

Filière Technologies du vivant

Orientation Technologie alimentaire

Diplôme 2007

Christophe Brinon

*Influence des micro-ondes
sur la charge en germes des mets
dans les ménages et dans la restauration*

Professeur Esther Schmitt
Expert Patrick Edder

Influence des micro-ondes sur la charge en germes des mets dans les ménages et dans la restauration

Einfluss von Mikrowellen auf die Keimzahl in Gerichten von Haushalten und der Restauration

Objectif

Les objectifs du travail de diplôme sont respectivement, les tests d'influence de différentes puissances et temps de cuisson, au four à micro-ondes, sur les microorganismes résiduels et ajoutés, dans des plats déjà cuits. Les microorganismes utilisés seront *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, les spores de *Bacillus cereus* et les spores de *Bacillus atrophaeus*. La comparaison des différentes courbes de températures des traitements au four à micro-ondes, obtenues à partir de sondes de température mesurant systématiquement, chaque essai au cœur et au bord de la portion, dans des plats et des récipients différents ainsi que la répétabilité et l'homogénéité des traitements au four à micro-ondes sont analysées.

Résultats

Les programmes de cuisson 2 et 3 min à 1300 W ainsi que 5 min à 650 W atteignent des effets de cuisson supérieurs à 1 P (valeur pasteurisatrice). Ces programmes ne sont pas différenciables d'un point de vue microbiologique. Ils réduisent *E. coli* d'un facteur de 10^4 au minimum, *S. aureus* d'un facteur d'environ 10^3 et les spores de *Bacillus atrophaeus* d'un facteur entre 10 et 10^2 . Ils n'ont par contre aucun effet sur les spores de *Bacillus cereus*.

Le programme de cuisson 2 min à 650 W atteint des effets de cuisson très inférieurs à 1 P au cœur des aliments (env. 0.01 P). Ce traitement est insuffisant et ne réduit aucun des germes analysés. Les sondes de températures démontrent que la cuisson des aliments est irrégulière. Les traitements chauffent bien plus vite les bords que le cœur de la portion.

Mots-clés

Micro-ondes, Four, Inactivation, Traitement thermique, Valeur pasteurisatrice, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Spore, *Bacillus cereus*, *Bacillus atrophaeus*

Ziel

Das Ziel der Diplomarbeit ist den Einfluss verschiedener Leistungen und Garzeiten in der Mikrowelle auf vorhandene und hinzugefügte Mikroorganismen, in bereits gekochten Gerichten zu testen. Folgende Mikroorganismen wurden dazu verwendet: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Sporen von *Bacillus cereus* und Sporen von *Bacillus atrophaeus*.

Mit zwei Temperatursonden, die eine am Rand, die andere in der Mitte der Portion, wurden systematisch Temperaturkurven der Lebensmittel erfasst und damit verschiedene Geräteeinstellungen, Portionierungen und Gefässe verglichen. In verschiedenen Versuchen wurde die Wiederholbarkeit sowie die Homogenität der Portionen getestet.

Resultate

Das Kochprogramm mit 2 und 3 min bei 1300 W sowie 5 min bei 650 W erreichen Kocheffekte die höher als 1 P (Pasteurisationswert) betragen. Diese Programme haben mikrobiologisch denselben Effekt. Diese Programme können mikrobiologisch nicht unterschieden werden. *E. coli* wird um einen Faktor 10^4 , *S. aureus* um einen Faktor 10^3 und die Sporen von *Bacillus atrophaeus* um einen Faktor zwischen 10 und 10^2 reduziert. Die Behandlung hat jedoch keinen Effekt auf Sporen von *Bacillus cereus*.

Das Kochprogramm mit 2 min bei 650 W erreicht Kocheffekte von unter 1 P in der Mitte des Lebensmittel (ungefähr 0.01 P). Diese Behandlung ist ungenügend und reduziert keinen der analysierten Keime. Die Temperatursonden zeigen, dass das Kochen der Lebensmittel unregelmässig ist. Bei der Hitzebehandlung wird der Rand schneller erhitzt als die Mitte der Portionen.

Schlüsselwörter

Mikrowelle, Ofen, Inaktivierung, Hitzebehandlung, Pasteurisationswert, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Spore, *Bacillus cereus*, *Bacillus atrophaeus*

Table des matières

1.	Introduction.....	4
1.1.	Objectifs.....	4
1.2.	Partie théorique.....	5
1.2.1.	Le four à micro-ondes	5
1.2.1.1.	Définition	5
1.2.1.2.	Histoire.....	5
1.2.1.3.	Le fonctionnement d'un four à micro-ondes.....	5
1.2.1.4.	La cuisson de l'aliment	6
1.2.1.5.	Littérature sur le sujet.....	6
1.2.2.	Choix des microorganismes	7
1.2.2.1.	<i>Escherichia coli</i>	7
1.2.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	7
1.2.2.3.	Spores de <i>Bacillus</i>	7
1.2.3.	La valeur pasteurisatrice P	8
2.	Matériel et méthodes.....	9
2.1.	Matériel.....	9
2.2.	Méthodes.....	12
2.2.1.	Production de spores de <i>Bacillus cereus</i>	12
2.2.2.	Ensemencement des sauces	12
2.2.3.	Protocoles de cuisson	13
2.2.3.1.	Tests de la répétabilité.....	13
2.2.3.2.	Essais avec les microorganismes.....	14
2.2.3.3.	Comparaison des plats	15
2.2.4.	Détermination des germes aérobies mésophiles.....	17
2.2.5.	Milieux sélectifs	17
2.2.5.1.	Détermination de <i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.2.5.2.	Détermination d' <i>Escherichia coli</i>	17
2.2.5.3.	Détermination des spores de <i>Bacillus cereus</i>	17
2.2.5.4.	Détermination des spores de <i>Bacillus atrophaeus</i>	17
3.	Résultats	18
3.1.	Tests de la répétabilité.....	18
3.2.	Analyse des germes résiduels	18
3.3.	Traitement au four à micro-ondes avec <i>Escherichia coli</i>	19
3.4.	Traitement au four à micro-ondes avec <i>Staphylococcus aureus</i>	26
3.5.	Traitement au four à micro-ondes avec spores de <i>Bacillus</i>	33
3.5.1.	Spores de <i>Bacillus atrophaeus</i>	33
3.5.2.	Spores de <i>Bacillus cereus</i>	36
3.6.	Synthèse des résultats	40
3.7.	Comparaison des plats	40
3.7.1.	Comparaison de traitements de riz à température ambiante et refroidie ...	43

4.	Discussion.....	44
4.1.	Choix des aliments	44
4.2.	Tests de la répétabilité et de l'homogénéité des essais	44
4.3.	Comparaison des effets des micro-ondes sur les germes.....	44
4.3.1.1.	<i>Escherichia coli</i>	45
4.3.1.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	45
4.3.1.3.	Spores de Bacillus	46
4.4.	Comparaison des programmes de cuissons	46
4.5.	Comparaison des plats	46
5.	Conclusion et perspectives.....	47
6.	Bibliographie	48
7.	Remerciements	49
8.	Annexes	49

1. Introduction

La qualité microbiologique des aliments constitue, aujourd'hui, une des attentes majeures des consommateurs. En effet, il est important qu'aucun risque par rapport à la santé ne soit lié à la consommation d'un produit alimentaire.

Les industries agro-alimentaires doivent donc fabriquer des produits d'une qualité irréprochable. Un non respect des mesures d'hygiène et de sécurité sur des aliments peut avoir des conséquences importantes, comme une contamination du produit. Elle peut entraîner une intoxication du consommateur avec des effets pouvant aller jusqu'à sa mort.

Mais lorsque, dans les ménages ou dans les restaurants, des plats sont préparés à l'avance puis sont réchauffés à la minute au four à micro-ondes, aucun contrôle n'est alors effectué sur les denrées alimentaires. Il est possible que le produit soit contaminé après sa préparation et le temps de stockage peut permettre aux microorganismes présents de se multiplier. Un restaurant doit pouvoir garantir à ses clients des plats ne présentant aucun danger pour leur santé. Les ondes et la chaleur produites par ces fours devraient détruire les germes présents dans la denrée alimentaire. Mais comme le temps de passage pour réchauffer un produit est court et qu'il est connu que la répartition de la chaleur dans les micro-ondes est irrégulière, ce traitement n'est peut être pas suffisant pour détruire cette flore microbiologique.

1.1. Objectifs

Les objectifs du travail de diplôme sont de, tester l'influence de différentes puissances et temps de cuisson au four à micro-ondes sur les microorganismes résiduels et ajoutés dans des plats déjà cuis. Les microorganismes utilisés seront *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, les spores de *Bacillus cereus*, les spores de *Bacillus atrophaeus* et les germes aérobies mésophiles.

Comparer les différentes courbes de températures des traitements au four à micro-ondes obtenues à partir de sondes de température mesurant systématiquement chaque essai au cœur et au bord de la portion dans des plats et des récipients différents. Les portions testées seront, un plat à base de riz et un plat de spaghettis bolognaise. Les récipients utilisés seront, un plat PYREX, un plat en verre et une assiette en arcopal avec une portion aplatie et en boule au milieu de l'assiette.

Tester la répétabilité ainsi que l'homogénéité des traitements au four à micro-ondes.

Calculer les valeurs de pasteurisation de chaque essai au bord et dans le cœur des portions afin de comparer les effets des différents traitements entre eux et aux résultats microbiologiques.

1.2. Partie théorique

1.2.1. Le four à micro-ondes

1.2.1.1. Définition

Un four à micro-ondes est un matériel d'électroménager, permettant la cuisson rapide d'aliments destinés à la consommation humaine ou animale. Il est de plus très pratique pour réchauffer des aliments déjà préparés. [1]

1.2.1.2. Histoire

Le four à micro-ondes n'a pas pour ancêtre le four à bois du boulanger ou le four à gaz popularisé par la ménagère des années 1950. Bien au contraire, il plonge ces racines dans l'un des plus grands secrets militaires de la Seconde Guerre mondiale. Il est un pur produit des recherches sur les radars.

C'est dans les nouveaux hangars de la société Raytheon Corp que l'histoire du four à micro-ondes a commencé. Une poignée d'ingénieurs conduits par Percy Spencer avait pour mission d'améliorer la qualité des radars, car les premiers magnétrons sont loin de fonctionner de façon continue. Ils émettaient par pulsations, ce qui bridait leur efficacité. [2]

Un jour, alors qu'il était à proximité d'un radar en activité, il a ressenti une soudaine et étrange sensation. Il a également remarqué qu'une barre de chocolat qui était dans sa poche avait fondu. Le premier aliment à avoir été délibérément chauffé par des micro-ondes est du pop-corn, le second est un œuf (qui a explosé au visage d'un des expérimentateurs). [1]

1.2.1.3. Le fonctionnement d'un four à micro-ondes

L'énergie électrique, sous la forme d'une tension alternative (haute et basse tension) est transformée en tension continue par l'intermédiaire d'un transformateur. Un magnétron utilise cette énergie et génère des ondes à une fréquence de 2.45 Ghz. Les micro-ondes sont acheminées par une antenne jusqu'à un guide d'onde qui les dirige sur un appareil appelé brasseur d'ondes dont le rôle est de répartir le rayonnement dans la cavité du four. Il s'agit tout simplement d'une pale métallique qui tourne en haut du four, à la sortie du guide d'onde. Ce mécanisme, couplé à un plateau tournant, permet d'obtenir une bonne utilisation de l'énergie rayonnée. Les ondes se réfléchissent sur les parois métalliques du four et sont absorbées par les molécules de l'aliment à cuire.

1.2.1.4. La cuisson de l'aliment

Tous les aliments contiennent de l'eau. Ces molécules d'eau sont agitées grâce aux ondes produites et à force de se percuter, elles dégagent de la chaleur à l'intérieur de l'aliment qui rejette l'excédent d'eau sous la forme de vapeur.

Soumises aux micro-ondes, les molécules d'eau ne sont pas forcément présentes en même quantité dans tout l'aliment. C'est pourquoi, certaines parties peuvent être moins chaudes que d'autres. Il faut savoir aussi que les molécules d'eau ne sont pas les seules sollicitées dans le réchauffement des aliments. Il y a aussi les glucides et les lipides qui sont touchés par les micro-ondes du four. Seulement, il n'y a que les molécules d'eau qui puissent avoir une mobilité suffisante pour chauffer l'aliment. Toutes les ondes ne sont pas absorbées par l'aliment lorsqu'il chauffe. Les seules ondes absorbées vont agir dans ce que l'on appelle l'énergie calorifique. Les autres ondes sont rejetées : ce sont les ondes réfléchies. [1] ; [3]

La distribution des molécules d'eau dans un aliment n'est pas toujours bien répartie, c'est pour régler ce problème que le plateau de four à micro-ondes tourne, afin de mieux répartir les ondes dans l'aliment.

Les fabricants de micro-ondes ont aussi développé leur propre technique pour pouvoir agir sur ce problème. Par exemple, Panasonic a introduit la technologie Inverter :

Les fours à micro-ondes traditionnels sont composés d'un gros transformateur avec un condensateur et une diode qui alimentent le magnétron en électricité. La technologie Inverter remplace le transformateur conventionnel par un circuit d'alimentation Inverter. [4]

Cette technologie permet de bénéficier de plus d'espace dans le four à micro-onde, d'une température constante, d'une cuisine parfaite et rapide, et d'un poids plus léger. Les micro-ondes utilisant la technologie Inverter présentent en moyenne 3 kilos de moins que les micro-ondes ordinaires. Cela signifie qu'ils sont plus faciles à manipuler ou à déplacer en cas de nettoyage.

1.2.1.5. Littérature sur le sujet

Les articles trouvés sont tous détaillés dans le projet de semestre, en voici un aperçu. [5]

Une étude a été menée par « l'université de Bologne » en 2001. Elle porte sur l'influence des micro-ondes sur les microorganismes présents dans les épices et les herbes, plus précisément dans le poivre noir, le piment rouge, l'origan, le romarin et la sauge. Le chauffage par micro-ondes était particulièrement efficace contre des moisissures et il a provoqué une diminution des bactéries fécales. Les seuls organismes non réduits d'une manière satisfaisante étaient les germes totaux, probablement à cause de l'inefficacité du traitement de micro-ondes contre les bactéries génératrices de spores. [6]

Une autre étude a été menée par le « Department of Food Science » et le « Center for Advanced Food Technology » de New Jersey en novembre 1993. Ils ont étudié l'effet des micro-ondes sur l'inactivation des spores de *Clostridium sporogenes*. Les résultats ont indiqué que l'effet des micro-ondes sur la viabilité des spores est indiscernable de l'effet d'une cuisson conventionnelle. [7]

Le four micro-onde peut aussi servir à la pasteurisation. Une étude menée au Chili a recherché les effets sur *E. coli* d'une pasteurisation d'un jus de pomme dans un four à micro-ondes pour les ménages. La conclusion de cette étude est que le four à micro-ondes des ménages convient pour l'inactivation d'*E. coli* dans du jus de pomme et que c'est bien la chaleur de l'aliment et non les ondes qui inactive *E. coli* dans le jus de pomme. [8]

1.2.2. Choix des microorganismes

Les microorganismes ont été choisis en fonction de leur résistance à la chaleur et de leur probabilité de les trouver dans un plat servi dans un restaurant ou préparé chez soi. En effet, les germes cités ci-dessous sont, selon Edder Patrick, adjoint au chimiste cantonal, service de protection de la consommation de Genève (Suisse), ceux avec lesquels le laboratoire cantonal fait le plus de contestation dans les restaurants.

