

**UNIVERSITE DE LIMOGES**

**FACULTE DE PHARMACIE**

---

Année 1992

Thèse n° 384

**ESSAI D'AMELIORATION DE L'ASPECT  
EXTERIEUR D'UNE  
CHARCUTERIE SECHE INDUSTRIELLE**

**THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement le lundi 21 septembre 1992

Par

**CORINNE DEMARS**

née le 6 février 1965 à CHATEAUROUX

---

**EXAMINATEURS DE LA THESE :**

Monsieur le Professeur NICOLAS	.....	Président
Monsieur le Professeur LARPENT	.....	Juge
Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences	.....	Juge

# UNIVERSITE DE LIMOGES

## FACULTE DE PHARMACIE

---

DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur RABY

ASSESEURS : Monsieur le Professeur GHESTEM (1er assesseur)  
Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences (2ème assesseur)

### PERSONNEL ENSEIGNANT

#### \* PROFESSEUR DES UNIVERSITES

BENEYTOUT Jean-Louis	Biochimie
BERNARD Michel	Physique-Biophysique
BOSGIRAUD Claudine	Microbiologie
BROSSARD Claude	Pharmacotechnie
BUXERAUD Jacques	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
CHULIA Albert	Pharmacognosie
CHULIA Dominique	Pharmacotechnie
DELAGE Christiane	Chimie Générale et Minérale
GALEN François Xavier	Physiologie
GHESTEM Axel	Botanique et Cryptogamie
GUICHARD Claude	Toxicologie
HABRIOUX Gérard	Biochimie
LEFORT DES YLOUSES Daniel	Pharmacie Galénique
NICOLAS Jean Albert	Bactériologie et Virologie, Parasitologie
OUDART Nicole	Pharmacodynamie
PENICAUT Bernard	Chimie Analytique et Bromatologie
RABY Claude	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
TIXIER Marie	Biochimie

SECRETAIRE GENERALE DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS :

POMMARET Maryse

Au Président de Thèse :

Monsieur le Professeur Jean-Albert NICOLAS,  
Professeur des Universités de Bactériologie, Virologie et Parasitologie,

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant la présidence de ce jury.

Veillez trouver ci-joint le témoignage de ma sincère reconnaissance pour l'enseignement dispensé au cours de mes études.

A Monsieur le Professeur Jean Paul LARPENT,  
Professeur des Universités de Microbiologie

Je vous remercie pour le très large soutien que vous m'avez apporté dans l'élaboration de ce travail.

Veillez trouver ici l'assurance de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur Gilles DREYFUSS,  
Maître de Conférences de Parasitologie,

Je tiens à vous témoigner ma gratitude pour l'aide que vous m'avez apportée dans la rédaction de cette thèse.

Veillez trouver ici l'expression de ma respectueuse considération.

A Messieurs Guerineau, Marganne, Sirami,

Je vous remercie pour les précieux renseignements pratiques que vous m'avez apportés.

A Madame SENIMON (BIOCRIT), Monsieur Chambon (BIODEV),

Je vous remercie pour l'aide apporté dans la préparation de cette étude.

Au Directeur de l'Entreprise et à ses employés

A Annie pour sa patience et sa gentillesse.

A Philippe pour son savoir-faire.

## INTRODUCTION

Le saucisson est une denrée courante, consommée rapidement après sa fabrication.

Il n'en a pas toujours été ainsi ; jadis, cet aliment représentait, comme la plupart des produits de charcuterie, une des formes de stockage de la viande.

Pour conserver la viande dont la durée d'utilisation est très limitée en l'absence des techniques liées au froid, il fait appel à des procédés de salage, séchage, fermentation, fumage ou cuisson.

Les trois premiers, salage, séchage, et fermentation sont à la base de la fabrication du saucisson sec, ces procédés conduisant à stimuler l'action métabolique des micro-organismes présents dans la viande (Fournaud 1976).

A l'occasion d'un incident de fabrication survenu dans une entreprise de la région de Limoges, nous avons été amenés à étudier la cinétique d'apparition des moisissures à la surface des saucissons. Parallèlement nous avons évalué l'efficacité

anti-fongique d'un additif alimentaire présent à des concentrations diverses dans le talc saupoudré sur le produit fini.

Avant de décrire le protocole utilisé et les résultats obtenus, nous présentons dans un premier chapitre un bref historique des salaisons, puis un rappel technique sur les procédés actuels de fabrication industrielle.

## HISTORIQUE

Depuis les époques les plus reculées, l'homme a constaté qu'il devait consommer la viande fraîche très rapidement sous peine de la perdre par putréfaction : ceci l'a obligé à imaginer des techniques de conservation.

Dans l'Antiquité, les égyptiens prolongaient la conservation de la viande par le salage et le séchage au soleil.

Les romains furent les premiers à utiliser le froid pour la même raison, pense-t-on.

Les bouchers romains coupaient la viande de porc ou de boeuf en petits morceaux et y ajoutaient du sel, du sucre et des épices ; ils mettaient l'ensemble dans des pots de terre ou des intestins d'animaux lavés puis plaçaient ce mélange dans des salles aménagées spécialement pour le séchage (Bacus 1984).

Le climat relativement doux et humide de ces régions favorisait la maturation de ce type de saucisse fermentée.

Ainsi la saucisse est l'une des plus vieilles formes d'aliment préparé qui ait été consommé par les babyloniens, les grecs et les romains durant leurs campagnes militaires.

L'historien Pederson (1980 *in* Bacus 1984) écrit :

"Les saucisses, en tant que réserves de viande, sont considérées comme l'un des facteurs clés de la réussite des légions de César".

L'appellation saucisse provient du latin *salsus* = sel.

Ce procédé de conservation est alors très répandu sur le pourtour méditerranéen, entre autres en France, en Hongrie et dans les pays balkaniques. Les anciens en firent même un art culinaire aboutissant à divers types de préparation prenant le nom de la ville ou de la région d'origine : exemple : le Port de SALAMI sur la côte est de Chypre est pour de nombreux historiens à l'origine du terme salami. (Bacus 1984).

A la même époque le nord de l'Europe (pays germaniques) conserve sa viande, non hachée, par salage et séchage à l'air.

Il y a 150 ans, la préparation des saucisses fermentées s'est peu à peu développée dans ces pays germaniques, mais le séchage se faisait à la fumée souvent suivi d'une cuisson (Wood 1985).

Cette étude montre le poids de la tradition dans la fabrication des différentes charcuteries :

- dans les pays germaniques on prépare des saucisses séchées à la fumée voire cuites,
- dans les pays méditerranéens les saucisses sont séchées à l'air libre et épicées.

La tradition en France veut aussi que sur certaines charcuteries on laisse se développer une flore fongique. Ce procédé s'appelle le fleurage.

La fabrication de ces produits a longtemps été considérée comme un art très spécifique d'une région. La tradition en fut transmise oralement.

La diversité régionale et la complexité des phénomènes mis en jeu ont retardé les études scientifiques. Elles ont débuté vers 1930 aux Etats-Unis pour tenter de réduire le temps de fabrication, d'uniformiser la production donc de diminuer le coût et par la même de rentabiliser ce type de produit.

En Europe ces études ont commencé vers 1950 (Wood 1985).

Les mécanismes internes entrant en jeu dans la maturation du saucisson sont, à l'heure actuelle, assez bien connus. Cette connaissance a permis d'améliorer la production par l'utilisation de levains qui facilitent la maîtrise des phénomènes internes et limitent les accidents de fabrication. De même, quelques études sur le fleurage, mécanisme d'ensemencement externe, ont permis de mettre au point des procédés contrôlés donnant un résultat satisfaisant par l'utilisation d'espèces fongiques parfaitement connues.

*PREMIERE PARTIE*

**RAPPEL DES TECHNIQUES DE FABRICATION  
ACTUELLE DU SAUCISSON**

La fabrication des saucissons comporte les différentes phases suivantes:

- choix des viandes,
- présalage (souvent supprimé),
- broyage,
- malaxage,
- repos,
- embossage,
- égouttage,
- étuvage,
- séchage,
- finition.

### **1. Le choix des viandes**

Pour obtenir un bon produit, il est important d'utiliser un maigre qui sera "rouge, sec, ferme, provenant d'animaux âgés, viande ayant subi une maturation d'assez courte durée sans congélation et dont l'état bactériologique est satisfaisant".

Le gras doit être "ferme, non huileux, blanc et sans odeur sexuelle". (Durand 1969 *in* Favre 1976). On emploie généralement le gras du dos du porc appelé

"bardière". Les proportions du gras et du maigre dans le "mêlée" sont respectivement de 30/35 % et de 70/65 % (Favre 1976).

## **2. Le présalage**

Le présalage est effectué à une température de 5° C pendant un à trois jours ; il se fera pour le maigre avec du nitrate ou du sel nitrité à 0,6 % de NaNO<sub>2</sub> (30 à 35 g par g de maigre) et pour le gras avec du sel sans nitrate (30 à 35 g par g de gras) (Favre 1976).

Le présalage facilite la solubilisation des protéines.

Il est souvent supprimé pour éviter une multiplication trop importante des Lactobacilles.

## **3. Le broyage**

Il est réalisé à une température légèrement supérieure à 0° C pour le tissu musculaire et légèrement inférieure pour le tissu adipeux, à l'aide de cutters ou de broyeurs (Favre 1976).

## **4. Le malaxage**

C'est à ce stade que s'effectue le mélange des différents ingrédients nécessaires à la maturation du saucisson. Les additifs utilisés sont les suivants :

- le chlorure de sodium
- les nitrates et nitrites
- les sucres
- les ferments de maturation

#### 4.1. Le chlorure de sodium

C'est certainement l'additif le plus anciennement connu. Il joue des rôles multiples, entre autre un rôle bactériostatique : à la concentration de 10 %, il inhibe la croissance de nombreux germes ; à la concentration de 5 % son action ne se fait sentir que sur les anaérobies.

De nos jours l'évolution des goûts fait que la concentration utilisée est inférieure à 3 %. L'emploi d'un autre procédé, le froid, permet de compléter l'action bactériostatique au début de la fabrication. L'action du sel est liée à sa concentration dans la phase aqueuse (Girard 1988).

De plus, le chlorure de sodium est un agent de sapidité : le goût salé est dû à l'anion chlorure  $\text{Cl}^-$  (Girard 1988).

#### 4.2. Les nitrates et nitrites

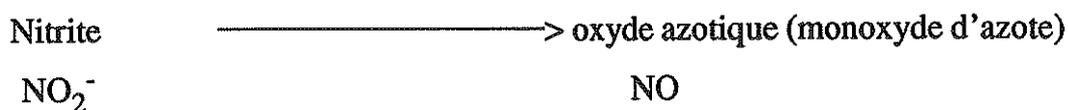
L'utilisation du salpêtre (nitrate de potassium) se fait empiriquement depuis le Moyen-âge et probablement depuis l'époque romaine. En réalité les nitrates sont transformés en nitrites par l'action bactérienne (Polenskim 1891 *in* Girard 1988). Ce sont donc les nitrites qui jouent un rôle dans l'élaboration des caractéristiques des produits de salaison (Girard 1988).

