003. Active packaging in practice: meat, in: *Novel Food Packaging Techniques*. Woodhead Publishing Ltd, pp. 365–383.
- [Guillard G., Buche P., Desterecke S., Menut L., Guillaume C., Gontard N.. \(2015\) A Decision Support System for designing biodegradable packaging for fresh produce. *Computers and Electronics in Agriculture* 111:131-139.](#)
- Jakobsen, M., Jensen, P.N., Risbo, J., 2009. Assessment of carbon dioxide solubility coefficients for semihard cheeses: the effect of temperature and fat content. *Eur. Food Res. Technol.* 229, 287–294. doi:10.1007/s00217-009-1059-3

Pénicaud, C., Guilbert, S., Peyron, S., Gontard, N., Guillard, V., 2010. Oxygen transfer in foods using oxygen luminescence sensors: Influence of oxygen partial pressure and food nature and composition . Food Chem. 123, 127–1281.

Pénicaud, C., Peyron, S., Gontard, N., Guillard, V., 2012. Oxygen quantification methods and application to the determination of oxygen diffusion and solubility coefficients in food. Food Rev. Int.

[Touhami R., Buche P., Dibie-Barthélemy J., Ibanescu L.: Évolution d'une ontologie dédiée à la représentation de relations n-aires. EGC 2013: 413-418](#)

Thiele, T., Kamphoff, M., Kunz, B., 2006. Modeling the respiration of *Pseudomonas fluorescens* on solid-state lettuce-juice agar. J. Food Eng. 77, 853–857.

Zwietering, M., Jongenburger, I., Rombouts, F., van 't Riet, K., 1990. Modeling of the bacterial growth curve. Appl. Environ. Microbiol. 56, 1975–1881.