1.2.2.1. *Escherichia coli*

Membre de la famille des *Enterobacteriaceae*, cette bactérie est Gram négatif et anaérobie facultative. *Escherichia coli* se trouve dans les intestins de l'homme et des animaux et est considéré comme non pathogène. Il est utilisé comme indicateur fécal de l'eau et des aliments. Ces germes sont plus résistants à l'acidité et à la congélation que la plupart des autres bactéries, par contre peu résistants à la chaleur. Sa valeur D est de $D_{47} = 0.8 - 65 \text{ min}$. [9] [10]

1.2.2.2. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques appartiennent à la famille des *Micrococcaceae*. *S. aureus* est Gram positif et aérobies facultatifs. La contamination vient de l'homme (hygiène, nez, pus, peau) et peut se retrouver dans un produit tel qu'une bolognaise. Avec une flore concurrentielle il n'y a pas de risque de croissance de *S. aureus*. Mais avec une contamination après un traitement thermique, la flore concurrentielle serait détruite et cet environnement pourrait permettre la croissance des *S. aureus* avec une production de toxines. La résistance à la chaleur des *S. aureus* est de $D_{60} = 0.3 \text{ min}$. [9] [11]

1.2.2.3. Spores de *Bacillus*

Les spores sont généralement thermorésistantes et une simple pasteurisation ne suffit pas à les inactiver. Il faut dans la plupart des cas atteindre une température supérieure à 100 °C pour les détruire. Des spores pourraient être le moyen pour voir si d'autres paramètres que la chaleur, telles que les ondes, agissent sur les germes lors d'un traitement au four à micro-onde.

- Spores de *Bacillus cereus*

Membre de la famille des *Bacillaceae*, *Bacillus cereus* est une bactérie Gram positif, anaérobie facultative et sporulante. Les souches sont généralement divisées en deux groupes A et B, selon le type de toxines qu'elles produisent et les symptômes de la maladie. La bactérie est très répandue dans la nature, les souches de type B sont des contaminants naturels des rizières. Par conséquent, le riz est presque toujours contaminé par des spores de *B. cereus*. Un riz laissé trop longtemps hors du réfrigérateur favorise la multiplication des cellules. Par la suite le riz est réchauffé à une chaleur insuffisante pour détruire les toxines. [12]

La résistance à la chaleur des spores utilisées a été déterminée par Devantéry-Mayoraz Nathalie. Elle est de $D_{90} = 60$ min, $D_{100} = 21.4$ min avec une valeur z de 15°C [13]

- Spores de *Bacillus atrophaeus*

Les spores de *Bacillus atrophaeus* sont Gram positif, aérobie et ont l'avantage de ne pas être pathogènes. C'est donc des spores idéales pour tester la méthode avant d'utiliser les spores de *B. cereus*. Leur résistance, déterminée par Milani Federica, est de $D_{90} = 8.5$ min, $D_{115} = 1.3$ min avec une valeur z de 32.7°C [14]

1.2.3. La valeur pasteurisatrice P

Afin de pouvoir comparer divers procédés de pasteurisation, l'IDF (International Dairy Federation) définit la valeur pasteurisatrice P pour un chauffage à 72°C pendant 15 secondes. Cette valeur peut être obtenue avec d'autres combinaisons de température-temps selon la relation suivante [15] :

$$\ln \frac{t}{t_0} = \frac{E_a}{R} * \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right)$$

$$t_0 = 15 \text{ s} ; \quad T_0 = 345.1 \text{ K} ; \quad R = 8.314 \text{ J/mol} * \text{K} ; \quad E_a = 285000 \text{ J/mol}$$

Il est possible de trouver la valeur pasteurisatrice d'un traitement thermique, à partir de courbes de températures, en effectuant des différences entre les points de mesures et en additionnant les valeurs P de chaque différence, afin d'avoir la valeur P du traitement total.

Pour calculer les valeurs P des différences, la formule ci-dessus est orientée de la façon suivante :

$$P = \frac{\Delta t}{t_0 * e^{\left(\frac{E_a}{R} * \left(\frac{1}{\Delta T} - \frac{1}{T_0} \right) \right)}}$$

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

- Four à micro-ondes, FM 1300 CA, Franke, Suisse
- Sondes de température, T1 Fiber Optic Temperature Sensor, Reflex T1S-4330A, Neoptix inc., Canada
 - Plage de température : -80 à +250°C
 - Matière : PTFE Teflon
 - Longueur : 2 mètre
 - Boîtier de réception : REFLEX-2 RFX123A
 - Software : Neolink Pro, ver. 1.1 for Windows

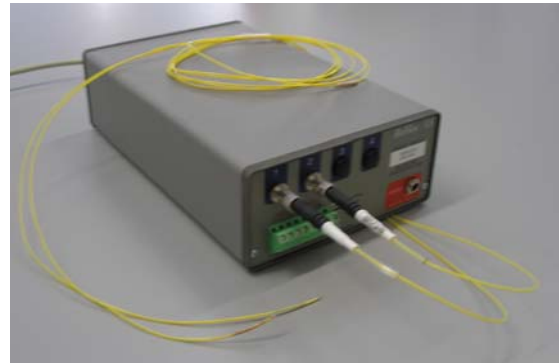


Figure 1: sonde de temperature Neoptix

- Etuve Memmert, Model 600, n° D06062, O.Kleiner AG, Suisse
- Centrifugeuse Universal 32R, n° 0345136-01-00, Hettich, Allemagne
- Stomacher 400 Circulator, Seward, Angleterre
- Sac Stomacher, avec filet, Classic 400, BA6041/STR, Seward, Angleterre
- Eau physiologique (VL), 0.85 % NaCl + 0.1 % peptone + eau déminéralisée
 - Tryptic digest of casein, Biolife 412340, Italie
 - Sodium Chloride (NaCl, 95%), Acrôs organics, Belgique
- Autoclave HV-85L, n° 980585553, Hirayama Manufacturing Corporation, Japon
- Incubateur Aerotron, n° 910031, Infors AG, Suisse
- Bain-Marie Variomag Telesystem, EC00148088, Julabo, Allemagne
- Microscope, Olympus BX40, Olympus Optical SA, Suisse
- Balance Sartorius, BL300, ± 0.1 g, Sartorius AG, Allemagne
- Cellule de comptage Neubauer, profondeur 0.02 mm ; surface 0.0025 mm², Allemagne
- Loupe de comptage HASKA AG, n° KZG75, Suisse
- Plat PYREX pourvu d'un dégagement de la vapeur, 0.75 L, Hongrie
- Cloche PYREX, Ø 25 cm, Hongrie
- Plat en verre, 15 cm de long, 8 cm de large, 6 cm de haut
- Assiette à soupe en arcopal, Ø intérieur 12.3 cm, Ø extérieur 22.6 cm
- Lysozyme, From Chicken Egg Wight, L6876-1G, SIGMA, Canada

- Milieu nutritif :
 - Plat Count Agar (PCA), Biolife 401145, pH 7.0 ± 0.2 , Italie
- Milieux sélectifs :
 - Baird Parker Agar (BP Agar), Biolife 4011162, pH 7.2 ± 0.2 , Italie
 - Suppléments : - Jaune d'oeuf émulsion 50 % 50 ml/l Biolife 42111621, Italie
 - Kalium tellurit 10 % 1 ml/l, Fluka 75208, Suisse
 - PTX agar, Chromocult, Merk n° 1.10169, pH 7.2 ± 0.2 , Allemagne
 - *Bacillus Cereus* Agar Base (BCA), Biolife 401112 7.2 \pm 0.1, Italie
 - Suppléments : - Jaune d'oeuf émulsion 50 % 50 ml/l Biolife 42111621, Italie
 - Vial of Polymyxin B Antimicrobial dilué dans 5ml eau sterile Biolife 42111621, Italie
 - Campden Agar (CA) préparé selon le mode opératoire appliqué par Mayoraz-Devantéry Nathalie [13], dont le résumé se trouve en [Annexe 1]
 - Ingrédients : - Tryptic digest of casein, Biolife 412340, Italie
 - Bacto™ Peptone, Difco 0118-17, Suisse
 - Jaune d'oeuf émulsion 50 % Biolife 42111621, Italie
 - D(+)-Glucose Monohydrat PH.EUR.III, n° 203140.0914, Panreac Quimica SA, Montcada i Reixac, Espagne
 - Beef Extract Powder, Biolife 41125, Italie
 - Manganese(II)-sulfate Monohydrate ($MnSO_4$), n° 63555, Fluka, Suisse
 - Calcium chloride dihydrate ($CaCl_2$), n° 21100, Fluka, Suisse
 - Agar Bacteriological (Agar Bios Special LL), Biolife 4110302, Italie
 - Buffered Pepton Bouillon (BPB), Biolife 4012785, pH 7.13, Italie
 - Brain Heart infusion (BHI-B), Biolife 4012302, pH 7.4 ± 0.2 , Italie

- Souches :
 - *Staphylococcus aureus*, DSM 799, HES-SO, Sion, Suisse
 - *Escherichia coli*, DSM 787, HES-SO, Sion, Suisse
 - Spores de *Bacillus atrophaeus*, DSM 7264, production Milani Federica, [14] 09.11.2005, HES-SO, Sion, Suisse
 - *Bacillus cereus* wild type, culture typique (bâtonnets qui sporules, croissance avec halo sur le milieu *Bacillus cereus* agar MYP et hémolyse positif sur le milieu Columbia Agar + 5% sheep blood (COS)) provenant d'une suspension de spore de plusieurs souches de *Bacillus cereus* fournie par Nestlé Konolfingen, purifiée par passage successif sur le milieu COS, Suisse
- Aliment :
 - Spaghettis, CaraMia, Ø1.5mm, Migros, Suisse
 - Ingrédient : Semoule de blé dure
 - Provenance : Fabriqué en Suisse
 - Bolognaise, Agnesi, Migros, Suisse
 - Ingrédient : Tomates (58 %), viande de bœuf (Italie) (15.5 %), concentré de tomates, carottes (6.3 %), céleri (3.1 %), oignons (19 %), huile d'olive, sel, poivre
 - Provenance : Fabriqué en Italie
 - Riz long grain, Uncle Ben's, Masterfoods AG, Suisse
 - Ingrédient : Riz long grain parboiled
 - Provenance : Pays de l'Union Européenne
 - Sauce SWEET&SOUR, Uncle Ben's, Masterfoods AG, Suisse
 - Ingrédient : Tomates (17 %), sucre (16 %), oignons (10 %), vin (5 %), carottes (6 %), ananas (5 %), poivrons verts (4 %), céleri (2.5 %), poivrons rouges (2.5 %), amidon de maïs modifié, pousses de bambou (2 %), sel, colorant : extrait de paprika, épices, arôme
 - Provenance : Fabriqué en Hollande

2.2. Méthodes

2.2.1. Production de spores de *Bacillus cereus*

La production de spores de *Bacillus cereus* a été effectuée selon la méthode utilisée par Mayoraz-Devantéry Nathalie. [13]

- Enrichissement

Quelques colonies de *Bacillus cereus* wild type sont suspendues dans le bouillon BHI-B. Le bouillon de culture est incubé à 37 °C pendant 24 h avec agitation.

- Sporulation

Ensemencer en surface 500 µl de cette culture sur une grande plaque (Ø 145 mm) de Pétri de CA. Incuber 4 à 5 jours à 37 °C, jusqu'à ce que la proportion de spores soit supérieure à 90 %. Détacher les spores de la plaque en ajoutant 10 ml d'eau déminéralisée stérile à 4 °C en frottant avec une spatule en verre et pipeter avec une pipette stérile la solution dans un tube stérile.

- Purification avec des lysozymes

Centrifuger la solution 20 min à 3800 RPM à 4 °C, enlever le surnageant et remettre le culot en suspension avec de l'eau déminéralisée stérile et ajouter 1 % (v/v) d'une solution lysozyme 1 %. Agiter la suspension 30 sec et la laisser reposer au congélateur (-20 °C) une nuit. Microscopier la suspension, si elle contient encore des cellules végétatives, recommencer le traitement lysozyme. Stocker la solution au frigo (5 °C) en attendant le jour de l'analyse.

Avant l'analyse, microscopier la suspension pour le comptage des cellules. Si la suspension contient à nouveau des cellules végétatives du au stockage, faire un traitement thermique au bain-marie à 80 °C pendant 20 min. Une fois que la suspension est exempte de cellules végétatives, le comptage des cellules pour l'ensemencement des sauces peut être effectué.

2.2.2. Ensemencement des sauces

Des bouillons de chaque culture, avec les différentes bactéries, sont incubés pendant une nuit à 30 °C. Ils sont ensuite microscopés afin de connaître le nombre d'unité formant des colonies par millilitre (ufc/ml) dans chaque bouillon. Ce dénombrement est effectué avec la cellule de comptage de Neubauer [16]. Les spores de *Bacillus atrophaeus* et de *Bacillus cereus* sont déjà concentrés et n'ont donc pas besoin d'être incubés. Ils sont directement microscopés. Seule la sauce est contaminée par un seul microorganisme par essai.

Les microorganismes sont incorporés dans 10 ml de VL et ensuite mélangés à la sauce. Il est souhaité d'avoir entre 10^4 et 10^5 ufc/g dans le mélange sauce et pâtes/riz c'est-à-dire, qu'en tenant compte des cellule mortes dénombrées également au microscope et de la dilution dans 2/3 de pâtes/riz, environ 10^6 ufc/g de germes dans la sauce sont nécessaires.

2.2.3. Protocoles de cuisson

Un protocole strict a été créé afin d'obtenir des courbes de températures les plus similaires possible lors des tests. Les cuissons sont standardisées et les étapes de prises d'échantillons sont identiques afin d'être le plus reproductible possible. Chaque essai est effectué à triple, afin d'assurer des résultats représentatifs.

2.2.3.1. Tests de la répétabilité

Des tests de la répétabilité ont été effectués afin d'observer si les températures des portions chauffées au four à micro-ondes sont reproductibles mais aussi pour vérifier si la température de la portion lors de la cuisson entre le cœur et le bords du produit est homogène. Six essais ont été réalisés avec le plat PYREX et une portion de 300 g de riz blanc.

Mettre la portion dans le plat PYREX et l'aplatir afin d'avoir une épaisseur égal dans le plat de 2.5 cm. Mesurer le point central (7.6 cm du bord) et un point à 2 cm du bord. Passer les sondes dans les trous du couvercle du plat.

Insérer les sondes aux endroits indiqués, la figure 2 montre où sont plantées les sondes dans la portion.



Figure 2 : Model d'incorporation des sondes dans le plat PYREX

Mettre le couvercle et placer le plat dans le four à micro-ondes les trous face à la porte comme le montre la figure 3.



Figure 3 : positionnement du plat dans le four à micro-ondes

Démarrer l'acquisition de données sur l'ordinateur branché aux sondes avec un enregistrement des températures chaque deux secondes puis enclencher le programme de cuisson du four à micro-ondes. A la fin du programme attendre une minute et stopper l'acquisition de données. Les paramètres de l'essai sont, un chauffage de la portion à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four.

Les mesures collectées pour l'obtention des courbes de températures sont prises depuis le point où la température augmente jusqu'au temps du programme plus la minutes de repos, dans le cas présent un temps d'acquisition de 4 minutes.

2.2.3.2. Essais avec les microorganismes

Peser une portion de 200 g de riz ou spaghettis avec 100 g de sauce contaminée, mélanger et prendre un échantillon de 20 g pour l'analyse microbiologique. Toutes les analyses avec les microorganismes ont été effectuées avec le plat PYREX afin de respecter un maximum de répétabilité entre les essais.

Mettre la portion dans le plat PYREX et l'aplatir afin d'avoir une épaisseur égale dans le plat de 2 cm. Mesurer le point central (7.6 cm du bord) et un point à 2 cm du bord. Passer les sondes dans les trous du couvercle. La suite de l'essai est semblable aux tests de répétabilité.

A la fin du programme prendre un échantillon de 20 g au bord du plat (où la sonde du bord était plantée) et un échantillon de 20 g au cœur du produit pour les analyses microbiologiques.

2.2.3.3. Comparaison des plats

Deux programmes ont été testés avec 4 sortes de plats afin de constater si il y a des différences d'évolution de température lors de la cuisson des produits.

Les paramètres des essais sont, un chauffage de la portion à 650 watts pendant 3 minutes et un chauffage de 1300 watts pendant 3 minutes avec pour chaque essai un repos de 1 minute du plat dans le four. Chaque essai a été effectué avec une portion de riz blanc de 300 g.