Les nitrates et nitrites ont plusieurs rôles :

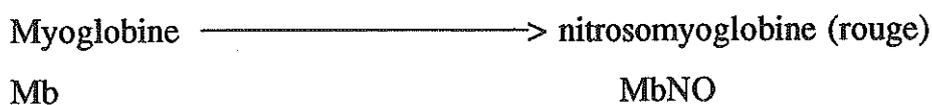
- Les nitrites interviennent dans la couleur des saucissons :

Lehman (1833 *in* Girard 1988) a tenté d'expliquer le mécanisme de cette coloration spécifique, que nous pouvons résumer par les réactions suivantes :

1) réduction



2) nitrosation



- Les nitrites jouent un rôle dans la saveur :

C'est une caractéristique organoleptique qui prend en compte l'odeur et la saveur d'un aliment. Depuis Brooks (1940 in Girard 1988), des travaux ont régulièrement confirmé l'existence d'une saveur spéciale. Les mécanismes responsables de celle-ci sont mal connus.

On constate cependant que la saveur "bacon" croît avec la teneur en nitrites alors que décroît la saveur "pork" (porc traité avec NaCl seul) (Girard 1988).

- Les nitrites interviennent dans la qualité bactériologique des saucissons :

Depuis Tarr (1941 in Girard 1988), le pouvoir bactériologique du nitrite, augmenté en milieu acide, a été reconnu pour un grand nombre de souches, principalement les *Clostridium* et certains staphylocoques (Girard 1988).

#### 4.3. Les sucres

La nature des sucres est variée : glucose, saccharose, lactose, maltodextrine.

Leur rôle est double (Girard 1988):

- ils servent de milieu nutritif aux bactéries responsables de la réduction des nitrates en nitrites.
- ils sont catabolisés en acide lactique qui acidifie le milieu.

#### 4.4. Les ferments de maturation

La maturation du saucisson repose sur le développement d'une flore favorable qui tarde parfois à se manifester. L'introduction dans la "mêlée" de germes utiles peut accélérer le processus tout en l'orientant favorablement si les germes sont bien choisis et en nombre suffisant ( $10^5$  -  $10^6$  cellules par g de mêlée) (Favre 1976).

Trois types d'action sont recherchés dans l'emploi des ferments :

- une acidification du milieu
- une stabilisation de la couleur
- une amélioration de l'arôme

Les micro-organismes impliqués peuvent être des bactéries ou des levures:

#### 4.4.1. Bactéries

Les bactéries utilisées appartiennent à diverses familles :

- *LACTOBACILLACEAE* : genre *Lactobacillus*
- *STREPTOCOCCACEAE* : genre *Pediococcus*

Ces bactéries ont une action acidifiante entraînant :

- une production d'acide lactique à partir de sucres,
- une acidification qui inhibe les germes indésirables,
- une amélioration de la fixation de l'azote sur la myoglobine.

(Lacto labo, document technique, 1986).

• *MICROCOCCACEAE* : genre *Staphylococcus*

Ces bactéries ont une action réductrice et aromatisante entraînant :

- une stabilisation de la couleur grâce à leur pouvoir réducteur.



La myoglobine prend une couleur rouge après transformation en nitrosomyoglobine.

- une amélioration de l'arôme par leur action lipolytique et protéolytique.

Les acides gras et les peptides sont à l'origine des métabolites responsables de la saveur.

#### 4.4.2. Les levures

Les levures du type *Debaryomyces* ont une action aromatisante comparable à celle des *Micrococcaceae*. (Lacto-labo, document technique, 1986).

Un mélange de plusieurs espèces de micro-organismes est recommandé. L'emploi simultané de ces espèces permet de compenser les défauts des unes et des autres, et ainsi d'obtenir par leur complémentarité de bons résultats (Favre 1976). (Annexe figure n° 1).

### 5. Le repos

Le repos de la mée est pratiqué par certains salaisoniers à une température de 4°/5°C pendant quelques heures.

### 6. L'embossage

L'embossage est la phase de remplissage des enveloppes des saucissons. Il s'effectue à 5°C à l'aide de poussoirs munis de cornets. Les boyaux sont naturels, comme le chaudin, ou artificiels, en fibre animale ou en cellulose. Le saucisson obtenu est ferme, rosé ou brunâtre ; les morceaux de gras ressortent bien sous le boyau. (Annexe figure n° 2).

### 7. Le fleurage

Cette phase est effectuée après l'embossage. Elle consiste à plonger les saucissons dans une suspension de spores fongiques (*Penicillium* ou *Penicillium* + levure), qui développeront un enduit blanchâtre à la surface des charcuteries. La nature des espèces fongiques utilisées sera précisée plus loin.

## **8. L'égouttage**

L'égouttage sert à éliminer une partie de l'eau de fabrication. Il est indispensable et dure de six à douze heures à la température de l'atelier de fabrication (10° à 18°C) pendant 1 à 10 heures puis 10 heures à 25 °C.

## **9. L'étuvage**

Cette phase dure de un à cinq jours à une température de 20° à 25°C et sous une hygrométrie de 85 à 90 %.

A ce stade débutent les phénomènes physico-chimiques :

- chute du pH
- amorce de la dessiccation

Cet étuvage est primordial car il permet l'explosion bactérienne tout en favorisant le développement rapide des moisissures de fleurage. Le saucisson obtenu est mat, transparent ; le boyau est très lié au contenu.

## **10. Le séchage**

C'est l'opération la plus longue, sa durée (15 à 100 jours) varie avec le diamètre du produit et le degré de "sèche" désiré.

La température est de 12° à 16°C, l'humidité relative de 75 à 85 %. Les phénomènes qui se déroulent pendant cette période sont groupés sous le terme de maturation-dessiccation.

Les pièces perdent environ 30 % de leur poids initial.

L'opération est lente, donc la durée du séchage est un facteur de qualité.

## - Mécanisme de la dessiccation

Le but de l'opération est de diminuer la teneur en eau des produits. La déshydratation s'effectue suivant deux cinétiques, l'une rapide (départ de l'eau libre) l'autre lente (départ de l'eau liée).

Plus l'eau est liée fortement aux éléments constitutifs, plus il est difficile de l'éliminer. Le degré de liaison de l'eau est défini par un paramètre appelé "activité de l'eau" ( $A_w$ ) prenant des valeurs de zéro à un. L'eau fortement liée correspond aux faibles valeurs de  $A_w$  (de 0 à 0,3).

Le saucisson sec a une  $A_w$  de 0,75 à 0,90. Elle ne perturbe pas les activités enzymatiques, permet la conservation du produit fini ( $A_w < 0,91$ ), limite la croissance des germes indésirables et n'interfère pas avec celle des germes nécessaires à la maturation (Girard 1988).

Le tableau n°1 présente le rôle du paramètre  $A_w$  dans la croissance des micro-organismes.

En même temps que la déshydratation, se déroule une réaction physico-chimique importante : l'acidification.

Elle résulte principalement de la fermentation des sucres en acide lactique et accessoirement du catabolisme des lipides en acides gras libres par les micro-organismes. En fin de maturation, le pH obtenu est de 5,5 à 5,6. Cette acidification a plusieurs conséquences :

a) elle provoque la précipitation des protéines (préalablement solubilisées) et donc la cohésion de la pâte (Larpent 1992).

b) elle limite la prolifération des germes indésirables (Rozier 1969).

c) elle permet l'aromatisation du produit fini. En effet le goût "saucisson" apprécié en France est lié aux acides gras libres et à d'autres produits de dégradation, tels que les produits carbonylés ou les acides aminés libres (Girard 1988).

Par contre, en Allemagne une saveur plus acide est préférée (Girard 1988). Il est important de maîtriser au mieux cette réaction.

SALUBRITÉ

$A_w$	Bactéries	Levures	Moisissures
0,98	<i>Clostridium</i> (1), <i>Pseudomonas</i> *	-	-
0,97	<i>Clostridium</i> (2)	-	-
0,96	<i>Flavobacterium</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Lactobacillus</i> *, <i>Proteus</i> *, <i>Pseudomonas</i> *, <i>Shigella</i>	-	-
0,95	<i>Alcaligenes</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Clostridium</i> (3), <i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Vibrio</i>	-	-
0,94	<i>Lactobacillus</i> , <i>Microbacterium</i> , <i>Pediococcus</i> <i>Streptococcus</i> *, <i>Vibrio</i> *	-	-
0,93	<i>Lactobacillus</i> *, <i>Streptococcus</i>	-	<i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i>
0,92	-	<i>Rhodotorula</i> , <i>Pichia</i>	-
0,91	<i>Corynebacterium</i> , <i>Staphylococcus</i> (4), <i>Streptococcus</i> *	-	-
0,90	<i>Lactobacillus</i> *, <i>Micrococcus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Vibrio</i> *	<i>Hansenula</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Candida</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Hanseniaspora</i> <i>Torulopsis</i>	- - <i>Cladosporium</i> - - -
0,87	-	<i>Debaryomyces</i> *	-
0,86	<i>Staphylococcus</i> (5)	-	<i>Paecilomyces</i>
0,80	-	<i>Saccharomyces</i> *	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Emericella</i> , <i>Eremascus</i> <i>Aspergillus</i> *
0,75	Bactéries halophiles	-	<i>Wallemia</i> <i>Eurotium</i> *
0,70	-	-	<i>Chrysosporium</i>
0,62	-	<i>Saccharomyces</i> *	<i>Eurotium</i> <i>Monascus</i>

\* Différentes souches

- (1) : *Clostridium botulinum*, type C
- (2) : *Clostridium botulinum*, type E et certaines souches de *Cl. perfringens*
- (3) : *Clostridium botulinum*, types A et B, et *Cl. perfringens*
- (4) : anaérobie
- (5) : aérobie

Tableau n° 1

Activité de l'eau minimum pour le développement de divers micro-organismes  
associés aux aliments

D'après LEISTNER et RODEL (1976) (in Girard 1988)

En fin de séchage, les produits présentent ce que les industriels appellent "la fleur" : mélange de cristaux de sel, de bactéries (microcoques, staphylocoques), de levures, de moisissures, se développant sur le boyau (Favre 1976). (Annexe figures n° 3 et 4).

## **11. La finition**

C'est plus une préoccupation commerciale qu'une étape de la fabrication (Favre 1976) ; c'est la mise en valeur du produit fini par :

- un brossage suivi d'un saupoudrage, par exemple, de talc, servant à masquer les imperfections de la fleur,
- un ficelage,
- un étiquetage ou un emballage supplémentaire (cire-cellophane).

En résumé, la fabrication d'un saucisson sec dépend donc d'un grand nombre de facteurs qu'il faut maîtriser au mieux pour obtenir une production de bonne qualité et de caractéristiques constantes.

Des améliorations ont été apportées dans la connaissance des paramètres physico-chimiques :

- température
- taux d'humidité
- temps de séchage

et organoleptiques :

- qualité et dosage des ingrédients

Elles permettent de limiter les accidents de fabrication (Rozier et Durand 1970) :

- saucisson acide (consistance molle, odeur acide, pas d'arôme, goût aigre, fleur peu développée)
- saucisson creux (boyau sec, coloration défectueuse, intérieur creusé de cavités, fleur peu développée)

- saucisson croûté (couleur foncée, fleur peu développée, centre mou entouré d'une croûte de quelques millimètres)
- saucisson mou (fleur peu développée, consistance molle, mauvaise cohésion entre maigre et gras).