Les plats utilisés sont, un plat PYREX, un plat en verre et une assiette en arcopal avec une portion de riz aplatie et une en boule au milieu de l'assiette.

Ces mêmes tests sont aussi réalisés avec des plats chauffés à partir d'un riz à température ambiante et un riz qui a reposé une nuit au frigo (5 °C). Le but étant d'étudier les différences d'évolution des courbes de température du procédé avec des températures d'avant cuisson distinctes.

- Plat en PYREX

La méthode utilisée pour le plat PYREX est identique à celle des tests de répétabilité avec les deux programmes cités ci-dessus.

- Plat en verre

Mettre la portion dans le plat en verre et l'aplatir afin d'avoir une épaisseur égal dans le plat de 4 cm. Mesurer le point central (7.5 et 4 cm des bords) et un point à 2 cm des bords dans un coin. Passer les sondes dans le trou de la cloche et les insérer aux points mesurés. Poser la cloche sur le plat et placer le plat au centre du four à micro-ondes.

La figure 4 montre où sont plantées les sondes dans la portion.

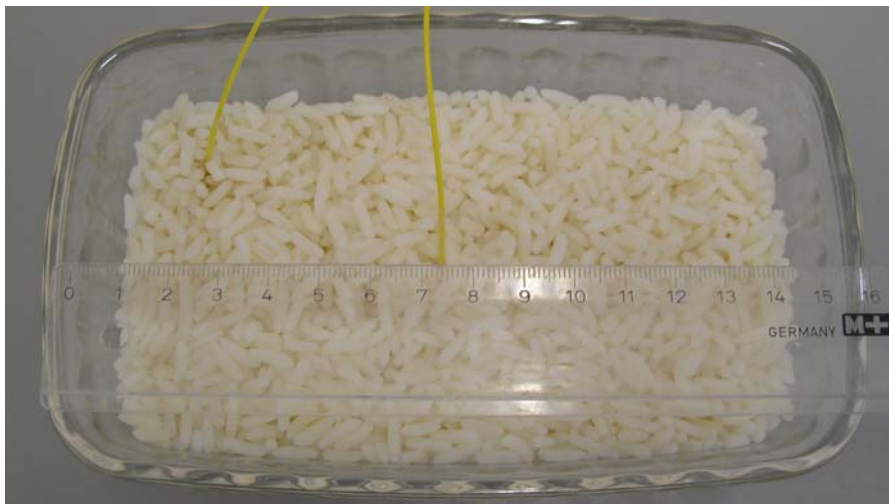


Figure 4 : Model d'incorporation des sondes dans le plat en verre

Assiette avec portion de riz aplatie

Aplatir la portion de riz dans l'assiette, mesurer le centre (11 cm du bord) et un point à 2 cm du bord du riz aplati. Passer les sondes dans le trou de la cloche et les insérer aux points mesurés. Poser la cloche sur l'assiette et la placer au centre du four à micro-ondes.

La figure 5 montre où sont plantées les sondes dans la portion.



Figure 5 : Model d'incorporation des sondes dans une assiette avec une portion de riz aplatie

- Assiette avec portion de riz en boule

Faire une boule de riz dans le creux de l'assiette à soupe de 8 cm d'épaisseur, passer les sondes dans le trou de la cloche et les insérer dans la portion. Une au centre, et enfiler l'autre le plus au bord possible. Poser la cloche sur l'assiette et la placer au centre du four à micro-ondes.

La figure 6 montre où sont plantées les sondes dans la portion.

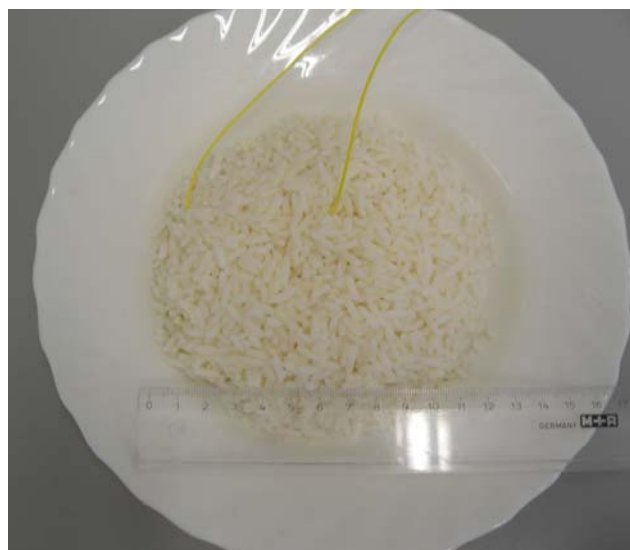


Figure 6 : Model d'incorporation des sondes dans une assiette avec une portion de riz en boule

2.2.4. Détermination des germes aérobies mésophiles

Le milieu Plate Count Agar (PCA) permet la croissance des germes aérobies mésophiles. La méthode SO8101 a été utilisée sans aucune modification. [17]

Ensemencement avec la méthode dans la masse [18]

Incubation : 37 °C durant 48 heures.

2.2.5. Milieux sélectifs

Un milieu sélectif permet la croissance que d'une seule espèce ou d'un groupe d'espèces bactériennes. La croissance des autres groupes est entravée ou inhibée. [19]

Les différents germes à analyser peuvent ainsi être identifiés et sélectionnés pour les dénombrer.

2.2.5.1. Détermination de *Staphylococcus aureus*

Le milieu Baird Parker Agar (BP-Agar) selon les méthodes SO8108 permet la sélectivité des *S. aureus*. La couleur des colonies de *S. aureus* est gris-noir sur les plaques et entourées d'un halo clair. [20] *S. aureus* étant un microorganisme aérobe la méthode d'ensemencement en surface a été privilégiée. [21]

Incubation : 37 °C durant 48 heures.

2.2.5.2. Détermination d'*Escherichia coli*

La méthode SO8106 permet la sélectivité d'*Escherichia coli*. Le milieu Tryptone Bile X-Gluc Agar (TBX) a été remplacé par le milieu PTX agar. Les colonies apparaissent en bleu sur le milieu. [22]

La méthode d'ensemencement dans la masse a été effectuée. [18]

Incubation : 37 °C durant 48 heures.

2.2.5.3. Détermination des spores de *Bacillus cereus*

La méthode SO8101 a été utilisée. Le milieu *Cereus* Selektive Agar (MYP Agar) a été remplacé par le milieu *Bacillus Cereus* Agar Base (BCA) [23]

Ensemencement avec la méthode en surface. [21]

Incubation : 30 °C durant 24 heures.

2.2.5.4. Détermination des spores de *Bacillus atrophaeus*

Pour les essais incubés avec les spores de *Bacillus atrophaeus*, seule une analyse avec le milieu Plat Count Agar (PCA) a été effectuée.

Ensemencement avec la technique d'ensemencement en surface a été privilégiée. [21]

Incubation : 30 °C durant 48 heures.

3. Résultats

3.1. Tests de la répétabilité

Des tests de répétabilité ont non seulement été effectués afin d'observer si les essais chauffés au four à micro-ondes sont reproductibles mais aussi pour vérifier si la température de la portion lors de la cuisson entre le cœur et le bord du produit est homogène. Six essais identiques ont été effectués et sont représentés dans la figure 7

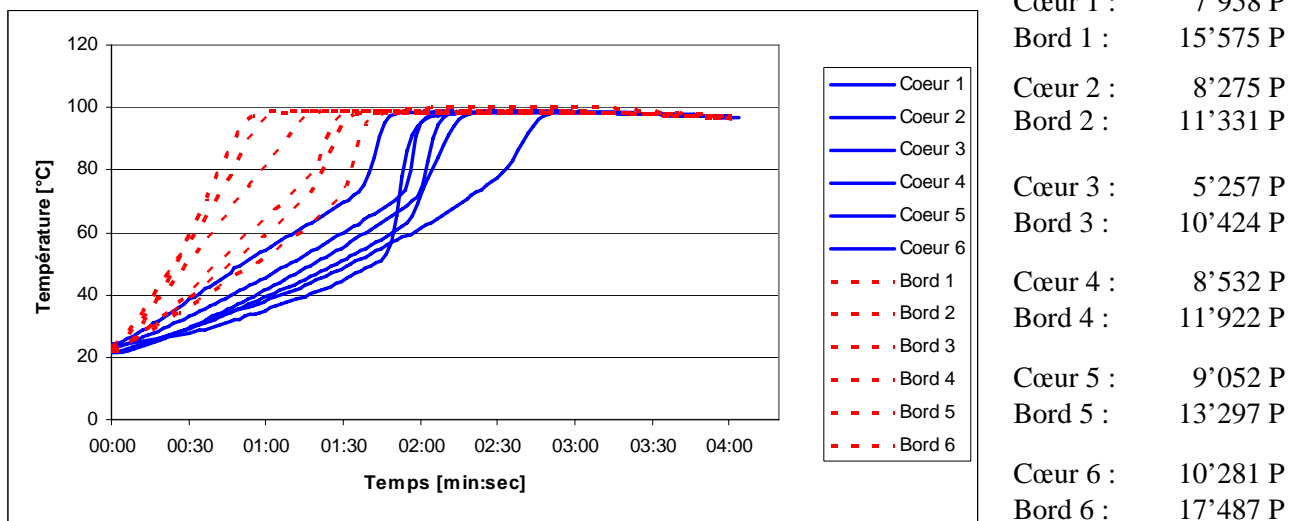


Figure 7 : Essais sur la répétabilité, chauffage d'une portion de 300 g de riz à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Deux sondes mesurent systématiquement le bord et le cœur de la portion. Lors des traitements au four à micro-ondes il est clairement constaté que le bord de la portion chauffe bien plus vite que le cœur et que les essais sont très hétérogènes.

On remarque toutefois que la température atteinte en fin de traitement est la même pour tous les essais que ce soit au bord ou au cœur de la portion.

Les valeurs de pasteurisation illustrent parfaitement ces différences avec des résultats entre 5'000 et 10'000 P pour les cœurs. Et des résultats variant entre 10'000 et 17'000 P pour les bords des portions.

Ces essais montrent aussi clairement que c'est lors de la fin du traitement que la température à cœur du produit augmente le plus vite (après 1 min 30 sec env.).

3.2. Analyse des germes résiduels

Des essais sur les germes résiduels ont été effectués afin de tester la sonde, les programmes et la méthode avant d'inoculer les sauces. Les programmes utilisés sont respectivement 2 et 4 min à 650 W et 1 et 3 min à 1300 W. Le plat utilisé est l'assiette plus la cloche.

Les résultats pour les spaghettis avant et après les traitements aux micro-ondes sont inférieurs à 100 ufc/g. Ce résultat est normal du fait que les sauces sont pasteurisées et que les spaghettis sont cuits.

Dans le riz, quelques germes sont présents avant et après le traitement et aucune diminution n'est constatée (entre 100 et 700 ufc/g) de plus des pim points sont présents. Ces germes proviennent probablement du riz qui peut contenir des spores.

3.3. Traitement au four à micro-ondes avec *Escherichia coli*

Le nombre d'*Escherichia coli* inoculé dans la portion avant la cuisson ainsi que le nombre de germes détectés après les différents traitements au four à micro-ondes sont détaillés dans le tableau 1. L'ensemencement initial est estimé à 10^4 ufc/g et la détection minimale avec les dilutions prévues est de 10^2 ufc/g. Pour chaque programme les courbes de température correspondantes sont exposées dans les figures 8, 9, 10, 11. Toutes les courbes de température de chaque essai sont détaillées en [Annexe 2].

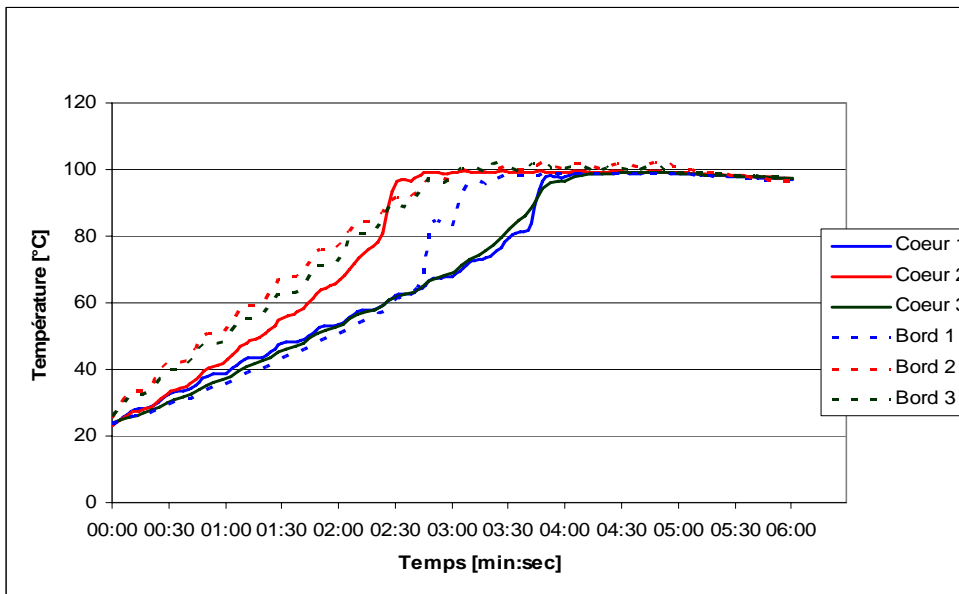
Tableau 1 : Détection d'*Escherichia coli* dans des portions de spaghettis et de riz

Germe	Programme	Aliment	essais	Avant cuisson [ufc/g]	Au bords [ufc/g]	Au cœur [ufc/g]
E. coli Ensemencement estimé 10^4 [ufc/g]	5 min 650 W	Spaghettis	1	$2.3 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			2	$2.8 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			3	$3.6 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
		Riz	1	$2.5 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			2	$1.2 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			3	$1.0 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
	3 min 1300 W	Spaghettis	1	$4.4 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			2	$3.0 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			3	$4.4 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
		Riz	1	$8.6 \cdot 10^3$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			2	$8.0 \cdot 10^3$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			3	$7.0 \cdot 10^3$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$

Le nombre de germes trouvés avant les traitements thermiques est conforme à ce qui avait été prévu avant l'ensemencement des sauces. En effet, tous les essais ont entre $7.0 \cdot 10^3$ et $4.4 \cdot 10^4$ ufc/g.

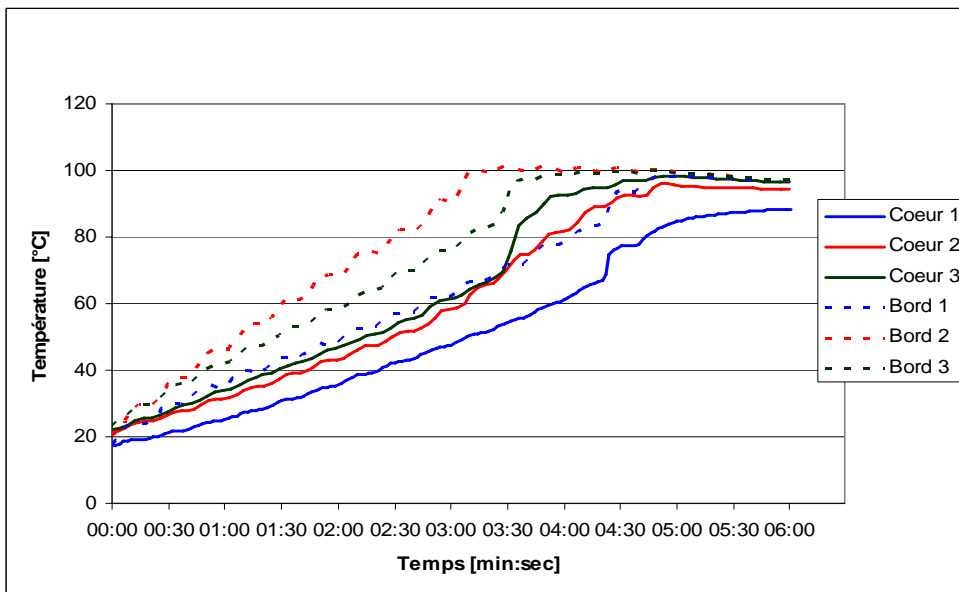
Tous les traitements effectués lors de cette série d'essais réduisent les germes présents d'un facteur de 10^2 au minimum. Au point de vue microbiologique, il est impossible de différencier les deux programmes.