Dans le même esprit, ces dernières années, beaucoup de professionnels ont travaillé sur la mise au point de levains : ces additifs sont là pour rendre la maturation moins hasardeuse et limiter les défauts de fabrication, mais "en aucun cas ils ne peuvent corriger une production défectueuse" (Rozier 1969 *in* Fournaud 1976).

Par ailleurs, il existe des défauts concernant uniquement l'aspect extérieur du saucisson (Rozier et Durand 1970) :

- saucisson limoneux (enduit externe plus ou moins épais, blanchâtre, terne, poisseux),
- saucisson moisi (revêtement duveteux souvent verdâtre, petites tâches blanchâtres, sèches, s'étalant).

Ces accidents concernent "la fleur" qui apparaît normalement en début de séchage.

Le fleurage de certains produits de salaisonnerie est donc une tradition en France et bien qu'il n'y ait pas encore eu d'étude approfondie, son rôle est multiple :

- conservation et de protection du produit fini (Rozier 1969).
- valorisation de l'aspect.
- indicateur d'une bonne maturation car, comme on l'a vu précédemment, tout défaut de fabrication interne s'accompagne d'un mauvais fleurage (Rozier 1969).
- flaveur du produit, aucune étude ne l'a prouvé mais beaucoup de professionnels le pensent (Rozier et Durand 1970, Vayssier et Guerineau 1980, Larpent comm. pers. 1992).

- séchage : la fleur augmente la surface d'évaporation (cela peut diminuer le temps de séchage) (Fournaud 1976).

Tout ceci démontre l'importance de cette étape trop souvent négligée par le passé.

*DEUXIEME PARTIE*

**ETUDE EXPERIMENTALE  
DE LA FLORE FONGIQUE EXTERNE  
DES CHARCUTERIES SECHES**

## 1. Objectifs

Après la réception des produits incriminés présentant des taches colorées et de place en place un exsudat sur l'enveloppe (produits retournés par les distributeurs), un entretien rapide avec le fabricant a permis d'évoquer le rôle joué par le passage des produits à des températures extrêmes au cours du stockage par les distributeurs (chambre froide la nuit et température ambiante pendant la période de vente).

Notre étude a consisté en l'identification de colonies apparues sur l'enveloppe des saucissons au cours du stockage chez les distributeurs, puis en la recherche des causes physico-chimiques et microbiologiques de l'incident.

## 2. Etude mycologique préliminaire des saucissons altérés

L'étude de la flore de surface des saucissons a permis l'identification morphologique des colonies de :

- Deux espèces de levures :
  - *Candida famata*
  - *Rhodotorula rubra*

- Deux espèces de moisissures :
  - *Scopulariopsis brevicaulis*
  - *Penicillium chrysogenum* (souche blanche)

Cette dernière espèce constitue la moisissure utilisée pour le fleurage des produits.

Ces résultats nous ont permis de formuler deux hypothèses concernant l'origine de la contamination :

- les changements brutaux de température de stockage perturberaient les échanges gazeux à travers l'enveloppe des produits. La présence d'un adsorbant de surface pourrait compenser en partie l'exsudat.
- le *Penicillium chrysogenum* utilisé pour le fleurage ne jouerait pas un rôle efficace de compétition fongique entre les espèces de surface.

### 3. Proposition d'étude de la flore fongique de surface

Nous avons proposé d'étudier ces phénomènes :

- en précisant la cinétique d'apparition des micro-organismes fongiques au cours de la fabrication des saucissons.
- en évaluant l'activité anti-fongique, *in vitro*, d'un additif alimentaire, le sorbate de potassium, mélangé, à des concentrations diverses, au talc normalement saupoudré à la surface des saucissons en fin de fabrication.
- en mettant en évidence une éventuelle compétition entre les espèces fongiques de fleurage et des contaminants.

Pour orienter notre étude, nous avons analysé, dans un premier temps, les conditions de fabrication industrielle du produit.

### 3.1. Principe de la fabrication actuelle du produit appelé "saucisson court de montagne"

L'entreprise de salaisons est située dans la région de Limoges (Haute-Vienne).

Les installations de l'usine sont représentées sur la figure n° 5.

Le protocole de fabrication comporte cinq grandes étapes permettant de passer de la matière première au produit fini :

#### 3.1.1. Fabrication

Tout se déroule dans la même salle à 10°C.

- \* Broyage des matières premières : viande + gras
- \* Malaxage
- \* Désinfection des boyaux par trempage dans une solution d'ammonium quaternaire placée dans un seau non protégé
- \* Embossage
- \* Trempage de chaque pièce dans une solution de *Penicillium chrysogenum* placée dans un seau non protégé
- \* Egouttage : chaque pièce est suspendue sur des lattes de bois posées sur des châssis roulants.

#### 3.1.2. Etuvage

Il dure 6 jours dans des enceintes chauffées et ventilées :

- \* 25°C pendant 48 heures
- \* diminution progressive de 2°C par jour pendant 4 jours.

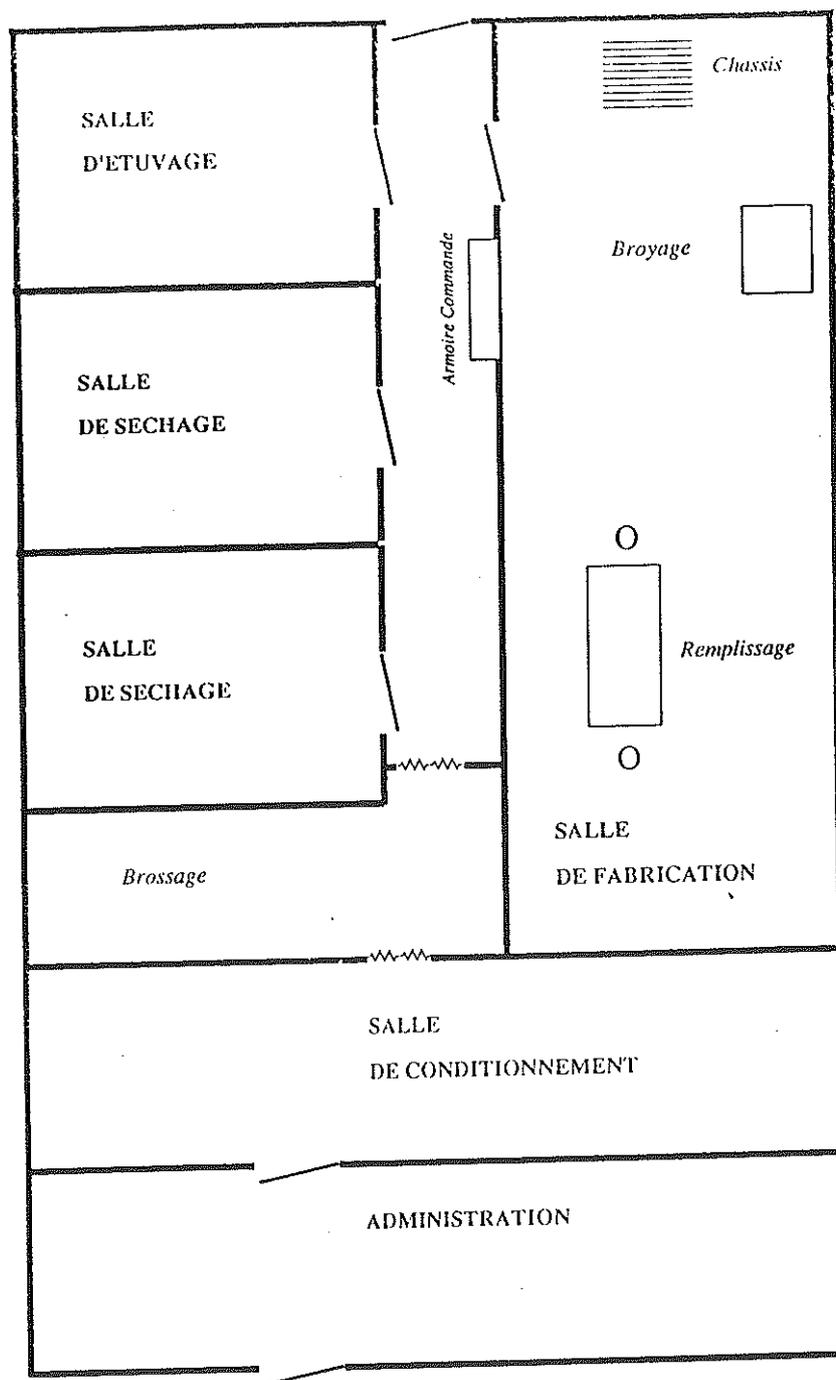


Figure n° 5  
 Représentation schématique des installations de fabrication du saucisson de montagne  
 (Panazol, Haute-Vienne)

### 3.1.3. Séchage

Il dure de 3 semaines à 2 mois selon les produits fabriqués, dans des enceintes maintenues à 11°C et ventilées.

### 3.1.4. Dépôt du talc

Il s'effectue de manière automatisée après le brossage mécanique des charcuteries. Tout ceci se déroule dans un même appareil en circuit fermé, avec aspiration d'une grande partie des produits pulvérisés.

### 3.1.5. Finition

Elle se déroule dans une pièce isolée. Les produits sont étiquetés, puis soit laissés en vrac, soit conditionnés individuellement en sachet.

## 3.2. Protocoles des travaux effectués

### 3.2.1. Etude de la cinétique d'apparition de la flore fongique à la surface des charcuteries dans les conditions actuelles de fabrication

#### 3.2.1.1. Matériel

##### \* *Penicillium chrysogenum*

Cette espèce possède un thalle à croissance rapide, vert à brun, velouté à revers jaune. Elle dégage une odeur aromatique. L'aspect microscopique présente des pénicilles asymétriques et souvent complexes. Les souches utilisées en salaisonnerie sont blanches (souches mutantes).

Son habitat est très commun : sol, denrées alimentaires, matières organiques.

Sa toxicité éventuelle repose sur la production de pénicillines et de notatine toxique pouvant perturber le transport d'oxygène dans le sang.

\* Saucisson

Les saucissons sec étudiés proviennent d'un même lot de fabrication de l'usine. Ce lot sera suivi du début à la fin de sa fabrication. Le prélèvement des saucissons se fait au hasard, à l'intérieur du lot.

\* Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour l'identification des espèces sont les suivants :

• Milieu au malt gélosé :

- extrait de malt	30	g
- agar	12	g
- eau	1000	g

• Milieu de Sabouraud gélosé :

Milieu Sabouraud à 2 % :

- peptone Chapoteaut ou néopeptone Difco	10	g
- gélose	20	g
- glucose massé	20	g
- eau distillée	1000	g

Milieu de Sabouraud - chloramphénicol - actidione :

- milieu de Sabouraud à 2 %	1	l
- chloramphénicol	0,5	g
- actidione	0,5	g

(dissous dans 10 ml d'acétone).

Ce milieu est utilisé pour isoler les levures résistantes à l'actidione, en particulier *Candida albicans*, révélant une contamination humaine des produits.

Milieu de Sabouraud - chloramphénicol :

- milieu Sabouraud à 2 % 1 l
  - chloramphénicol 0,5 g
- (dissous dans 10 ml d'alcool à 95°).