- Programme 5 min à 650 W



Cœur 1 :	10'443 P
Bord 1 :	12'522 P
Cœur 2 :	18'316 P
Bord 2 :	23'049 P
Cœur 3 :	10'023 P
Bord 3 :	21'608 P

Figure 8 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



Cœur 1 :	294 P
Bord 1 :	5'545 P
Cœur 2 :	2'868 P
Bord 2 :	18'627 P
Cœur 3 :	6'508 P
Bord 3 :	12'388 P

Figure 9 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les courbes de température montrent encore des essais très hétérogènes entre le bord et le cœur d'un produit avec des valeurs pasteurisatrices très différentes.

Les valeurs obtenues dans les spaghettis sont plus proches, mais peuvent tout de même varier du simple au double, comme dans les essais 1 et 3.

De manière générale, ce traitement (650 W pendant 5 min) stabilise la température à une température proche de 100 °C. La température se maintient pendant la minute de repos et augmente même dans le cœur de l'essai 1 de la proportion de riz qui était le moins chaud des cœurs.

• Programme 3 min à 1300 W

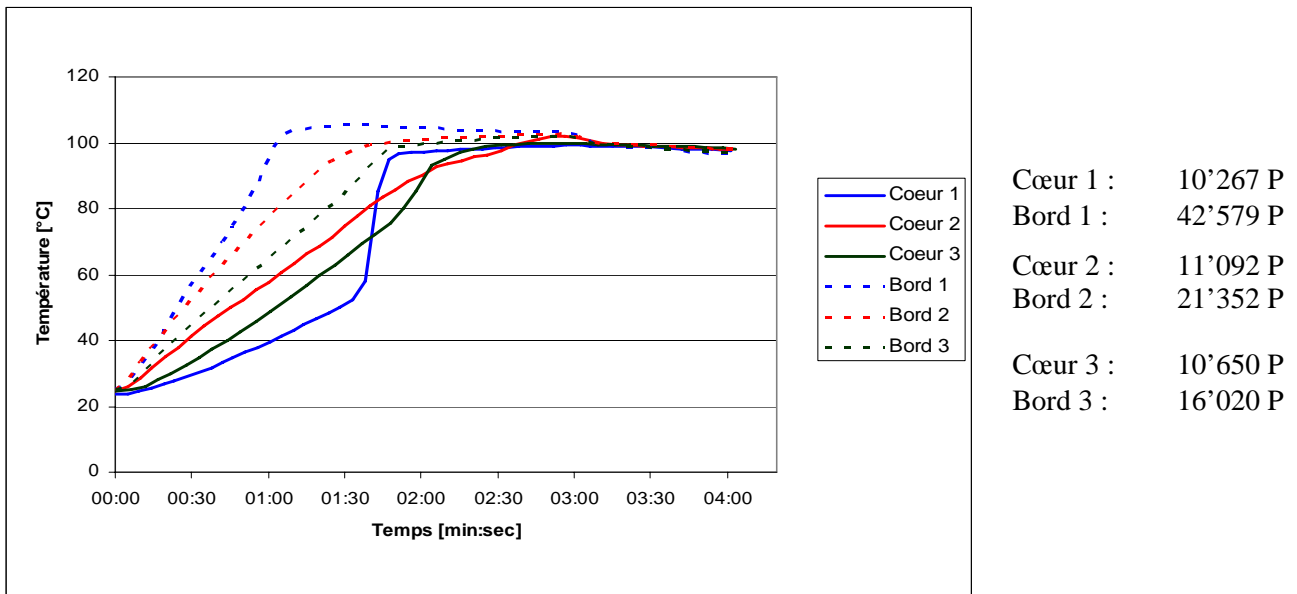


Figure 10 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

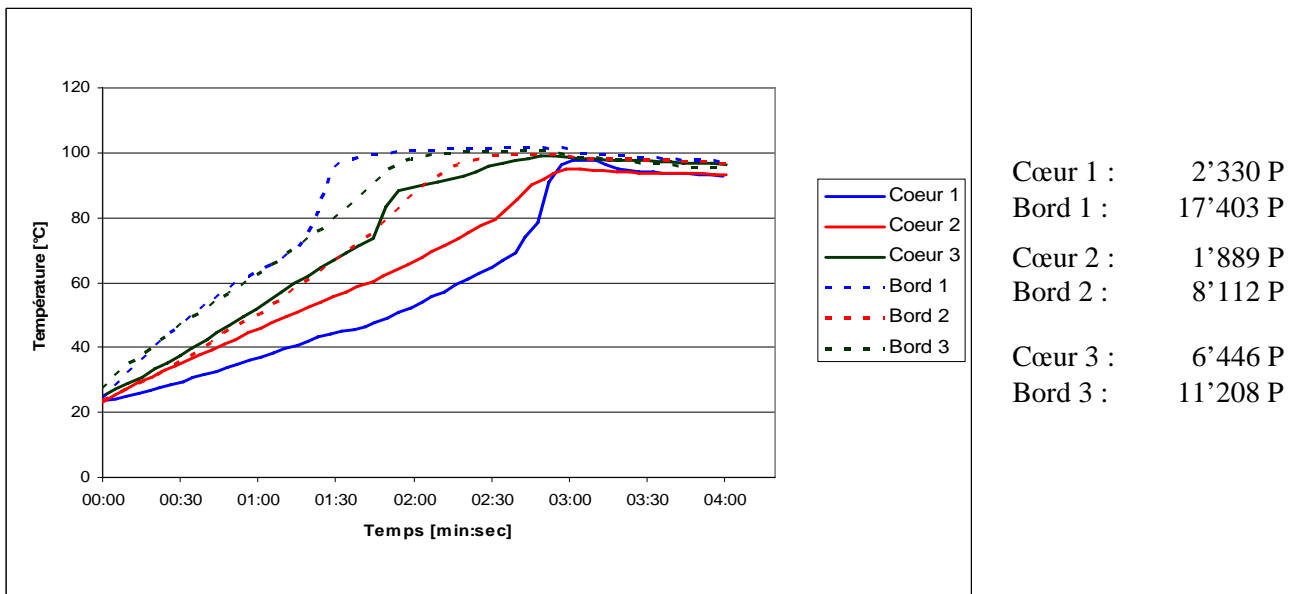


Figure 11 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **riz** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les courbes de températures montrent des essais très hétérogènes entre le bord et le cœur du produit, avec des valeurs pasteurisatrices très différentes.

De manière générale, ce traitement (1300 W pendant 3 min) stabilise la température aux alentours de 100 °C et elle se maintient pendant la minute de repos du plat.

Les spaghettis chauffent plus que le riz avec une moyenne des cœurs de 13'884 P entre les deux programme contre 3'389 P. Par contre la mauvaise répétabilité ne permet pas de différencier distinctement les deux programmes différents.

Afin d'augmenter la plage de détection des germes, l'ensemencement a été ajusté à 10^5 ufc/g, la détection minimale avec les dilutions prévues est abaissée à 10 ufc/g et des programmes plus courts ont été testés. Le nombre d'*Escherichia coli* inoculé dans la portion avant la cuisson ainsi que le nombre de germes détectés après les différents traitements au four à micro-ondes sont détaillés dans le tableau 2.

Pour chaque programme les courbes de température correspondantes sont exposées dans les figures 12, 13, 14, 15, 16, 17. Toutes les courbes de température de chaque essai sont détaillées en [Annexe 2]

Tableau 2 : Détection d'*Escherichia coli* dans des portions de spaghettis et de riz

Germe	Programme	Aliment	essais	Avant cuisson [ufc/g]	Au bords [ufc/g]	Au cœur [ufc/g]
<i>E. coli</i> Ensemencement estimé 10^5 [ufc/g]	2 min 650 W	Spaghettis	1	$3.1 \cdot 10^5$	$4.4 \cdot 10^2$	$2.4 \cdot 10^5$
			2	$2.4 \cdot 10^5$	$1.3 \cdot 10^2$	$2.5 \cdot 10^5$
			3	$2.2 \cdot 10^5$	$6.5 \cdot 10^2$	$2.3 \cdot 10^5$
		Riz	1	$4.9 \cdot 10^4$	<10	$1.2 \cdot 10^4$
			2	$2.8 \cdot 10^4$	10	$8.7 \cdot 10^3$
			3	$2.5 \cdot 10^4$	80	$1.1 \cdot 10^4$
	2 min 1300 W	Spaghettis	1	$1.9 \cdot 10^5$	<10	<10
			2	$1.8 \cdot 10^5$	<10	<10
			3	$2.2 \cdot 10^5$	<10	<10
		Riz	1	$1.8 \cdot 10^4$	<10	<10
			2	$8.5 \cdot 10^3$	<10	<10
			3	$2.2 \cdot 10^4$	<10	<10
	5 min 650 W	Riz	1	$1.2 \cdot 10^5$	<10	<10
			2	$6.8 \cdot 10^4$	<10	<10
			3	$3.6 \cdot 10^4$	<10	<10
	3 min 1300 W	Riz	1	$4.0 \cdot 10^4$	<10	<10
			2	$2.7 \cdot 10^4$	<10	<10
			3	$2.8 \cdot 10^4$	<10	<10

Le nombre de germes trouvés avant les traitements thermiques est légèrement plus bas que celui qui avait été prévu avant l'ensemencement des sauces. En effet, les essais ont entre $8.5 \cdot 10^3$ et $3.1 \cdot 10^5$ ufc/g.

Tous les traitements effectués avec une puissance de 1300 W lors de cette série d'essais réduisent les germes présents d'un facteur de 10^3 à 10^4 au minimum. Même constatation pour les essais à 650 W pendant 5 min.

Par contre pour les essais à 650 W pendant 2 min la diminution est bien moins élevée. Au bord, là où la température monte le plus vite, la diminution est d'un facteur de 10^3 . Au cœur, aucune réduction n'est remarquée. Ce traitement est donc insuffisant pour *Escherichia coli*.

- Programme 2 min à 650 W

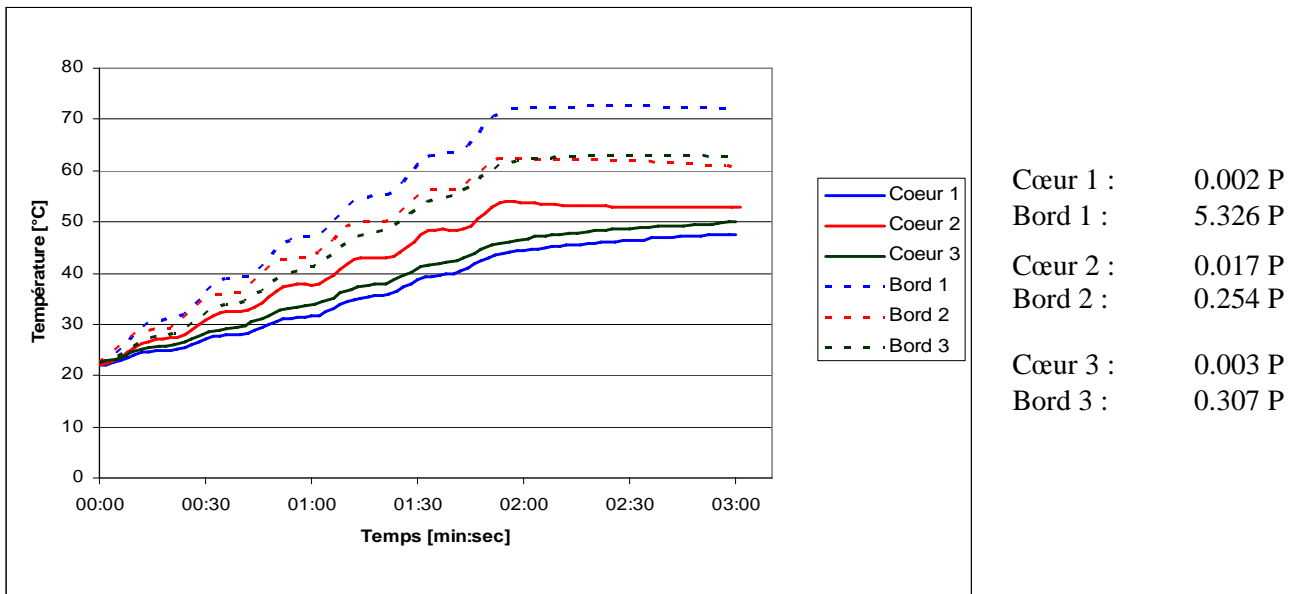


Figure 12 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 650 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

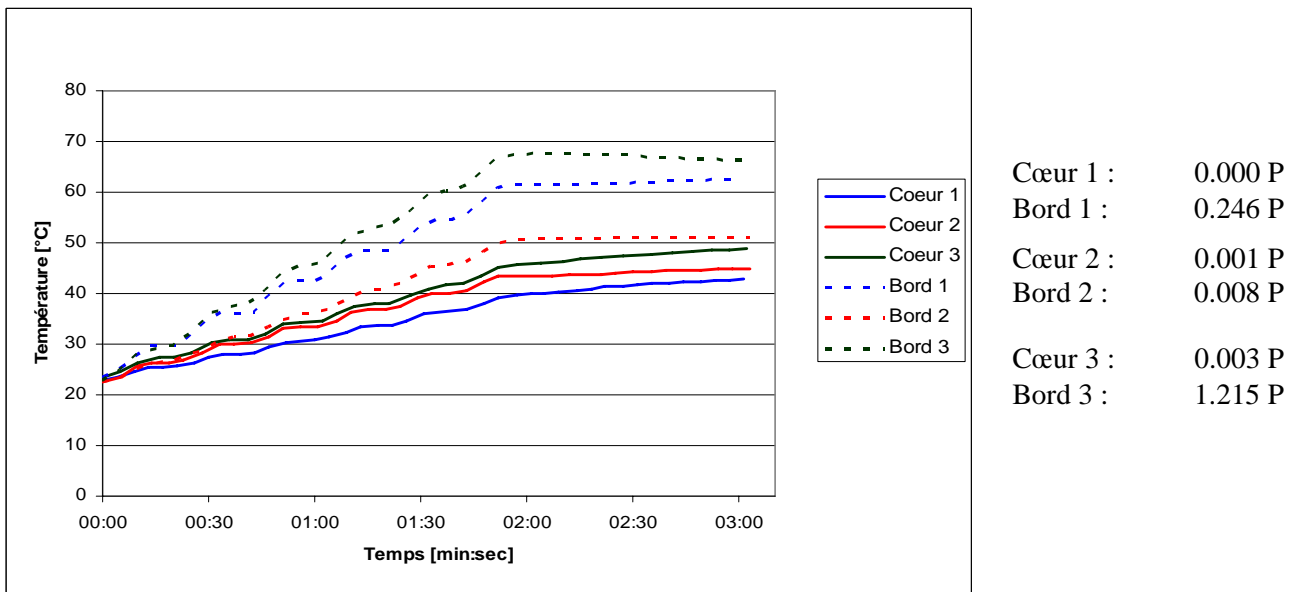
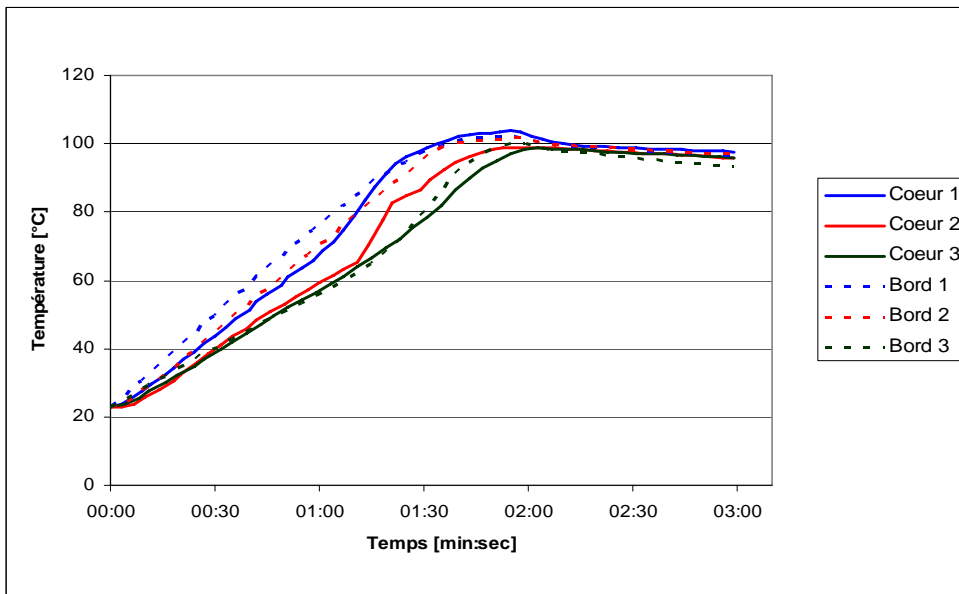