### 3.2.1.2. Méthodes

#### \* Principe

Les échantillons étudiés sont prélevés par grattage de la surface des saucissons à l'anse de platine et ensemencés sur milieu de Sabouraud enrichi en antibiotiques, et sur milieu au malt. L'identification repose sur des critères morphologiques et physiologiques.

#### \* Calendrier des prélèvements

Nous avons effectué quatre séries de prélèvement :

- un prélèvement avant le trempage du saucisson dans la solution de *Penicillium chrysogenum*, appelé : T<sub>0</sub>.
- un prélèvement avant l'étuvage appelé : 1A.
- des prélèvements pendant l'étuvage appelés :
  - 2A après 24 heures d'étuvage
  - 2B après 48 heures d'étuvage
  - 2C après 5 jours d'étuvage
  - 2D après 6 jours d'étuvage
- des prélèvements pendant le séchage :
  - 3A après 15 jours de séchage
  - 3B après 22 jours de séchage

### \* Identification des espèces fongiques

Après un prélèvement par raclage à l'anse de platine de la peau du saucisson, l'ensemencement se fait en stries sur milieux coulés en tube.

Les milieux solides permettent d'observer immédiatement :

- l'aspect des colonies
- leur abondance

Les tubes sont placés à l'étuve à 28°C (température optimale pour la croissance des champignons).

### \* Identification des colonies

L'identification repose sur des caractères morphologiques :

- macroscopiques : aspect des colonies,
- microscopiques par observation entre lame et lamelle d'un fragment de colonies portant les fructifications caractéristiques des espèces.

Les levures nécessitent une caractérisation complémentaire par l'étude physiologique et biochimique des espèces :

Le test de Blastèse (test de Taschdjian et Mac Kenzie) est la formation *in vitro* de tubes germinatifs. La blastèse n'est pas une germination.

Il fait apparaître *in vitro* un phénomène naturel. Le contact de levures de *Candida albicans* avec un sérum humain frais pendant 3 heures à 37° C provoque une filamentation des blastospores comparable au comportement de la levure *in vivo*.

Seul *Candida albicans* donne ce résultat dans de telles conditions.

L'étude biochimique : repose sur la comparaison de l'assimilation des sucres sur des galeries d'identification standard Api<sup>1</sup>.

L'activité uréasique : la mise en contact de levures du genre *Cryptococcus* à 37°C avec un milieu urée-indole révèle une activité uréasique après un temps variable de 2 à 24 heures. Cette activité uréasique se traduit par une libération d'ammoniaque qui fait varier le pH de l'indicateur coloré (d'orange à violet).

---

<sup>1</sup> API Système, éd. La Balme Les grottes 38390 Montalieu - Vercieu (France)

### 3.2.1.3. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés par une numération approximative des colonies après 8 jours de croissance *in vitro* à 28°C.

### 3.2.2. Evaluation des capacités de croissance des champignons sur adsorbants *in vitro* sur gélose au malt

Dans cette deuxième partie, nous étudions la possibilité de remplacement du talc de surface par un autre produit. Ce produit, compte tenu des contaminations inhabituelles observées dans l'étude préliminaire sur les saucissons altérés, est additionné d'une substance autorisée afin de limiter l'implantation des contaminants exogènes après la fabrication du saucisson.

Notre étude a consisté en l'évaluation de l'efficacité *in vitro* du sorbate de potassium, ajouté à des concentrations diverses, sur la croissance fongique.

#### 3.2.2.1. Matériel

##### \* *Penicillium chrysogenum*

Cette moisissure a été étudiée dans le chapitre précédent. Elle a été fournie par l'industriel.

##### \* *Scopulariopsis brevicaulis*

Cette moisissure présente un thalle blanchâtre devenant brun, à revers crème. Elle possède des conidies globuleuses, tronquées à la base, verruqueuses, et dégage une odeur d'ammoniac.

Son habitat est ubiquitaire : sol, excréments, papier, produits laitiers et carnés, lésions animales et humaines.

Cultivé sur milieu avec de l'arsenic, *S. brevicaulis* peut produire des gaz très toxiques.

La souche utilisée est une souche sauvage isolée par nous à partir d'un prélèvement de sol.

\* Talcs

B.I.O.D.E.V.<sup>2</sup> notre partenaire dans cette étude, a sélectionné des talcs de qualité alimentaire. Il existe une législation concernant les produits destinés à être placés au contact des aliments et denrées utilisés dans l'alimentation humaine. En matière de fleurage du saucisson sec, les substances autorisées (arrêté ministériel du 28 juin 1912, J.O. du 29 juin 1912) ou conformes aux usages, utilisées seules ou en mélange, sont les suivantes :

- carbonate de chaux (craie)
- sulfate de chaux (gypse)
- carbonate de magnésie et talc
- kaolin et argiles colloïdales lavées
- farines

Elles peuvent être additionnées d'acide sorbique et de ses sels autorisés comme le sorbate de potassium (circulaire ministérielle du 6 novembre 1959).

La concentration à laquelle on peut utiliser le sorbate de potassium, n'est pas précisée. Aussi BIODÉV s'est basé sur la littérature scientifique en agro-alimentaire.

L'acide sorbique (E 200) et les sorbates de sodium (E 201), potassium (E 202), calcium (E 203) :



D'une façon générale, la présence de doubles liaisons accroît l'activité anti-microbienne, les composés poly-insaturés sont particulièrement efficaces comme fongistatiques.

Dans ce groupe de composés, c'est l'acide sorbique qui s'avère le plus efficace (Moll et Moll 1990). Il est utilisé soit incorporé dans les produits, soit par

---

<sup>2</sup> B.I.O.D.E.V. sarl 71 avenue du Sablard 87000 Limoges (France)

traitement de surface (trempage ou pulvérisation), soit dans l'emballage. Il inhibe surtout les moisissures mais aussi à un degré moindre les levures et même les bactéries.

L'acide sorbique ne présente aucune toxicité notable. Il est en effet métabolisé par l'organisme animal de la même façon que l'acide caproïque. L'inhibition de la croissance fongique serait due à une action sur une deshydrogénase du champignon.

Les talcs sont conformes à la Pharmacopée Européenne (3e édition). L'étude de l'efficacité des talcs étant faite en aveugle, la nature de celles-ci ne nous a été fournie qu'à l'issue des travaux. Deux types de talcs ont été étudiés :

- "Neigette machine" de Soussana<sup>3</sup> utilisé par l'usine car le talcage est mécanisé.

- "Luzenac OOC" de Rhône-Poulenc<sup>4</sup> est le plus adapté à la charcuterie. La "neigette machine" (provenant de l'usine) est additionnée d'un pourcentage croissant de sorbate de potassium = 0 % - 0,5 % - 1 % - 2 % - 3 % déterminant ainsi les talcs numérotés de 1 à 5.

La Luzenac OOC subit la même addition, déterminant les talcs numérotés de 6 à 10.

Au total, 10 préparations différentes de talc ont été étudiées.

\* Milieux de culture utilisés

Le milieu au malt gélosé a été décrit précédemment.

Le milieu au malt liquide comporte 30 g d'extrait de malt par litre d'eau.

---

<sup>3</sup> SOUSSANA S.A. 12 rue des Lances 94310 Orly (France)

<sup>4</sup> Rhône-Poulenc GAZECHIM S.A. 15 rue Henri Brisson 34504 Beziers (France)

### 3.2.2.2. Méthodes

#### \* Choix des espèces fongiques

- *P. chrysogenum* est l'espèce utilisée habituellement pour le fleurage.

- *S. brevicaulis* a été retenue après avoir été identifié à la surface des saucissons altérés.

#### \* Détermination de l'inoculum

L'inoculum est fixé à  $10^2$  spores par ml, pour éviter un envahissement trop rapide du milieu.

Les deux champignons *P. chrysogenum* et *S. brevicaulis* ont étéensemencés sur un milieu malt liquide. Puis, par numération sur cellule de Malassez, nous avons déterminé la concentration en spores du milieu.

Pour obtenir la concentration prévue pour l'inoculum, on dilue la suspension de la culture-mère dans un tampon phosphate, pH 7,2.

\* Pour évaluer l'activité anti-fongique du talc, nous avons utilisé deux techniques classiques :

- saupoudrage du talc en surface de la gélose puis ensemencement.
- incorporation du talc à la gélose puis ensemencement en surface.

Les boîtes de Pétri sont placées à 28°C à l'étuve et observées après une semaine de croissance.

\* Technique par répartition du talc à la surface de la gélose

On coule en boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, une gélose au malt assez épaisse, puis on saupoudre le talc, et on ensemence par inondation d'1 ml d'inoculum.

Pour chaque espèce fongique et chaque talc, la technique est la même.

On obtient ainsi :

- 11 boîtes pour *P. chrysogenum* P<sub>1</sub> à P<sub>10</sub> et P<sub>T</sub> (boîte-témoin sans talc).
- 11 boîtes pour *S. brevicaulis* S<sub>1</sub> à S<sub>10</sub> et S<sub>T</sub> (boîte-témoin sans talc)
- 10 boîtes-témoins : talc T<sub>1</sub> à T<sub>10</sub> permettant de vérifier l'absence de contamination fongique.

\* Technique par incorporation du talc à la gélose

Le talc est ici réparti au fond de la boîte de Pétri. Puis la gélose au malt en surfusion est coulée. Une fois refroidie la gélose est ensemencée par inondation d'1 ml de la suspension de spores fongiques.

Ce protocole permet l'étude de la diffusion du sorbate de potassium dans la gélose. Le même nombre de boîtes de Pétri que dans la technique de surface est utilisé. Elles sont numérotées :

P<sub>1</sub>' à P<sub>10</sub>' et P<sub>T</sub>'

S<sub>1</sub>' à S<sub>10</sub>' et S<sub>T</sub>'

T<sub>1</sub>' à T<sub>10</sub>'

3.2.2.3. Expression des résultats

L'observation macroscopique des boîtes permet d'évaluer l'importance de la croissance fongique exprimée par rapport aux témoins de 0 à ++++.

### 3.3. Résultats

Nous présentons successivement les résultats des deux essais :

- cinétique d'apparition de la flore fongique
- croissance *in vitro* des champignons en présence de talc.

#### 3.3.1. Cinétique d'apparition de la flore fongique

Les résultats de la cinétique d'apparition des espèces fongiques à la surface des saucissons sont présentés dans le tableau n° 2.

- Sur milieu au malt (meilleur milieu pour les champignons), la croissance fait apparaître un développement rapide du *P. chrysogenum* dès le début de l'essai, puis une compétition avec les levures entre J<sub>5</sub> et J<sub>9</sub>, au profit du *P. chrysogenum* seul identifié à partir de J<sub>24</sub>.

- Sur milieu SC (Sabouraud - chloramphénicol où le chloramphénicol inhibe les bactéries) *C. famata* n'est identifié qu'à partir de J<sub>4</sub> et jusqu'à J<sub>9</sub>. De J<sub>24</sub> à J<sub>30</sub>, seul le *P. chrysogenum* a été identifié. Ce milieu favorisant la croissance des levures.