Figure 13 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

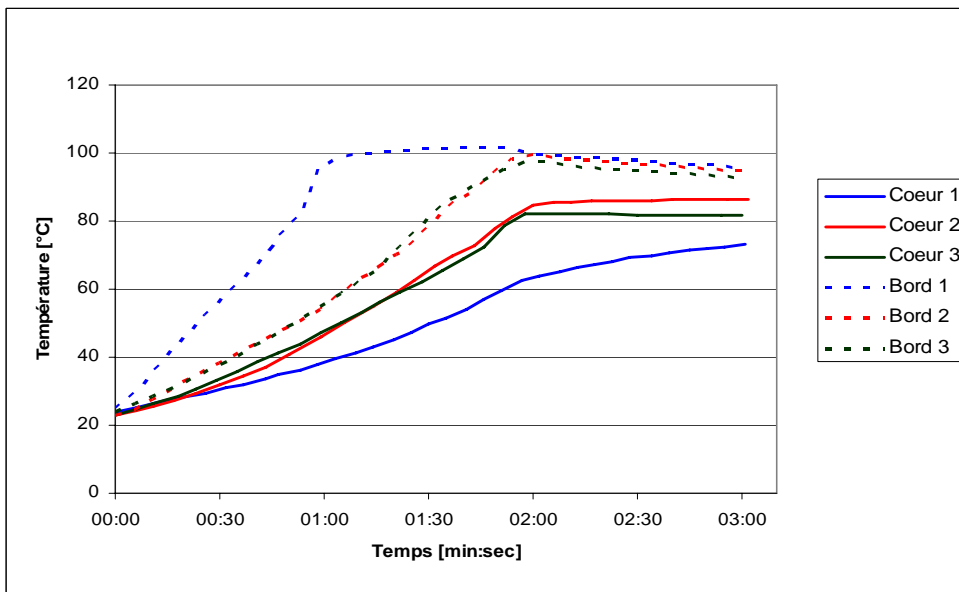
Les courbes de température du programme testé (2 min à 650 W) confirment les résultats microbiologiques trouvés. Le traitement a des valeurs pasteurisatrices nettement inférieures à 1 P avec des températures à cœur frôlant à peine les 50 °C. Les températures aux bords des portions sont toujours supérieures à celles des cœurs mais les résultats microbiologiques prouvent que les effets du traitement sont aussi insuffisants (entre 0.008 et 5 P).

- Programme 2 min à 1300 W



Cœur 1 :	12'308 P
Bord 1 :	9'955 P
Cœur 2 :	5'301 P
Bord 2 :	9'026 P
Cœur 3 :	4'344 P
Bord 3 :	4'329 P

Figure 14 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 1300 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



Cœur 1 :	2 P
Bord 1 :	12'213 P
Cœur 2 :	209 P
Bord 2 :	4'369 P
Cœur 3 :	71 P
Bord 3 :	2'698 P

Figure 15 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **riz** à 1300 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Malgré les deux minutes, la température atteint les 100 °C dans les spaghettis. Les essais sont homogènes avec des valeurs pasteurisatrices variant peu entre les bords et les cœurs.

Même comportement pour les températures prises au bord des portions de riz. Les températures à cœurs sont par contre bien inférieures en atteignant 80 °C avec des valeurs pasteurisatrices comprises entre 2 et 209 P.

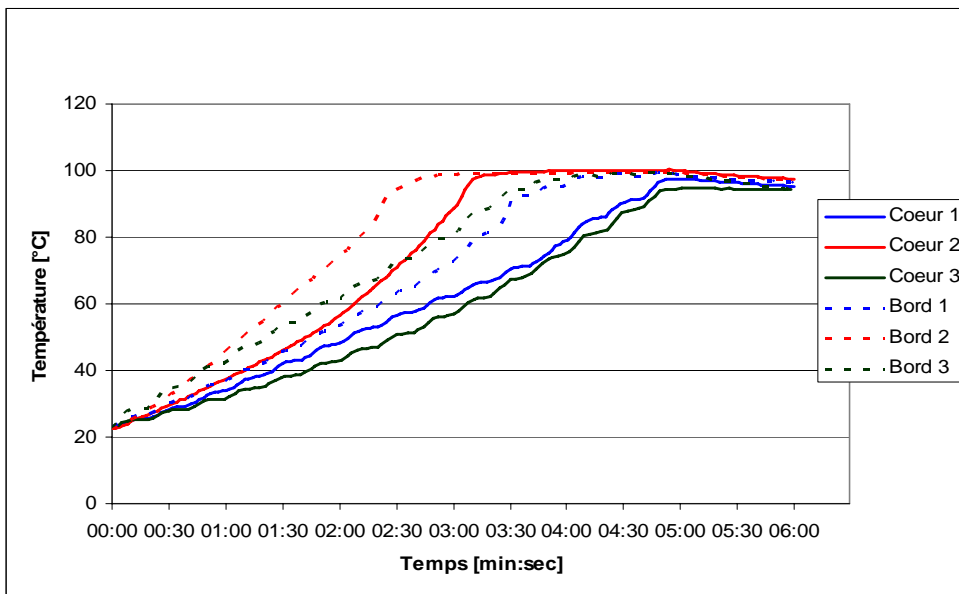


Figure 16 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de riz à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

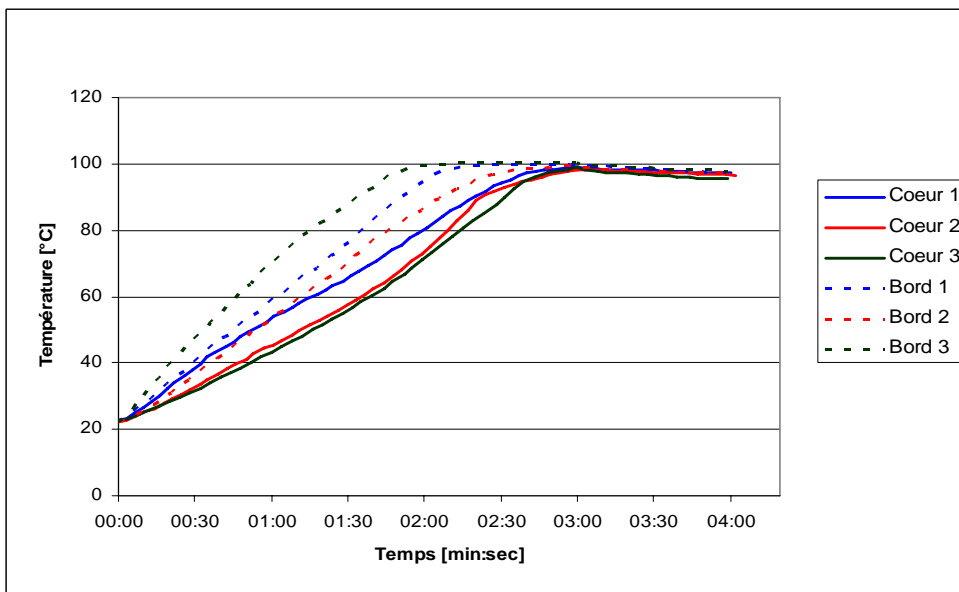


Figure 17 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de riz à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les programmes sont les mêmes que lors de la première série d'essai. Les comportements des courbes n'illustrent rien de plus que ceux décrits en pages 20 et 21. Les valeurs P sont suffisantes pour réduire les germes présents d'un facteur de 10^4 et il n'est pas possible de différencier l'effet des deux programmes (650 W pendant 5 min et 1300 W pendant 3 min).

3.4. Traitement au four à micro-ondes avec *Staphylococcus aureus*

Le nombre de *Staphylococcus aureus* inoculé dans la portion avant la cuisson ainsi que le nombre de germes détectés après les différents traitements au four à micro-ondes sont détaillés dans le tableau 3. L'ensemencement initial est estimé à 10^4 ufc/g et la détection minimale avec les dilutions prévues est de 10^2 ufc/g. Pour chaque programme les courbes de température correspondantes sont exposées dans les figures 18, 19, 20, 21. Toutes les courbes de température de chaque essai sont détaillées en [Annexe 3].

Tableau 3 : Détection de *Staphylococcus aureus* dans des portions de spaghetti et de riz

Germe	Programme	Aliment	essais	Avant cuisson [ufc/g]	Au bords [ufc/g]	Au cœur [ufc/g]
Ensemencement estimé 10^4 [ufc/g]	5 min 650 W	Spaghetti	1	$5.8 \cdot 10^4$	$1.2 \cdot 10^3$	$7.0 \cdot 10^2$
			2	$8.9 \cdot 10^4$	$3.2 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			3	$3.8 \cdot 10^4$	$2.2 \cdot 10^2$	$6.5 \cdot 10^2$
		Riz	1	$3.3 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			2	$3.9 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			3	$6.0 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$3.0 \cdot 10^2$
	3 min 1300 W	Spaghetti	1	$4.0 \cdot 10^4$	$1.5 \cdot 10^2$	$1.5 \cdot 10^2$
			2	$3.2 \cdot 10^4$	$1.5 \cdot 10^2$	$3.5 \cdot 10^2$
			3	$3.1 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$1.0 \cdot 10^2$
		Riz	1	$4.5 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$2.5 \cdot 10^2$
			2	$3.9 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$3.0 \cdot 10^2$
			3	$4.1 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$

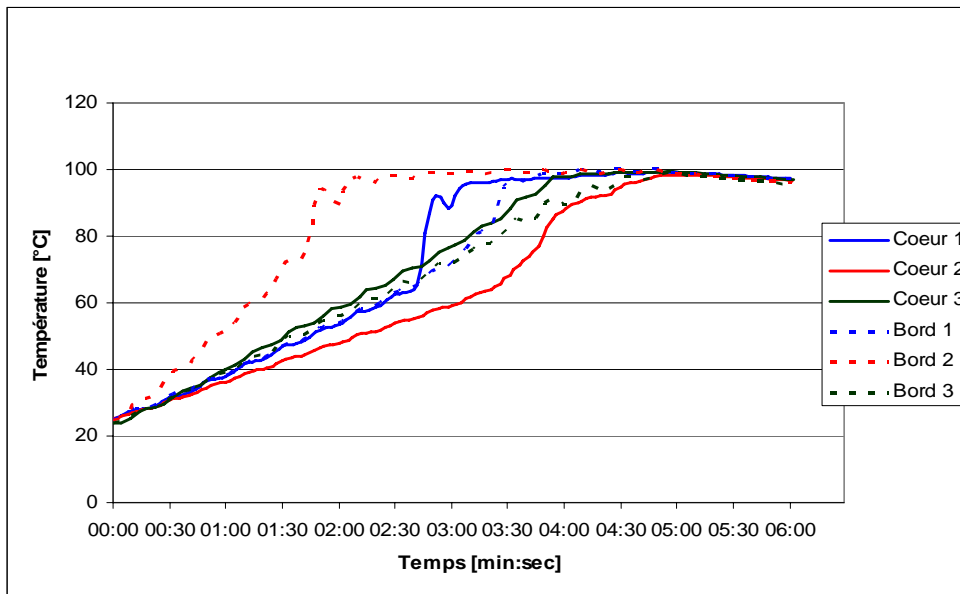
Le nombre de germes trouvés avant les traitements thermiques est conforme à ce qui avait été prévu avant l'ensemencement des sauces. En effet, tous les essais ont entre $3.1 \cdot 10^4$ et $8.9 \cdot 10^4$ ufc/g.

Les traitements effectués lors de cette série d'essais réduisent les germes présents d'un facteur d'environ 10^2 . Le traitement dans les spaghetti à moins d'effet sur *Staphylococcus aureus* que celui dans le riz. Au point de vue microbiologique il est impossible de différencier les deux programmes.

Le halo clair observé autour des colonies de *S. aureus* pour les échantillons avant cuisson sur le milieu BPA est caractéristique de la réaction enzymatique de la lécithinase. En effet, certaines souches de *S. aureus* possèdent cet enzyme qui dégrade la lécithine du jaune d'oeuf présent dans le milieu sélectif BPA.

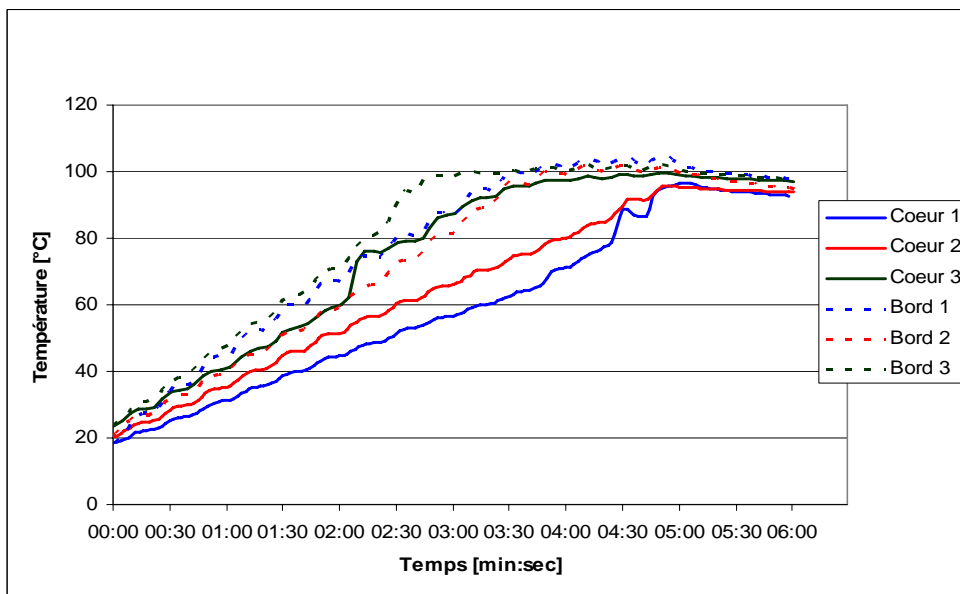
Après la cuisson, ce halo n'était plus observable autour des colonies dénombrées sur les plaques des deux traitements. Cinq de ces colonies ont ensuite été repiquées sur un milieu BPA frais afin d'investiguer si les bactéries étaient capables de régénérer cette activité enzymatique. Après incubation, le halo clair n'était également plus visible, ce qui indique que le traitement thermique induit par le four à micro-ondes inactive l'activité enzymatique de la lécithinase pour cette souche de *S. aureus*.

- Programme 5 min à 650 W



Cœur 1 :	12'597 P
Bord 1 :	13'168 P
Cœur 2 :	6'157 P
Bord 2 :	19'872 P
Cœur 3 :	10'870 P
Bord 3 :	6'682 P

Figure 18 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



Cœur 1 :	2'294 P
Bord 1 :	26'202 P
Cœur 2 :	2'560 P
Bord 2 :	14'635 P
Cœur 3 :	11'169 P
Bord 3 :	23'644 P

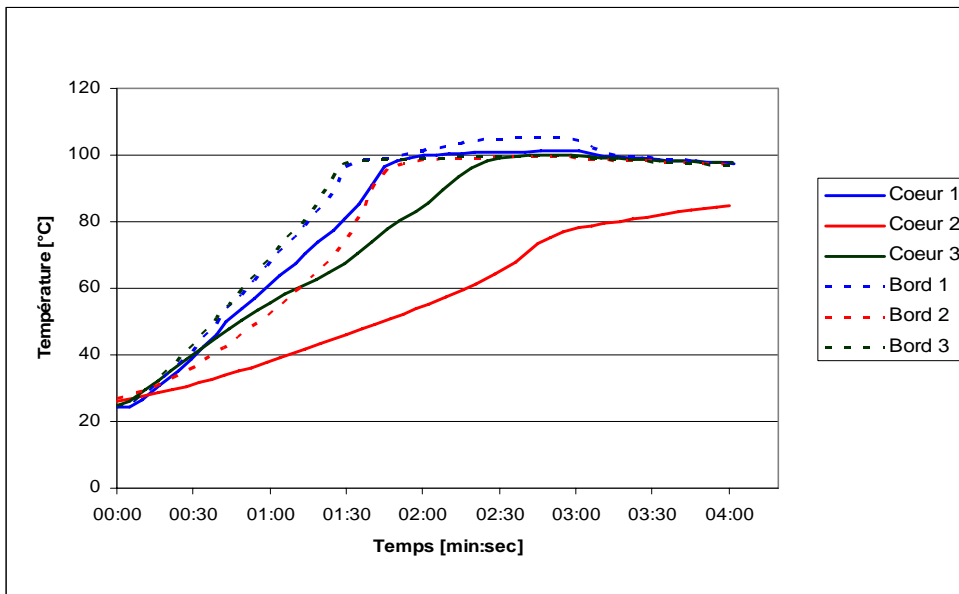
Figure 19 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les courbes de température montrent encore des essais très hétérogènes entre le bord et le cœur des portions avec des valeurs pasteurisatrices très différentes.

Les valeurs obtenues dans les spaghettis sont plus proches comme le montre les essais 1 et 3. Seul l'essai 2 a des valeurs P entre le cœur et le bord plus éloignée avec un effet 3 fois supérieur dans le bord. Un chauffage brusque dans le cœur de l'essai 2 des spaghettis conduit à un effet de pasteurisation plus élevé dans le cœur que dans le bord.

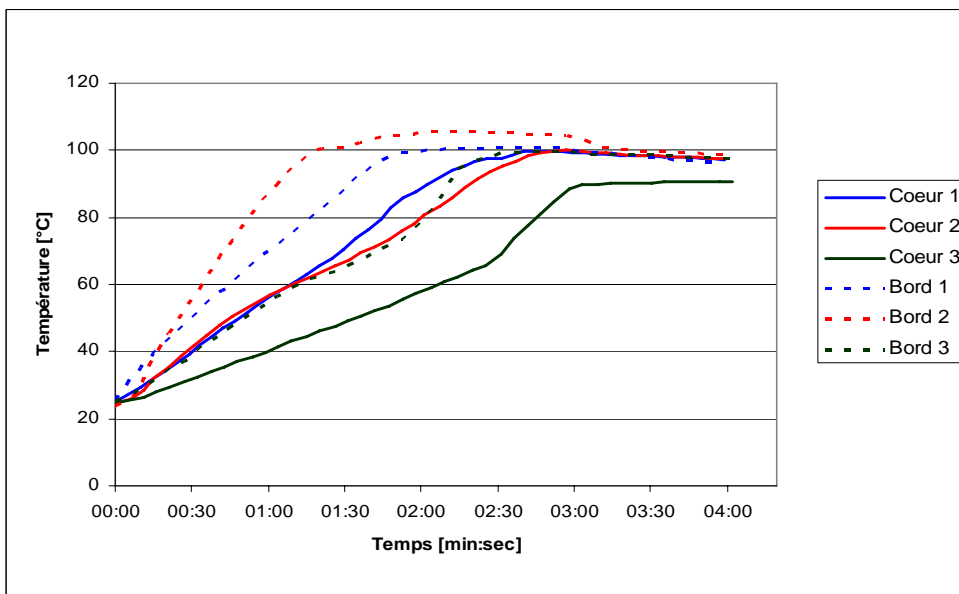
De manière générale, ce traitement (650 W pendant 5 min) stabilise la température aux alentours de 100 °C et elle se maintient pendant la minute de repos.

- Programme 3 min à 1300 W



Cœur 1 :	15'454 P
Bord 1 :	30'518 P
Cœur 2 :	71 P
Bord 2 :	11'284 P
Cœur 3 :	9'415 P
Bord 3 :	13'540 P

Figure 20 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



Cœur 1 :	8'483 P
Bord 1 :	14'260 P
Cœur 2 :	7'391 P
Bord 2 :	43'179 P
Cœur 3 :	674 P
Bord 3 :	9'032 P

Figure 21 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **riz** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les courbes de température montrent encore des essais très hétérogènes entre le bord et le cœur d'un produit avec des valeurs pasteurisatrices très différentes.

De manière générale, ce traitement (1300 W pendant 3 min) stabilise la température à une température proche de 100 °C et la température se maintient pendant la minute de repos du plat. Seules deux températures à cœur (essai 2 dans les spaghettis et essai 3 dans le riz) atteignent des températures plus basses que pour les autres essais (90 °C).

La mauvaise répétabilité ne permet pas de différencier distinctement les deux programmes ni, contrairement à ce qu'il a été remarqué avec les essais microbiologiques, de différencier les traitements entre les spaghettis et le riz.

Afin d'augmenter la plage de détection des germes, l'ensemencement a été ajusté à 10^5 ufc/g, et des programmes plus courts ont été testés. La détection minimale est toujours à 10^2 ufc/g car la méthode de détection en surface ne permet pas d'être plus sensible. Le nombre de *Staphylococcus aureus* inoculé dans la portion avant la cuisson ainsi que le nombre de germes détectés après les différents traitements au four à micro-ondes sont détaillés dans le tableau 4.

Pour chaque programme les courbes de température correspondantes sont exposées dans les figures 22, 23, 24, 25, 26, 27. Toutes les courbes de température de chaque essai sont détaillées en [Annexe 3]

Tableau 4 : Détection de *Staphylococcus aureus* dans des portions de spaghettis et de riz

Germe	Programme	Aliment	essais	Avant cuisson [ufc/g]	Au bords [ufc/g]	Au cœur [ufc/g]
<i>S. aureus</i> Ensemencement estimé 10^5 [ufc/g]	2 min 650 W	Spaghettis	1	$6.9 \cdot 10^5$	$1.1 \cdot 10^3$	$3.1 \cdot 10^5$
			2	$4.4 \cdot 10^5$	$8.5 \cdot 10^3$	$2.1 \cdot 10^5$
			3	$6.8 \cdot 10^5$	$1.7 \cdot 10^3$	$3.5 \cdot 10^5$
		Riz	1	$1.5 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$> 3.0 \cdot 10^4$
			2	$1.6 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$> 3.0 \cdot 10^4$
			3	$1.5 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$> 3.0 \cdot 10^4$
	2 min 1300 W	Spaghettis	1	$5.7 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
			2	$5.6 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
			3	$7.9 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
		Riz	1	$1.4 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
			2	$1.4 \cdot 10^5$	$1.5 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
			3	$1.3 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
	5 min 650 W	Riz	1	$8.8 \cdot 10^5$	$1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
			2	$8.7 \cdot 10^4$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
			3	$2.0 \cdot 10^5$	$1.5 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
	3 min 1300 W	Riz	1	$1.3 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
			2	$1.9 \cdot 10^5$	$5.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$
			3	$1.6 \cdot 10^5$	$< 1.0 \cdot 10^2$	$< 1.0 \cdot 10^2$

Le nombre de germes trouvés avant les traitements thermiques est conforme à ce qui avait été prévu avant l'ensemencement des sauces. En effet, les essais ont entre $1.3 \cdot 10^5$ et $7.9 \cdot 10^5$ ufc/g.

Tous les traitements effectués avec une puissance de 1300 W lors de cette série d'essais réduisent les germes présents d'un facteur de 10^3 au minimum. Même constatation pour les essais à 650 W pendant 5 min.

Par contre pour les essais à 650 W pendant 2 min, la diminution est bien moins élevée. Au bord, là où la température monte le plus vite, la diminution est d'un facteur de 10^2 . Au cœur, aucune réduction de germes n'est remarquée. Ce traitement est donc insuffisant pour *Staphylococcus aureus*.

Les colonies présentes dans le riz dans les programmes à 1300 W et 5 min à 650 W ne possédaient pas non plus le halo clair après la cuisson. Pour le programme 2 min à 650 W dans les bords des spaghettis, quelques colonies possédaient encore le halo, la proportion de diminution était d'environ 50 %. Par contre toutes les colonies des cœurs possédaient le halo que ce soit dans les spaghettis ou dans le riz.

- Programme 2 min à 650 W

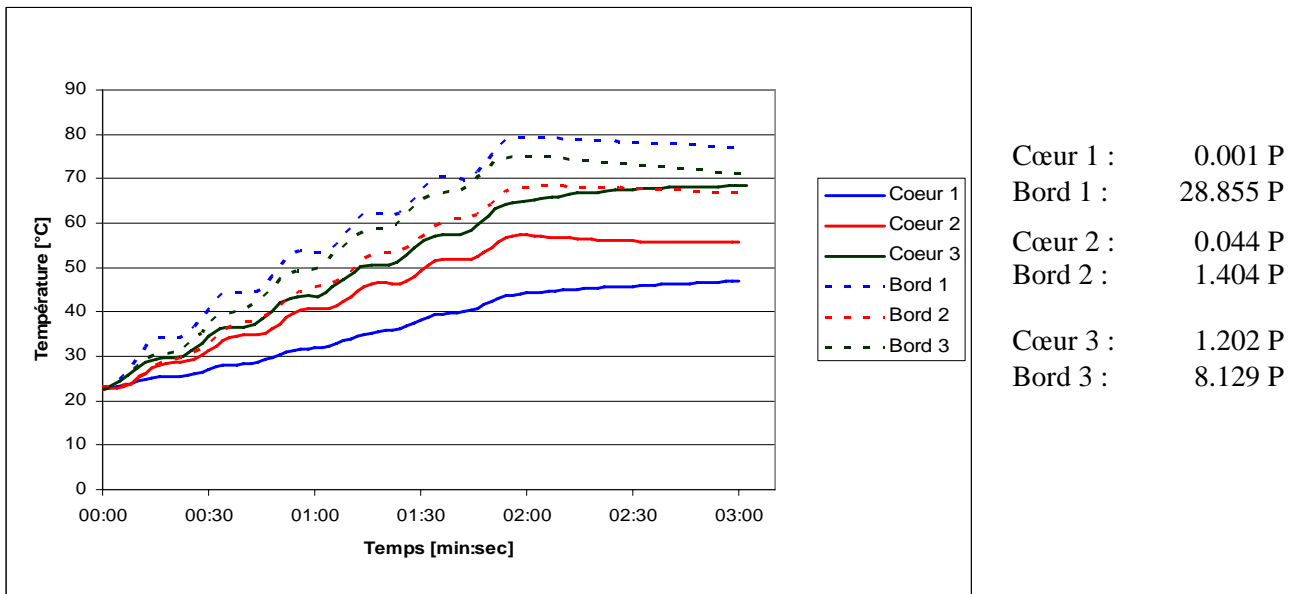


Figure 22 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 650 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

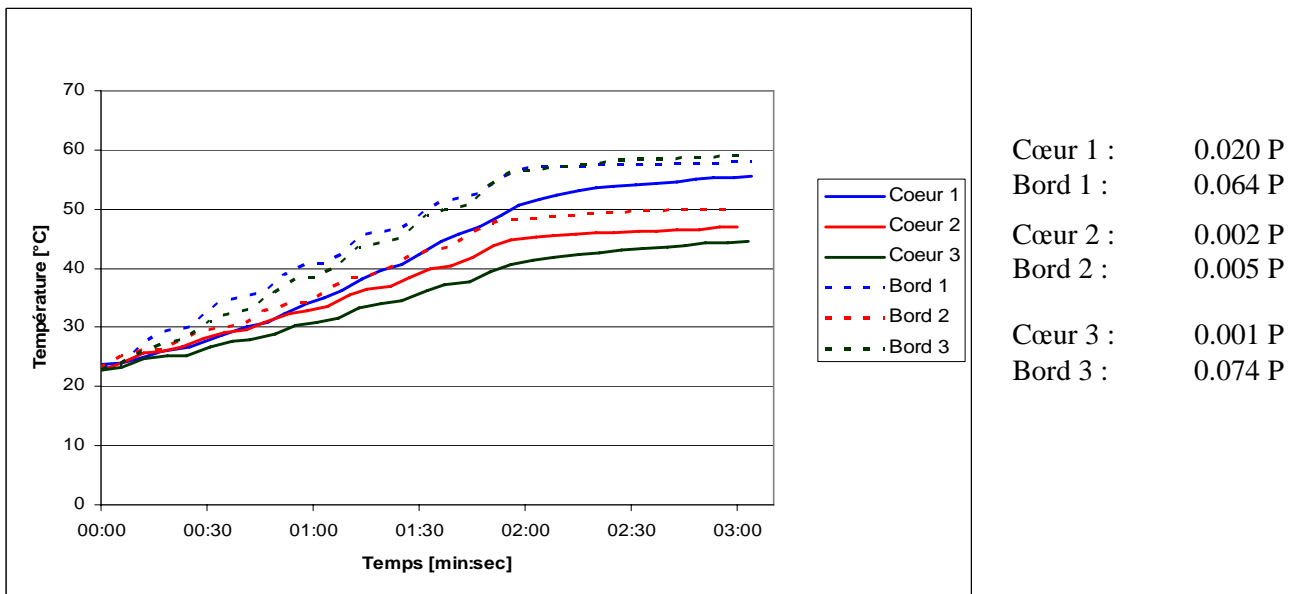


Figure 23 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les courbes de température du programme testé (2 min à 650 W) confirment les résultats microbiologiques trouvés. Le traitement a des valeurs pasteurisatrices nettement inférieures à 1 P. Les températures aux bords des portions sont toujours supérieures à celles des cœurs mais leurs effets sont aussi insuffisants.