- Sur milieu SCA (Sabouraud - chloramphénicol - actidione où l'actidione inhibe de nombreuses espèces fongiques saprophytes), seul *C. famata* se développe.

La levure atteint un optimum de croissance après 6 jours qui se maintient en plateau pendant 16 jours, puis la croissance ralentit jusqu'en fin d'expérience (J<sub>30</sub>).

Tableau n° 2

Cinétique d'apparition de flore fongique au niveau des saucissons

Chronologie des Prélèvements	Milieux de culture		
	Malt	Sabouraud Chloramphénicol actidione	Sabouraud Chloramphénico I
J <sub>1</sub> To avant trempage du saucisson	C+ P+++ (bactéries)	0	P++
J <sub>2</sub> 1A	C+ P+++	C+	P+
J <sub>4</sub> 2A	C+ P++ R+	0	C++ P++ R++
J <sub>5</sub> 2B	C+ P±	C±	C++ P+++ R+
J <sub>8</sub> 2C	C+ P+	C++	C+ P+++
J <sub>9</sub> 2D	C+ P+	C++	C++
J <sub>24</sub> 3A	P++	C++	P+++
J <sub>30</sub> 3B	P++	C+	P++

P : *Penicillium chrysogenum* (souche blanche)

C : *Candida famata*

R : *Rhodotorula rubra*

### 3.3.2. Croissance *in vitro* des champignons en présence de talc

L'ensemble des résultats obtenus sont présentés dans les tableaux n° 3 et n° 4. Le tableau n° 3 correspond à l'essai où le talc est réparti à la surface de la gélose. Le tableau n° 4 présente les résultats de l'essai où le talc est incorporé à la gélose. Quelle que soit la nature du talc, *P. chrysogenum* et *S. brevicaulis* se développent. De plus il n'y a pas de différence notable au niveau de l'abondance de la croissance en fonction du pourcentage de sorbate ajouté. Au niveau des témoins talc, on constate que le talc fourni par l'usine est contaminé par plusieurs espèces : *P. chrysogenum*, *S. brevicaulis* et une levure non identifiée. Nous avons dû réaliser une nouvelle série de manipulations identiques aux précédentes mais avec une "neigette machine" directement fournie par le fabricant. Les résultats sont présentés dans le tableau n° 5 : dans cet essai, le talc est incorporé à la gélose. On constate qu'aucune concentration de sorbate de potassium n'inhibe la croissance des deux moisissures.

### 3.4. Discussion

#### 3.4.1. Cinétique d'apparition de la flore fongique

Contrairement à notre attente, *P. chrysogenum* (souche blanche) est la première espèce identifiable. Il est présent à la surface du boyau avant que celui-ci ne soit trempé dans la solution de fleurage de *P. chrysogenum*, ce qui prouve que les installations de fabrication sont contaminées par les spores de *P. chrysogenum*.

Les spores de cette moisissure sont suffisamment abondantes pour se développer sur les matières premières, tels que les boyaux, laissés à l'air libre.

Tableau n° 3

Evaluation de l'activité antifongique *in vitro* du sorbate de potassium,  
comme additif au talc, à concentrations diverses.  
Le talc enrichi est réparti en surface de la gélose

numéro de culture fongique	Concentration en sorbate	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	Témoin poudre
Témoin		P+++ Bactérie++	S++	
1	0 %	P++++	S++ P+++	P++++ Levure sp++
2	0,5 %	P++++	S+++ P+++	P++++
3	1 %	P+++	S+++ P++	P+++
4	2 %	P++++	S+++ P++	P+++ S 1 colonie
5	3 %	P+++	S+++	P++
6	0 %	P+++	S+++	0
7	0,5 %	P++++	S++++	0
8	1 %	P++++	S++++	0
9	2 %	P++++	S+++	0
10	3 %	P++++	S++++	0

P : *Penicillium chrysogenum*  
S : *Scopulariopsis brevicaulis*

Tableau n° 4

Evaluation de l'activité antifongique *in vitro* du sorbate de potassium,  
comme additif au talc, à concentrations diverses.  
Le talc est incorporé dans la gélose

numéro de culture fongique	Concentration en sorbate	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	Témoin poudre
Témoin		P++++	S 10 colonies	
1'	0 %	P++++ bact++ P++	S 15 colonies	0 P+++
2'	0,5 %	P++++ bact+++	S 6 colonies	P+++
3'	1 %	P++++ bact+++	S 15 colonies	P 25 colonies
4'	2 %	P++++ bact+++	S 14 colonies	0
5'	3 %	P+++ bact+++	S 11 colonies	0
6'	0 %	P+++	S 6 colonies	0
7'	0,5 %	P+++	S 11 colonies	0
8'	1 %	P+++	S 10 colonies	0
9'	2 %	P+++	S 10 colonies	0
10'	3 %	P+++	S 12 colonies	0

P : *Penicillium chrysogenum*  
 S : *Scopulariopsis brevicaulis*  
 Bact : bactéries

Chaque cellule comporte 2 résultats :  
 - moitié supérieure : croissance fongique de surface  
 - moitié inférieure : croissance fongique dans la gélose

Tableau n° 5

Evaluation de l'activité antifongique *in vitro* du sorbate de potassium,  
comme additif au talc, à concentrations diverses.  
Le talc, identique à celui utilisé par l'industriel, est incorporé dans la gélose

numéro de culture fongique	Concentration en sorbate	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	Témoin poudre
Témoin		P++++ Bactérie++	S+++	
11	0 %	P++++ P++++	S++++ S++++	0
12	0,5 %	P++++ P++++	S++++ S+++	0
13	1 %	P++++ P++++	S+++ S++++	0
14	2 %	P++++ P++++	S++++ S++++	0
15	3 %	P++++ P++++	S++++ S++++	0

P : *Penicillium chrysogenum*  
S : *Scopulariopsis brevicaulis*

Chaque cellule comporte 2 résultats :

- moitié supérieure : croissance fongique de surface
- moitié inférieure : croissance fongique dans la gélose

La levure *C. famata* a été isolée sur milieu au malt et identifiée par une galerie Api. Cette méthode ne permet pas de mettre en évidence la forme sexuée de cette levure : *Debaryomyces hansenii* dont les caractéristiques biochimiques sont identiques à celles de *C. famata* (Kreger-Van Rij 1984 ; API 20 C AUX, Catalogue analytique 1988). Nous n'avons pas observé de fructifications sexuées à l'examen microscopique, ce qui nous conduit à dénommer la levure *C. famata*.

De plus, le fabricant utilise comme ferments de maturation l'association *Staphylococcus* + *Pediococcus*, mais pas *D. hansenii*, forme sexuée de *C. famata*, utilisée quelquefois comme ferment de maturation. Ce n'est donc pas l'origine de *C. famata*, probablement ici de contamination aérienne.

Après le fleurage, les deux champignons apparaissent dès J<sub>1</sub> et jusqu'à J<sub>9</sub>, leur croissance est similaire.

Puis à partir de J<sub>24</sub>, la moisissure apparaît seule, ce qui est normal car grâce à son mycélium, elle recouvre la surface du boyau.

Au cours de la maturation, nous avons isolé à J<sub>24</sub> une deuxième levure: *Rhodotorula rubra* (espèce ubiquitaire). L'origine de cette contamination est probablement aérienne.

Il semble que *P. chrysogenum* n'empêche pas la croissance de *C. famata* mais la masque. Sur milieu SCA, la levure a été identifiée tout au long de l'expérience. Sur milieu SC, *C. famata* n'a été isolé qu'à partir de J<sub>4</sub>. Ce milieu est probablement moins favorable à la croissance de la levure que celui au malt.

*P. chrysogenum* a un rôle important au niveau de l'aspect extérieur du saucisson (à la fin de la maturation, comme prévu il est uniformément blanc) et certainement sur ses caractères organoleptiques.

### 3.4.2. Croissance *in vitro* des champignons en présence de talc

#### Activités anti-fongique du talc additionné d'acide sorbique

L'acide sorbique n'est efficace sur les moisissures qu'à la condition qu'elles ne soient pas trop abondantes ; dans le cas contraire, elles métabolisent l'acide sorbique et ne sont pas inhibées. Ceci pourrait expliquer la faible activité observée dans nos essais.

De plus, nous avons constaté que le talc provenant de l'usine était préalablement contaminé par des spores fongiques. L'emploi d'un talc contaminé élimine toute possibilité d'addition efficace de sorbate.

Il est donc souhaitable de limiter la propagation des spores de moisissures en stockant le talc dans un récipient hermétique et en isolant entre autres la zone de brossage des saucissons.

Par ailleurs, l'efficacité adsorbante du talc est probablement limitée par les techniques de conservation des saucissons utilisées par les distributeurs, qui font passer ces produits, de façon répétitive par des températures extrêmes.

### 3.5. Recherche d'une compétition entre espèces fongiques

Le principe de l'étude est le suivant : l'utilisation de *P. chrysogenum* pour le fleurage des saucissons est plus le fait d'une habitude de fabrication que réellement justifiée. La littérature préconise plutôt l'emploi de *Penicillium nalgiovense*, espèce commercialisée par plusieurs laboratoires. Nous nous sommes proposée de mettre en évidence une éventuelle compétition, voire une inhibition, du développement des moisissures banales par l'emploi de *Penicillium nalgiovense* dans le fleurage du saucisson. Nous avons donc essayé d'observer ces phénomènes *in vitro*.

### 3.5.1. Matériel

#### - Souches fongiques :

\* *P. chrysogenum* et *S. brevicaulis* sont les souches utilisées précédemment.

#### \* *Rhodotorula rubra*

Cette levure a été isolée des saucissons altérés. Elle présente des colonies lisses, rose saumon. Elle est ubiquitaire.

#### \* *Penicillium nalgiovense*

La souche utilisée nous a été fournie aimablement par Texel<sup>5</sup>.

Cette espèce présente un thalle à croissance rapide, floconneux, blanc. Les pénicilles sont irréguliers.

Elle est souvent isolée à partir de produits alimentaires.

Des travaux allemands prouvent qu'elle ne présente aucune toxicité (Mintzlaff et Waltraud 1973).

#### - Milieus de culture

L'étude utilise la gélose de Sabouraud - chloramphénicol.

### 3.5.2. Méthode

La surface de chaque boîte de Pétri, de 90 mm de diamètre, est découpée en quatre cadrans. Chaque cadran estensemencé, en point par un champignon différent. Les boîtes sont placées à l'étuve à 28°C pendant une semaine, et observées quotidiennement. Par permutation des quatre espèces, nous réalisons trois boîtes de répartition suivante afin de mettre en contact les espèces deux par deux (cf figure n° 6).

---

<sup>5</sup> Texel 86220 DANGE-SAINT-ROMAIN (France)

### 3.5.3. Résultats

Dans chaque boîte de Pétri, nous avons constaté que les différentes espèces fongiques se mélangent. Cette expérience n'a pas mis en évidence une inhibition de contact qui se serait traduite par une zone franche entre deux espèces de champignons.

### 3.5.4. Discussion

Compte tenu des résultats obtenus, *P. nalgiovense* ne semble pas inhiber la croissance des contaminants isolés sur les salaisons altérées, ni celle de *P. chrysogenum*.

Le choix du fleurage par *P. nalgiovense* ne repose donc pas sur des critères d'inhibition entre les moisissures, mais plutôt sur les caractères liés à la vitesse de croissance, permettant le développement exclusif de l'espèce au détriment des autres. De plus, le fleurage joue certainement un rôle non négligeable dans la limitation des contaminations fongiques au cours du séchage et du stockage.

Compte tenu de la structure de l'usine et de nos résultats expérimentaux préliminaires, plusieurs hypothèses d'amélioration de la qualité peuvent être envisagées.

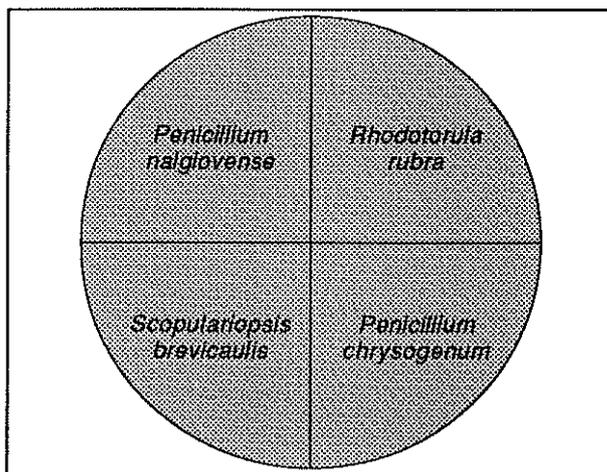
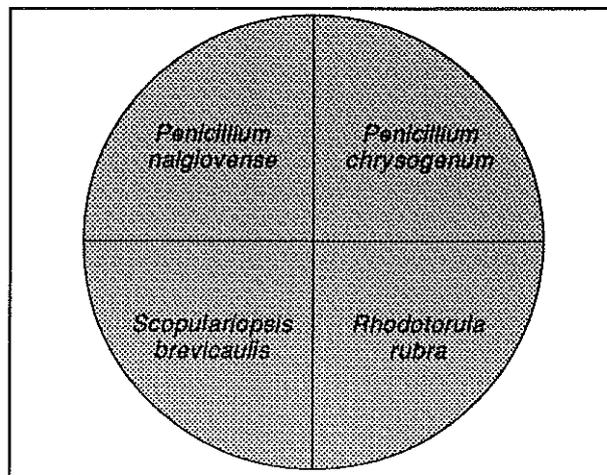
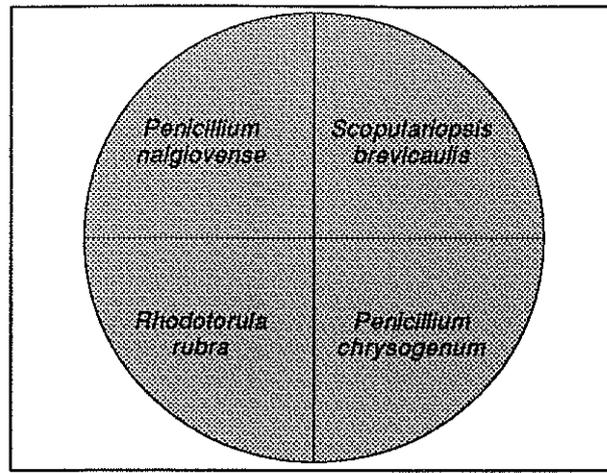


Figure n° 6  
Répartition des 4 espèces fongiquesensemencées  
sur gélose en boîte de Pétri

#### 4. Les solutions envisageables

L'amélioration peut porter sur trois étapes de la fabrication du saucisson.

##### 4.1. Les conditions de séchage

La phase de séchage est la phase la plus longue dans la fabrication du saucisson.

Elle est considérée comme un facteur de bonne qualité. Le temps passé dans la salle de séchage, sa température et son degré d'humidité doivent être étudiés en fonction du poids et du diamètre du produit que l'on veut faire sécher. Ce qui suppose une salle de séchage pour chaque spécialité. Ceci n'est pas envisageable pour la plupart des entreprises. Il faut donc ajuster les paramètres au mieux.

Une humidité relative locale trop importante est souvent la cause de l'apparition de moisissures indésirables, pigmentées (Fournaud 1976, Bacus 1984, Larpent, comm. pers. 1992). Dans les salles de séchage, il est nécessaire d'avoir des conditions de température et d'humidité uniformes avec un air circulant à une vitesse relativement faible.

Plus la taille de la salle est grande, plus les conditions climatiques sont difficiles à maintenir.

L'air circulant à basse vitesse traverse une salle remplie de charcuteries humides. Il se charge en eau pouvant provoquer par endroit une augmentation de l'humidité relative, donc un risque de développement de moisissures indésirables (Bacus 1984).

Il faut utiliser des salles de séchage de petite taille et surtout éviter de les remplir au maximum avec des charcuteries se trouvant les unes contre les autres (Larpent comm. pers. 1992).

#### 4.2. La désinfection

Pendant la fabrication, les saucissons sont suspendus à des portants en bois. Or le bois et l'humidité des salles de fabrication favorisent le développement des spores de moisissures banales.

Les portants en bois peuvent être considérés comme des réservoirs de contaminants.

Pour remédier à ce problème, deux mesures peuvent être appliquées :

- \* le nettoyage avec une brosse métallique et de l'eau de javel (Larpen comm. pers. 1992).

- \* le remplacement des portants en bois par des portants métalliques.

L'ensemble de ces mesures peut être difficile à appliquer pour des entreprises modestes, comme c'est souvent le cas en salaisonnerie.

Le remplacement des portants en bois par des portants métalliques associé à une désinfection régulière de l'établissement, peut apporter une amélioration sensible de la qualité des produits, en limitant les incidents de fabrication.

##### 4.2.1. Remplacement de la moisissure de fleurage

Le seul intérêt objectif de l'emploi de *P. nalgiovensis* semble résider dans l'absence de toxicité, alors que *P. chrysogenum* peut en présenter. Néanmoins, *P. nalgiovensis* présente certaines qualités souvent difficiles à apprécier. En particulier, pour certains auteurs (Sirami<sup>6</sup> comm. pers. 1992) *P. nalgiovensis* ne dégage pas d'odeurs de moisissures à la différence de *P. chrysogenum*. Celles-ci seraient dues probablement à la production d'octènes-diols (Larpen comm. pers. 1992).

---

<sup>6</sup> Sirami A.D.I.V. 63000 Clermont-Ferrand (France)

De plus, bien que *P. chrysogenum* ait une croissance plus homogène en fin de séchage avec une culture plus rase, il a tendance à jaunir si le séchage dépasse trois semaines, ou si la conservation est trop prolongée.

*P. nalgiovensis* développe une culture un peu trop épaisse, mais ne présente pas l'inconvénient précédent.

En ce qui concerne les caractères organoleptiques des produits, *P. nalgiovensis* développerait un arôme plus appétent et plus original que *P. chrysogenum* (Marganne<sup>7</sup> comm. pers. 1992).

Certains auteurs proposent d'autres possibilités de fleurage :

- en utilisant une levure comme *D. hansenii* qui donne une couverture crème, très rase et sèche. (couverture moins épaisse que celle donnée par *P. nalgiovensis*).

- en utilisant le mélange *P. nalgiovensis* et *D. hansenii*, l'intérêt de ce mélange est le fait que la levure limite la croissance de la moisissure et évite un développement trop important de celle-ci, et que la moisissure permet un blanchiment convenable.

Les conditions d'utilisation des unes ou des autres sont différentes. Il faut tenir compte de la température et surtout du taux d'humidité à la surface du boyau.

La levure préfère pendant l'étuvage un taux d'humidité supérieur à 80%, une température de 22-26° C durant au moins 36 heures. Par contre, la moisissure se développe quelque soit les conditions d'étuvage (Vayssier et Guérineau 1980).

Un avantage de l'utilisation de la levure est de diminuer nettement l'implantation des bactéries (ex : *Listeria*). En effet, quand on utilise un *P. nalgiovensis*

---

<sup>7</sup> Marganne J.C. : Laboratoire Granday-Roger 77260 La Ferté sous Jouarre (France)

la couverture est plus épaisse et le risque de multiplication bactérienne sur le boyau est supérieur (Guerineau<sup>8</sup>, comm. pers. 1992).

De plus, la nature des espèces de fleurage jouerait un rôle non négligeable sur le goût du produit fini.

En pratique, on ne peut dissocier l'étude des ferments de fleurage de celui des ferments de maturation. Celui-ci, en effet, a un rôle de starter dans la maturation de la charcuterie et va favoriser la déshydratation de la "mélée" tout en augmentant l'humidité relative à la surface du boyau. La nature de l'espèce de fleurage, de par ses caractères culturels, va permettre une évaporation plus ou moins rapide donc une vitesse de séchage variable (Guerineau, comm. pers. 1992).

Le temps de séchage reste le paramètre essentiel de la maturation des charcuteries sèches.

---

<sup>8</sup> Guerineau Lacto-Labo 86220 Dangé-Saint-Romain (France)

## CONCLUSION

Nous avons essayé d'améliorer l'aspect de la production d'une entreprise de salaisonnerie, en étudiant quelques paramètres microbiologiques de la surface des charcuteries sèches. Nous avons abouti à plusieurs propositions qui sont indissociables des procédés de fabrication de la "mélée".

En aucun cas, le remplacement de la couverture naturelle par un talcage en fin de fabrication, après trempage par exemple dans la pimarinine, préconisé par certains auteurs anglo-saxons, ne pourra être une solution.

Le fleurage est indispensable pour donner les caractères organoleptiques du saucisson sec.