- Programme 2 min à 1300 W

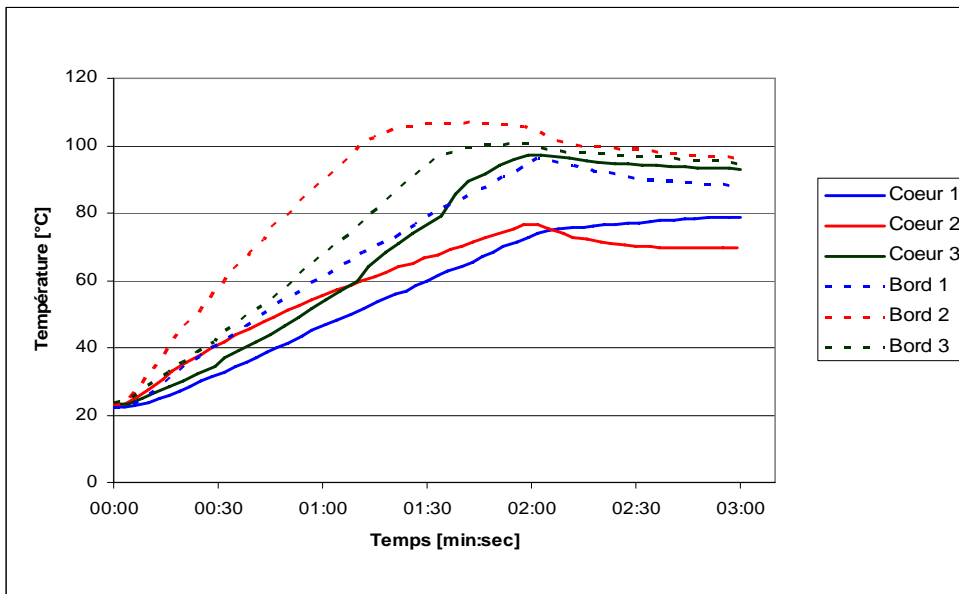


Figure 24 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 1300 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

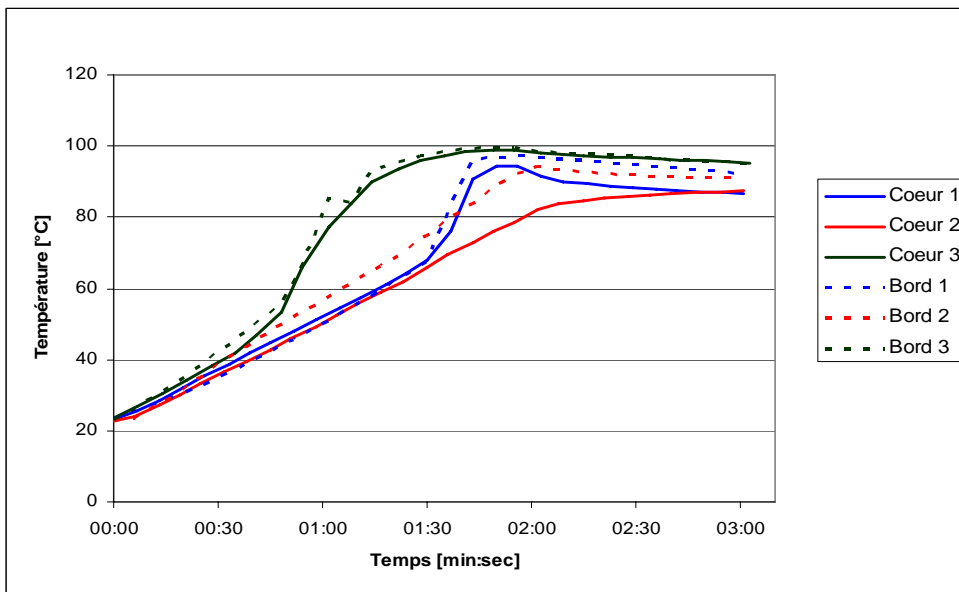
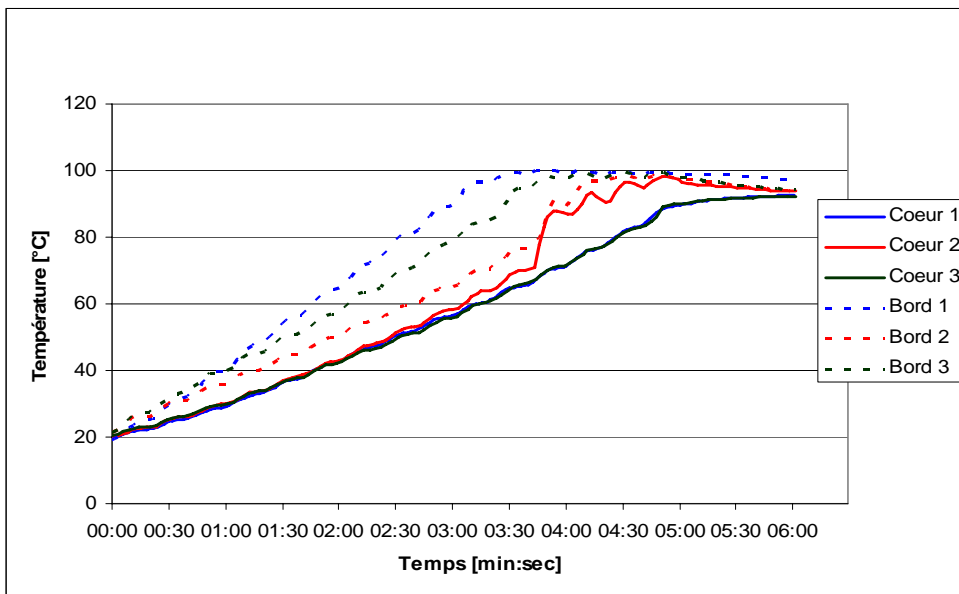


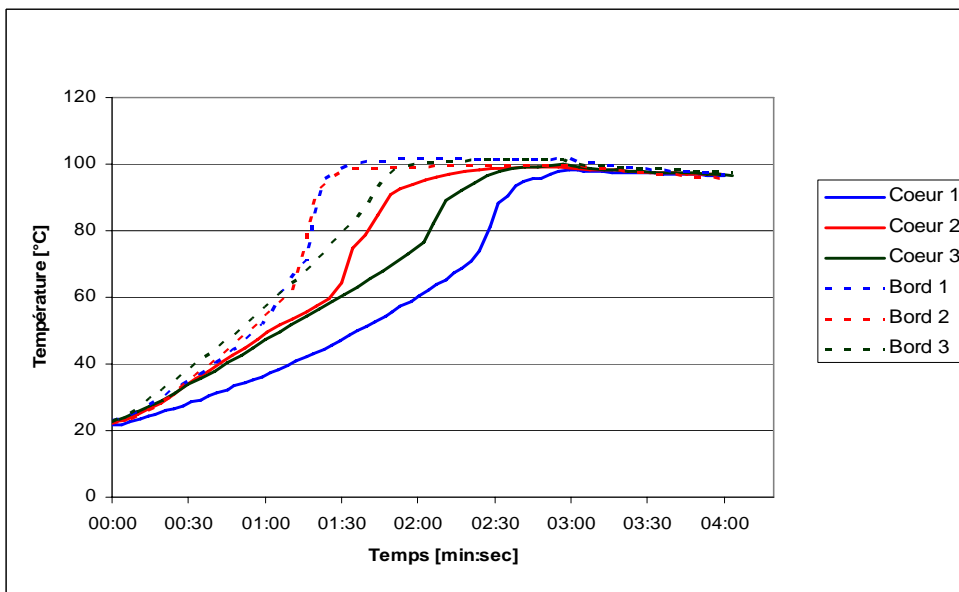
Figure 25 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **riz** à 1300 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Malgré les deux minutes, la température des essais dans les bords atteint les 100 °C environ. Les températures à cœurs sont par contre bien inférieures à part pour l'essai 3 du riz qui a des effets dans le bord et le cœur homogène. Les résultats microbiologiques montrent que ce traitement est autant efficace que les traitements plus conséquents (5 min à 650 W et 3 min à 1300 W) malgré les grandes différences des valeurs pasteurisatrices.



Cœur 1 :	977 P
Bord 1 :	15'113 P
Cœur 2 :	4'127 P
Bord 2 :	6'141 P
Cœur 3 :	966 P
Bord 3 :	9'041 P

Figure 26 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de riz à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



Cœur 1 :	4'713 P
Bord 1 :	20'009 P
Cœur 2 :	8'559 P
Bord 2 :	12'843 P
Cœur 3 :	7'532 P
Bord 3 :	15'541 P

Figure 27 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de riz à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les programmes sont les mêmes que lors de la première série d'essai des *Staphylococcus aureus*. Les comportements des courbes n'illustrent rien de plus que ceux décrits en pages 27 et 28. Les valeurs pasteurisatrices sont suffisantes pour réduire d'un facteur de 10^3 les germes présents. Il n'est pas possible de différencier l'effet des deux programmes (650 W pendant 5 min et 1300 W pendant 3 min).

3.5. Traitement au four à micro-ondes avec spores de *Bacillus*

3.5.1. Spores de *Bacillus atrophaeus*

Le nombre de Spores de *Bacillus atrophaeus* inoculé dans la portion avant la cuisson ainsi que le nombre de spores détectés après les différents traitements au four à micro-ondes sont détaillés dans le tableau 5. L'ensemencement initial est estimé à 10^4 ufc/g et la détection minimale avec les dilutions prévue est de 10^2 ufc/g. Pour chaque programme les courbes de température correspondantes sont exposées dans les figures 28, 29, 30, 31. Toutes les courbes de température de chaque essai sont détaillées en [Annexe 4].

Tableau 5 : Détection de Spores de *Bacillus atrophaeus* dans des portions de spaghettis et de riz

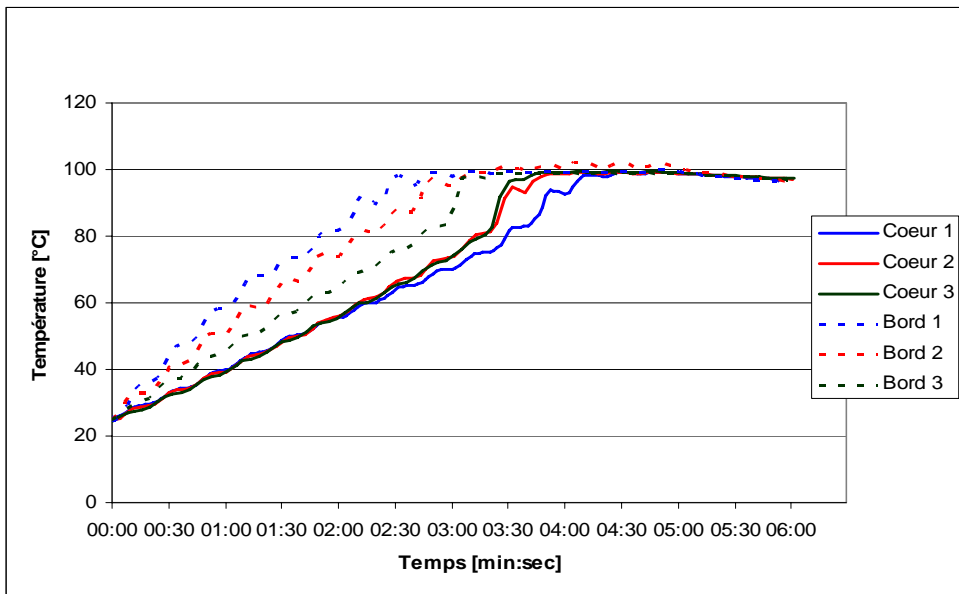
Germe	Programme	Aliment	essais	Avant cuisson [ufc/g]	Au bords [ufc/g]	Au cœur [ufc/g]
Spores de <i>B. atrophaeus</i> Ensemencement estimé 10^4 [ufc/g]	5 min 650 W	Spaghettis	1	$1.9 \cdot 10^4$	$1.3 \cdot 10^3$	$7.2 \cdot 10^2$
			2	$1.2 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$1.5 \cdot 10^3$
			3	$2.0 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
		Riz	1	$1.2 \cdot 10^5$	$3.1 \cdot 10^4$	$8.1 \cdot 10^3$
			2	$3.4 \cdot 10^4$	$1.0 \cdot 10^2$	$2.6 \cdot 10^3$
			3	$3.0 \cdot 10^4$	$1.2 \cdot 10^3$	$<1.0 \cdot 10^2$
	3 min 1300 W	Spaghettis	1	$1.4 \cdot 10^4$	$1.5 \cdot 10^2$	$1.2 \cdot 10^2$
			2	$1.8 \cdot 10^4$	$3.6 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
			3	$2.2 \cdot 10^4$	$1.4 \cdot 10^2$	$<1.0 \cdot 10^2$
Riz		1	$4.1 \cdot 10^4$	$2.5 \cdot 10^2$	$1.8 \cdot 10^3$	
		2	$2.9 \cdot 10^4$	$<1.0 \cdot 10^2$	$5.5 \cdot 10^2$	
		3	$3.2 \cdot 10^4$	$2.5 \cdot 10^2$	$1.5 \cdot 10^2$	

Le nombre de spores trouvé avant les traitements thermiques est conforme à ce qui avait été prévu avant l'ensemencement des sauces. En effet, tous les essais ont entre $1.2 \cdot 10^4$ et $4.1 \cdot 10^4$ ufc/g.

Pour le traitement 5 min à 650 W, les spores présents sont réduits d'un facteur d'environ 10^2 dans les bords, avec quelques exceptions (essais 1 dans les spaghettis et le riz) où la réduction constatée n'est que d'un facteur de 10. Au cœur la réduction est moins prononcée mais reste d'un facteur entre 10 et 10^2 .

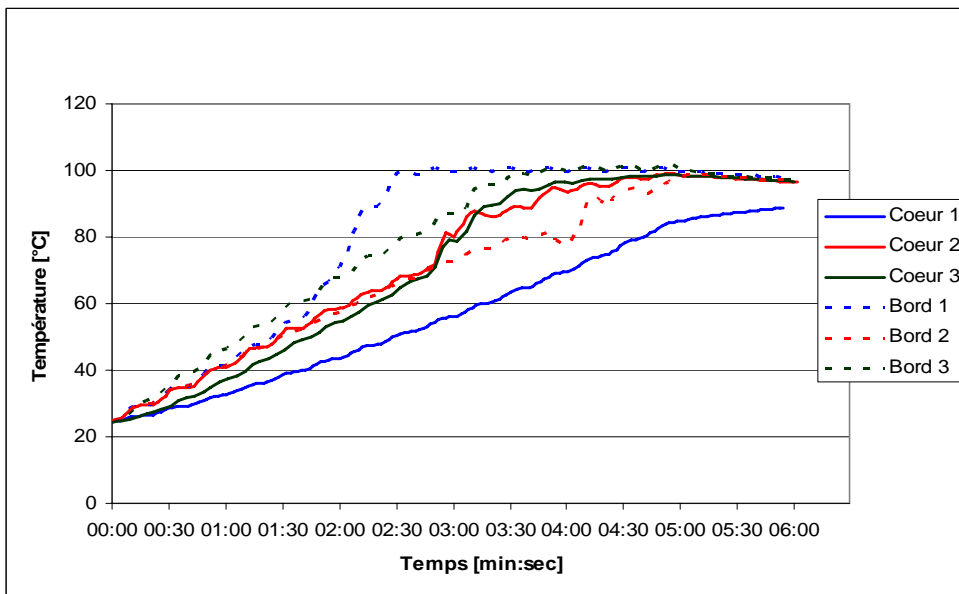
Pour le traitement 3 min à 1300 W, les spores présentes sont réduites d'environ 10^2 ufc/g.

- Programme 5 min à 650 W



Cœur 1 :	8'892 P
Bord 1 :	18'031 P
Cœur 2 :	11'513 P
Bord 2 :	22'029 P
Cœur 3 :	12'602 P
Bord 3 :	13'947 P

Figure 28 : Détection des spores de *B. atrophaeus*, chauffage d'une portion de **spaghetti** à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



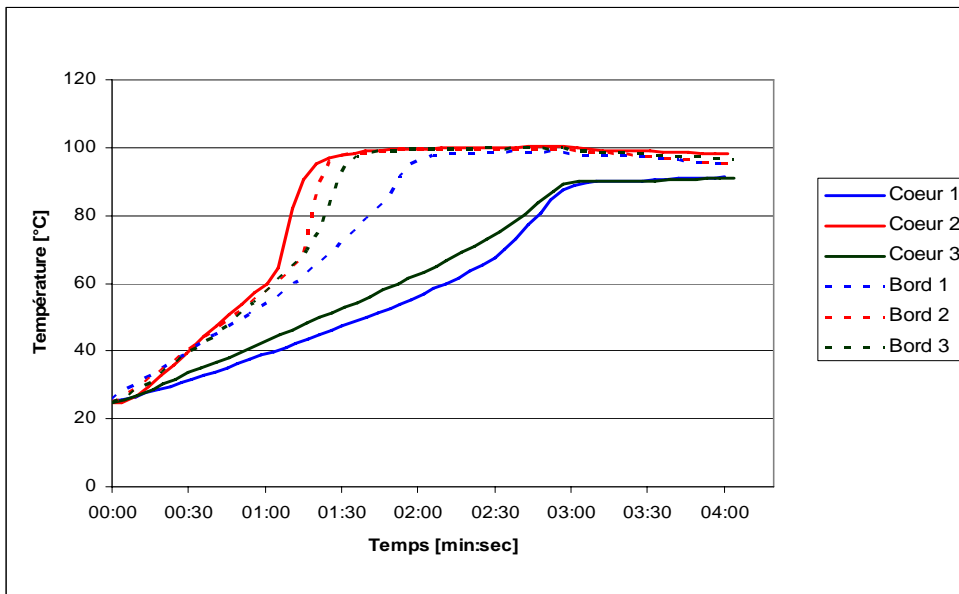
Cœur 1 :	278 P
Bord 1 :	23'050 P
Cœur 2 :	7'871 P
Bord 2 :	5'645 P
Cœur 3 :	9'112 P
Bord 3 :	17'549 P

Figure 29 : Détection des spores de *B. atrophaeus*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les courbes de température montrent des essais très hétérogènes entre le bord et le cœur des portions, avec des valeurs pasteurisatrices très différentes.