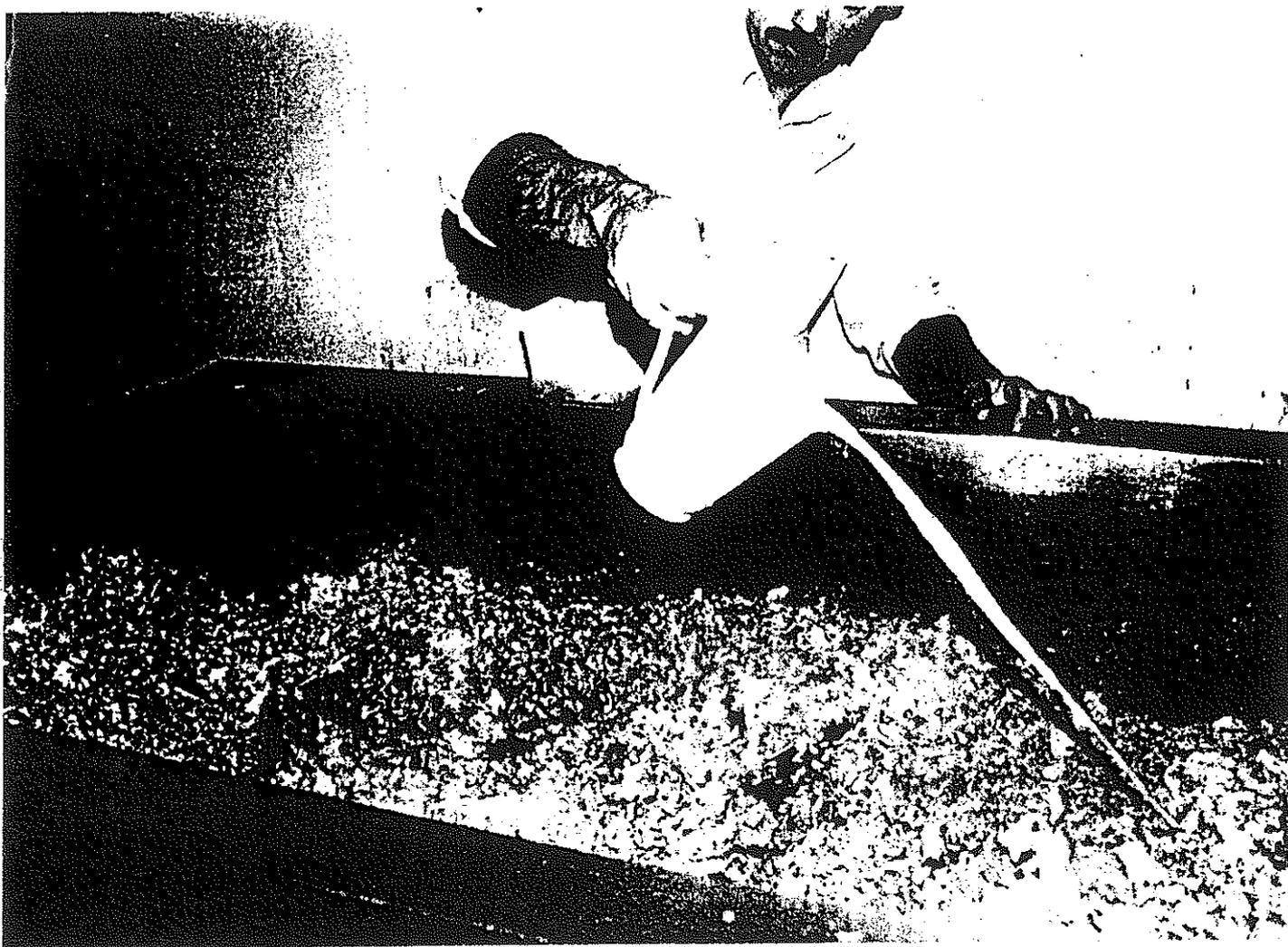
Il serait intéressant de réaliser des productions expérimentales, utilisant d'autres espèces fongiques de fleurage, comme *P. nagicovense* + *Debaryomyces*, puis d'étudier à nouveau la cinétique d'apparition des espèces fongiques de surface.

La connaissance fine des mécanismes aboutissant au saucisson sec permettra d'adapter au mieux tous les paramètres, d'augmenter l'hygiène et de permettre une production uniforme.

Mais il ne faudrait pas faire disparaître la diversité régionale de goût et d'aspect par une trop grande standardisation.

## **ANNEXES**

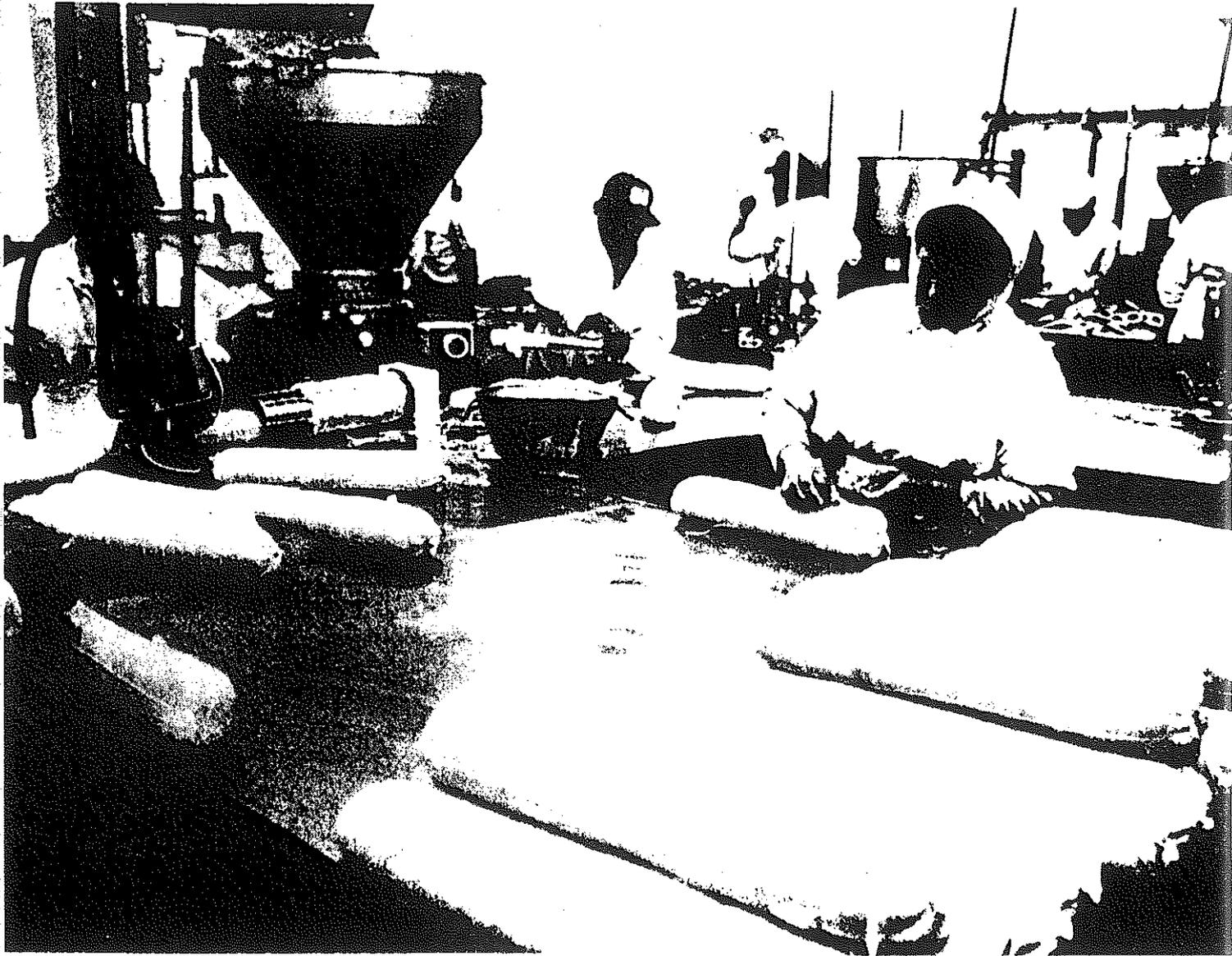
Figure n° 1



Good distribution of the starter culture is essential to provide uniform performance.

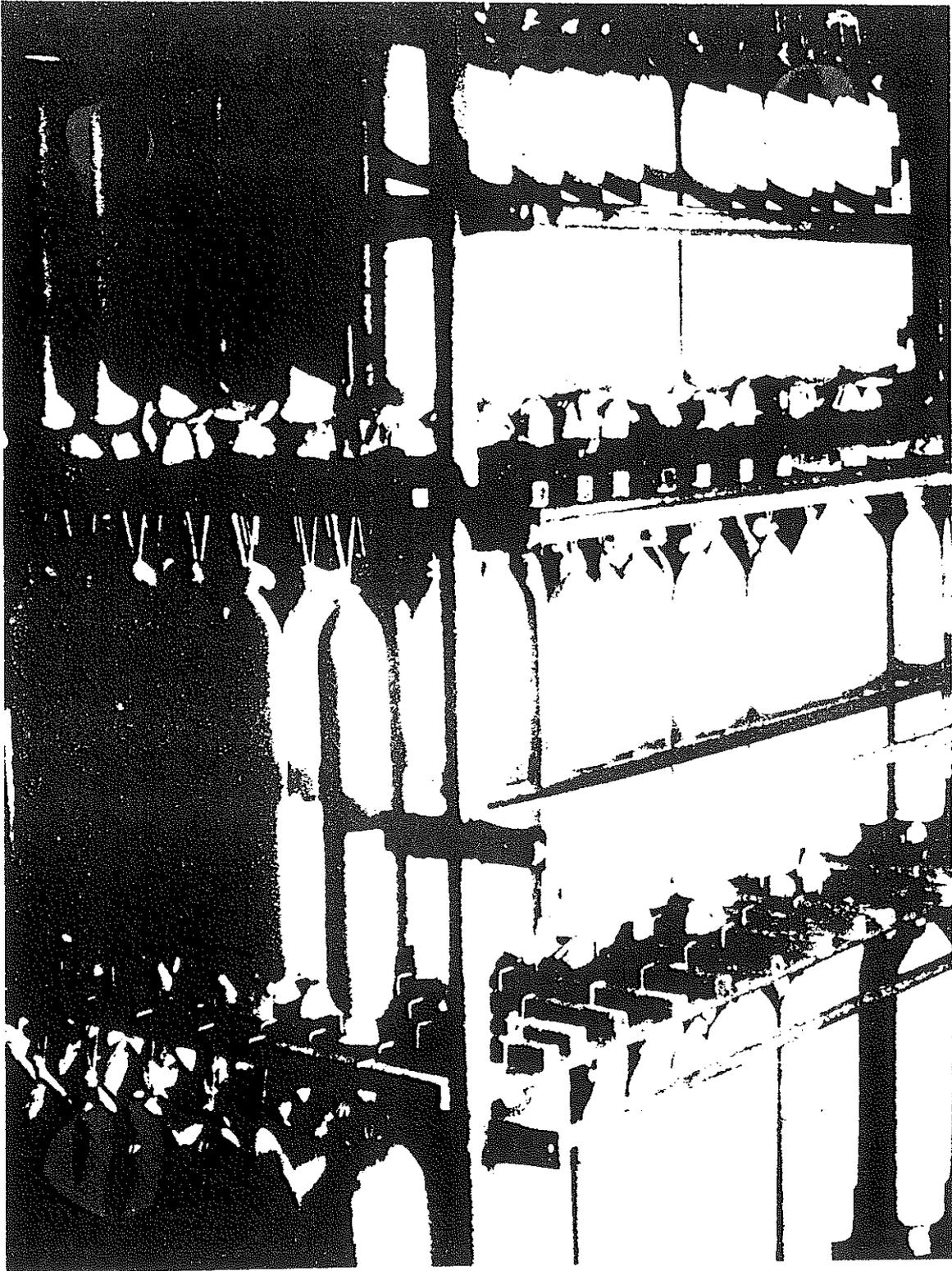
Une bonne distribution des ferments de maturation est essentielle pour obtenir une production uniforme  
(in Bacus 1980)

Figure n° 2



Embassage et ficelage ( in Bacus 1980 )

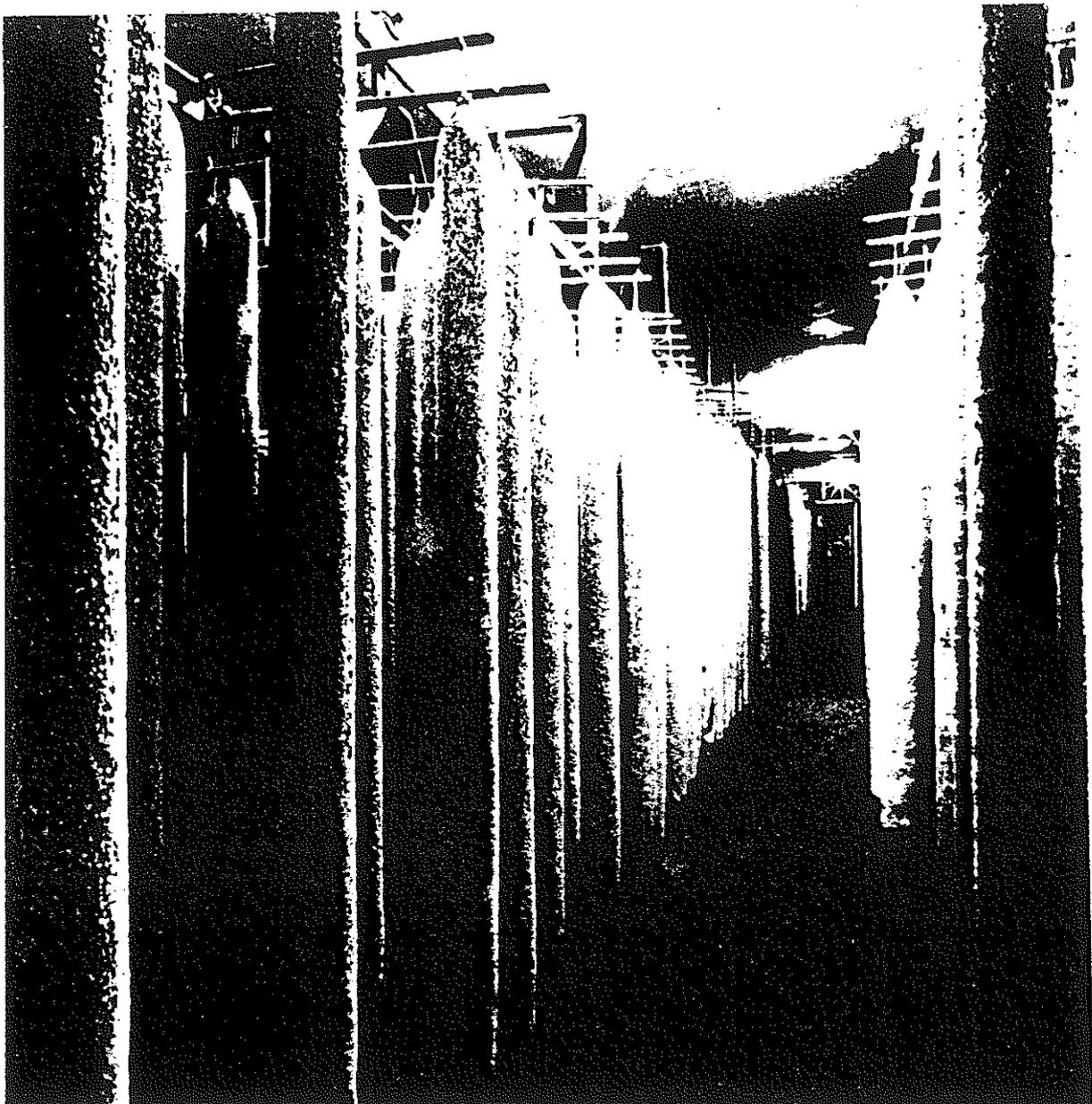
Figure n° 3



Uniform positioning of the sausages in the green room and dry room is essential to provide uniform exposure to the temperature, humidity, and air circulation (photo courtesy of Meat Industry Magazine).

Un positionnement uniforme des saucisses dans les salles d'étuvage et de séchage est essentiel pour obtenir une exposition uniforme à la température, à l'humidité et à l'air circulant. (photo tirée de Meat Industry Magazine) (in Bacus 1980)

Figure n° 4



Mold growth on the sausage surface is desirable in the production of Italian Salame (photo courtesy of Gallo Salame).

La croissance de moisissures à la surface des saucisses est nécessaire pour la production du salami italien. (photo tirée de Gallo Salame).  
(in Bacus 1980)

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 API. 1988.  
"Catalogue analytique 20 C AUXano" 2<sup>e</sup> édition. 146 p.
- 2 BACUS J. 1984.  
"Microorganisms in meat processing". 170 p.  
Research Studies Pre Ltd  
Letchmorth, Herfordshire, England.
- 3 FAVRE C. 1976.  
"Etude des caractéristiques physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques du saucisson sec et de la saucisse sèche d'Auvergne".  
Thèse doct. Université Clermont-Ferrand Sciences exactes et Naturelles 88 p.
- 4 FOURNAUD J. 1976.  
"La microbiologie du saucisson sec".  
L'ALIMENTATION et LA VIE, 64, 82-92.
- 5 GIRARD J.P. 1988.  
"Technologies de la viande et des produits carnés". 280 p.  
Tec et Doc. Lavoisier, Paris.
- 6 KREGER-VAN RIJ N.J.W. 1984.  
"The yeasts".  
éd. Elsevier AMSTERDAM 1082 p.
- 7 LACTO-LABO. 1986.  
"Documents techniques. Ferments de maturation et fleur de surface".  
n° LL 86-10 54 p.
- 8 LARPENT J.P. 1992.  
"Microbiologie des produits carnés et ferments microbiens". 126 p.  
C.D.I.V.P.A. Paris

- 9 MINTZAFF H.J. et WALTRAUD C. 1973.  
"Penicillium nalgiovensise als Starterkultur für Südtiroler Bauernspeck".  
Die Fleischwirtschaft, 6, 864-867.
  
- 10 MOLL N. et MOLL M. 1990.  
"Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques".  
Coll. "Chimie et Santé".  
éd. Masson Paris 142 p.
  
- 11 ROZIER J. 1969.  
"Mécanismes de la maturation du saucisson sec".  
Rec. Méd. Vet. 145, 1070-1101.
  
- 12 ROZIER J. et DURAND P. 1970.  
"Principaux défauts et altérations du saucisson sec".  
Rec. méd. Vet. 146, 273-298.
  
- 13 VAYSSIER Y. et GUERINEAU P. 1980.  
"Mise au point d'une nouvelle microfloce de surface pour le fleurage du saucisson sec".  
Document société Lacto-Labo 1 p.
  
- 14 WOOD J.B. 1985.  
"Microbiology of fermented food".  
2, 292 p.  
Elsevier applied Science publishers London, New York.

## TABLE DES MATIERES

	pages
<b><u>INTRODUCTION</u></b> .....	4
<b><u>HISTORIQUE</u></b> .....	6
<b><i>PREMIERE PARTIE</i></b>	
<b>RAPPEL DES TECHNIQUES DE FABRICATION ACTUELLE DU SAUCISSON</b> .....	9
1. <u>Le choix des viandes</u> .....	10
2. <u>Le présalage</u> .....	11
3. <u>Le broyage</u> .....	11
4. <u>Le malaxage</u> .....	11
4.1. <u>Le chlorure de sodium</u> .....	12
4.2. <u>Les nitrates et nitrites</u> .....	12
4.3. <u>Les sucres</u> .....	13
4.4. <u>Les ferments de maturation</u> .....	13
4.4.1. <u>Bactéries</u> .....	14
4.4.2. <u>Les levures</u> .....	15
5. <u>Le repos</u> .....	15
6. <u>L'embossage</u> .....	15
7. <u>Le fleurage</u> .....	15
8. <u>L'égouttage</u> .....	16
9. <u>L'étuvage</u> .....	16
10. <u>Le séchage</u> .....	16
11. <u>La finition</u> .....	19
<b><i>DEUXIEME PARTIE</i></b>	
<b>ETUDE EXPERIMENTALE DE LA FLORE FONGIQUE EXTERNE DES CHARCUTERIES SECHES</b> .....	22
1. <u>Objectifs</u> .....	23
2. <u>Etude mycologique préliminaire des saucissons altérés</u> .....	23

3. <u>Proposition d'étude de la flore fongique de surface</u> .....	24
3.1. <u>Principe de la fabrication actuelle du produit appelé "saucisson court de montagne"</u> .....	25
3.1.1. <u>Fabrication</u> .....	25
3.1.2. <u>Etuvage</u> .....	25
3.1.3. <u>Séchage</u> .....	27
3.1.4. <u>Dépôt du talc</u> .....	27
3.1.5. <u>Finition</u> .....	27
3.2. <u>Protocoles des travaux effectués</u> .....	27
3.2.1. <u>Etude de la cinétique d'apparition de la flore fongique à la surface des charcuteries dans les conditions actuelles de fabrication</u> .....	27
3.2.1.1. <u>Matériel</u> .....	27
3.2.1.2. <u>Méthodes</u> .....	29
3.2.1.3. <u>Expression des résultats</u> .....	31
3.2.2. <u>Evaluation des capacités de croissance des champignons sur adsorbants <i>in vitro</i> sur gélose au malt</u> .....	31
3.2.2.1. <u>Matériel</u> .....	31
3.2.2.2. <u>Méthodes</u> .....	34
3.2.2.3. <u>Expression des résultats</u> .....	35
3.3. <u>Résultats</u> .....	36
3.3.1. <u>Cinétique d'apparition de la flore fongique</u> .....	36
3.3.2. <u>Croissance <i>in vitro</i> des champignons en présence de talc</u> .....	38
3.4. <u>Discussion</u> .....	38
3.4.1. <u>Cinétique d'apparition de la flore fongique</u> .....	38
3.4.2. <u>Croissance <i>in vitro</i> des champignons en présence de talc</u> .....	43
3.5. <u>Recherche d'une compétition entre espèces fongiques</u> .....	43
3.5.1. <u>Matériel</u> .....	44

3.5.2. <u>Méthode</u> .....	44
3.5.3. <u>Résultats</u> .....	45
3.5.4. <u>Discussion</u> .....	45
4. <u>Les solutions envisageables</u> .....	47
4.1. <u>Les conditions de séchage</u> .....	47
4.2. <u>La désinfection</u> .....	48
4.2.1. <u>Remplacement de la moisissure de fleurage</u> .....	48
<b><u>CONCLUSION</u></b> .....	51
<b>ANNEXES</b> .....	53
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	58
<b>TABLE DES MATIERES</b> .....	60

# ESSAI D'AMÉLIORATION DE L'ASPECT EXTÉRIEUR D'UNE CHARCUTERIE SÈCHE INDUSTRIELLE

---

## RÉSUMÉ :

Le saucisson sec représente une denrée de consommation courante en France. La fabrication comporte plusieurs étapes, allant du présalage à la finition. A la suite d'un incident de fabrication dénaturant l'aspect du produit, nous avons étudié à la demande du fabricant la cinétique d'apparition des espèces fongiques de surface sur les produits de charcuterie. Afin d'améliorer la production, nous avons essayé de sélectionner un adsorbant de surface capable de limiter la prolifération des espèces fongiques exogènes, sans empêcher la croissance des espèces utilisées par le fleurage. Les résultats obtenus sont difficiles à exploiter quant au choix du meilleur procédé de fleurage. Cependant, une rigueur plus grande dans le procédé de fabrication peut limiter sensiblement les risques de contamination. Cette amélioration passe par une bonne maîtrise et une connaissance approfondie des différentes étapes de fabrication.

---

## MOTS CLÉS :

- Saucisson sec
- Fleurage
- Pénicillium