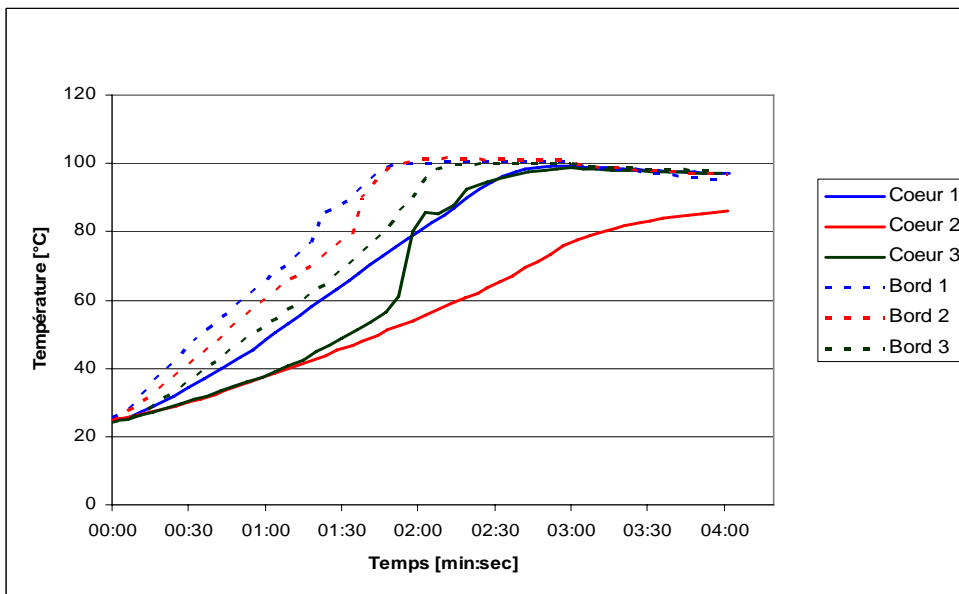
De manière générale, ce traitement (650 W pendant 5 min) stabilise la température aux alentours de 100 °C et elle se maintient pendant la minute de repos. Seul l'essai 1 dans le riz a une température à cœur moins élevée qui atteint et se stabilise à 90 °C.

• Programme 3 min à 1300 W



Cœur 1 :	659 P
Bord 1 :	8'323 P
Cœur 2 :	15'761 P
Bord 2 :	12'788 P
Cœur 3 :	730 P
Bord 3 :	13'411 P

Figure 30 : Détection des spores de *B .atrophaeus*, chauffage d'une portion de spaghetti à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



Cœur 1 :	7000 P
Bord 1 :	13'119 P
Cœur 2 :	98 P
Bord 2 :	15'368 P
Cœur 3 :	6'167 P
Bord 3 :	11'053 P

Figure 31 : Détection des spores de *B .atrophaeus*, chauffage d'une portion de riz à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les courbes de températures montrent des essais très hétérogènes entre le bord et le cœur des portions, avec des valeurs pasteurisatrices très différentes.

De manière générale, ce traitement (1300 W pendant 3 min) stabilise la température au bord des portions à une température proche de 100 °C. Dans les cœurs, les températures se stabilisent entre 90 °C et 100 °C.

La mauvaise répétabilité ne permet pas, contrairement à ce qu'il a été remarqué avec les essais microbiologiques, de différencier les deux programmes ni de différencier les traitements entre les spaghetti et le riz.

3.5.2. Spores de *Bacillus cereus*

Le nombre de Spores de *Bacillus cereus* inoculé dans la portion avant la cuisson ainsi que le nombre de spores détecté après les différents traitements au four à micro-ondes sont détaillés dans le tableau 6. L'ensemencement initial est estimé à 10^5 ufc/g et la détection minimale avec les dilutions prévue est de 10^2 ufc/g. Pour chaque programme les courbes de température correspondantes sont exposées dans les figures 32, 33, 34, 35, 36, 37. Toutes les courbes de température de chaque essai sont détaillées en [Annexe 4].

Tableau 6 : Détection de Spores de *Bacillus cereus* dans des portions de spaghettis et de riz

Germe	Programme	Aliment	essais	Avant cuisson [ufc/g]	Au bords [ufc/g]	Au cœur [ufc/g]
Spores de <i>B.cereus</i> Ensemencement estimé 10^5 [ufc/g]	2 min 650 W	Spaghettis	1	$2.8 \cdot 10^5$	$8.9 \cdot 10^4$	$2.2 \cdot 10^5$
			2	$3.0 \cdot 10^5$	$1.5 \cdot 10^5$	$2.0 \cdot 10^5$
			3	$2.6 \cdot 10^5$	$1.2 \cdot 10^5$	$1.8 \cdot 10^5$
		Riz	1	$2.3 \cdot 10^5$	$6.4 \cdot 10^5$	$2.1 \cdot 10^5$
			2	$2.0 \cdot 10^5$	$1.9 \cdot 10^5$	$1.6 \cdot 10^5$
			3	$5.1 \cdot 10^5$	$1.3 \cdot 10^5$	$2.1 \cdot 10^5$
	2 min 1300 W	Spaghettis	1	$2.4 \cdot 10^5$	$2.7 \cdot 10^4$	$8.8 \cdot 10^4$
			2	$2.4 \cdot 10^5$	$1.1 \cdot 10^4$	$1.1 \cdot 10^5$
			3	$2.1 \cdot 10^5$	$1.4 \cdot 10^4$	$1.1 \cdot 10^5$
		Riz	1	$2.2 \cdot 10^5$	$1.5 \cdot 10^4$	$1.4 \cdot 10^5$
			2	$1.4 \cdot 10^5$	$7.5 \cdot 10^4$	$7.5 \cdot 10^4$
			3	$1.0 \cdot 10^5$	$7.0 \cdot 10^4$	$1.8 \cdot 10^5$
	5 min 650 W	Riz	1	$1.8 \cdot 10^5$	$7.0 \cdot 10^4$	$2.0 \cdot 10^5$
			2	$1.4 \cdot 10^5$	$5.0 \cdot 10^4$	$1.2 \cdot 10^5$
			3	$1.6 \cdot 10^5$	$6.0 \cdot 10^4$	$9.0 \cdot 10^4$
	3 min 1300 W	Riz	1	$1.6 \cdot 10^5$	$5.0 \cdot 10^4$	$4.0 \cdot 10^4$
			2	$2.8 \cdot 10^5$	$5.0 \cdot 10^4$	$3.0 \cdot 10^4$
			3	$1.4 \cdot 10^5$	$9.0 \cdot 10^4$	$4.0 \cdot 10^4$

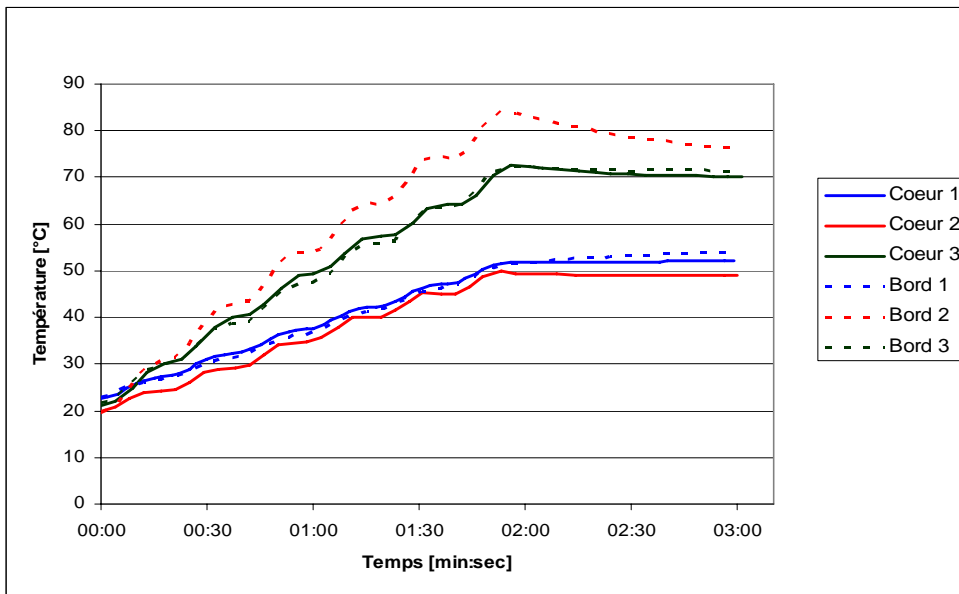
Le nombre de spores trouvé avant les traitements thermiques est conforme à ce qui avait été prévu avant l'ensemencement des sauces. En effet, tous les essais ont entre $1.0 \cdot 10^5$ et $5.1 \cdot 10^5$ ufc/g.

Avec le programme 2 min à 650 W aucune réduction de spores de *Bacillus cereus* n'est constaté.

Avec les programmes 2 min à 1300 W et 5 min à 650 W, les spores de *Bacillus cereus* sont réduits d'un facteur entre 2 et 10 dans les bords mais aucune réduction n'est constatée dans les cœurs des portions.

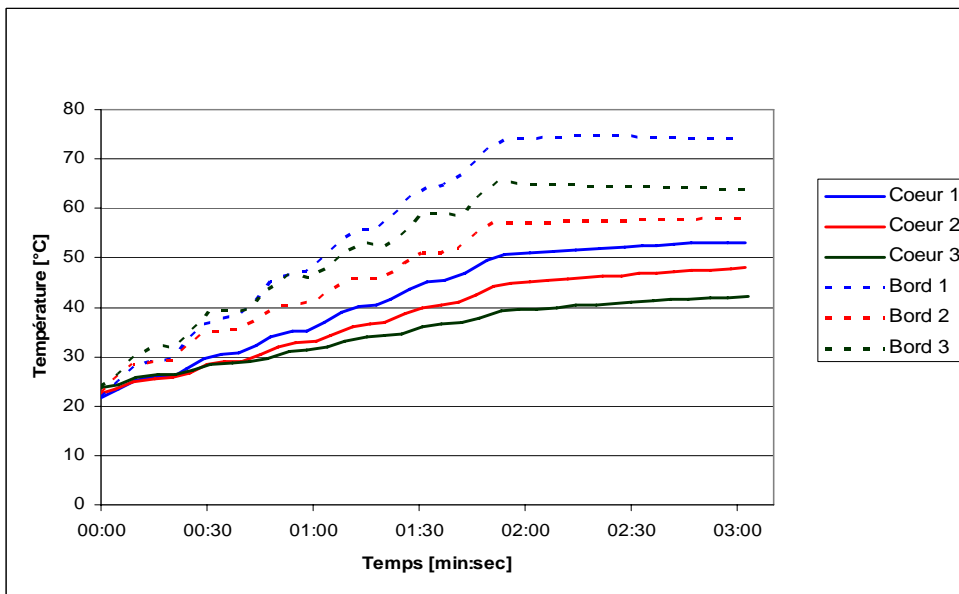
Avec le programme 3 min à 1300 W, la diminution dans le cœur et les bords est d'un facteur d'environ 2.

- Programme 2 min à 650 W



Cœur 1 :	0.011 P
Bord 1 :	0.015 P
Cœur 2 :	0.005 P
Bord 2 :	55.767 P
Cœur 3 :	3.849 P
Bord 3 :	4.637 P

Figure 32 : Détection des spores de *B. cereus*, chauffage d'une portion de spaghetti à 650 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

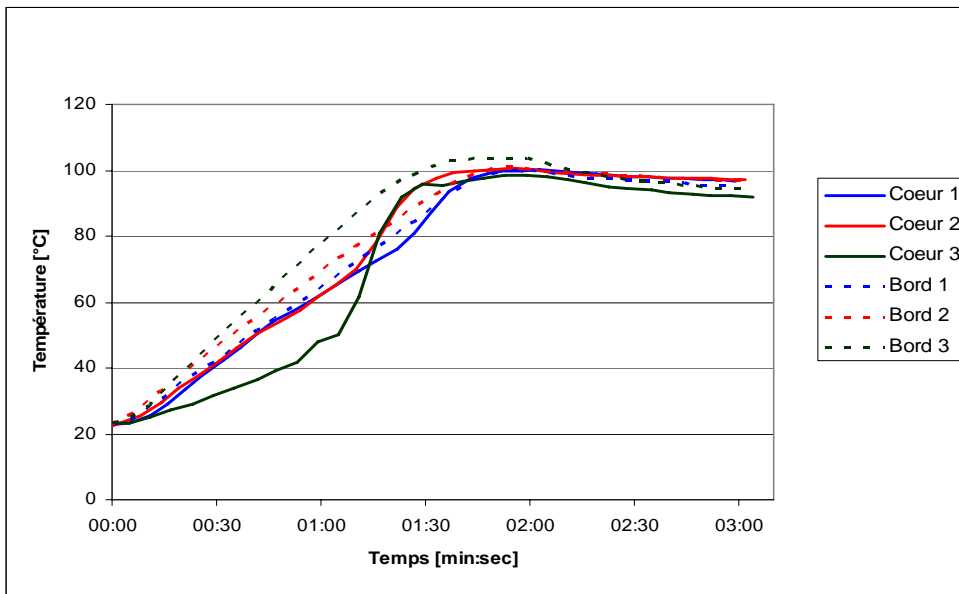


Cœur 1 :	0.012 P
Bord 1 :	9.552 P
Cœur 2 :	0.002 P
Bord 2 :	0.067 P
Cœur 3 :	0.000 P
Bord 3 :	0.589 P

Figure 33 : Détection des spores de *B. cereus*, chauffage d'une portion de riz à 650 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

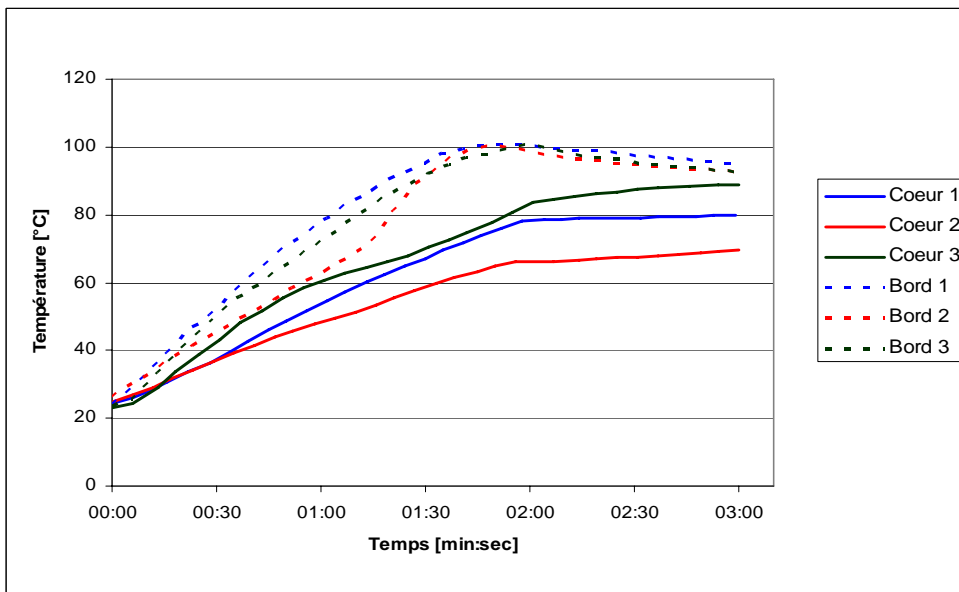
Ce traitement faible n'affecte pas les spores de *Bacillus cereus*. Même dans les bords de l'essai 2 des spaghetti où la valeur pasteurisatrice est à 55 P le traitement ne réduit pas les spores.

- Programme 2 min à 1300 W



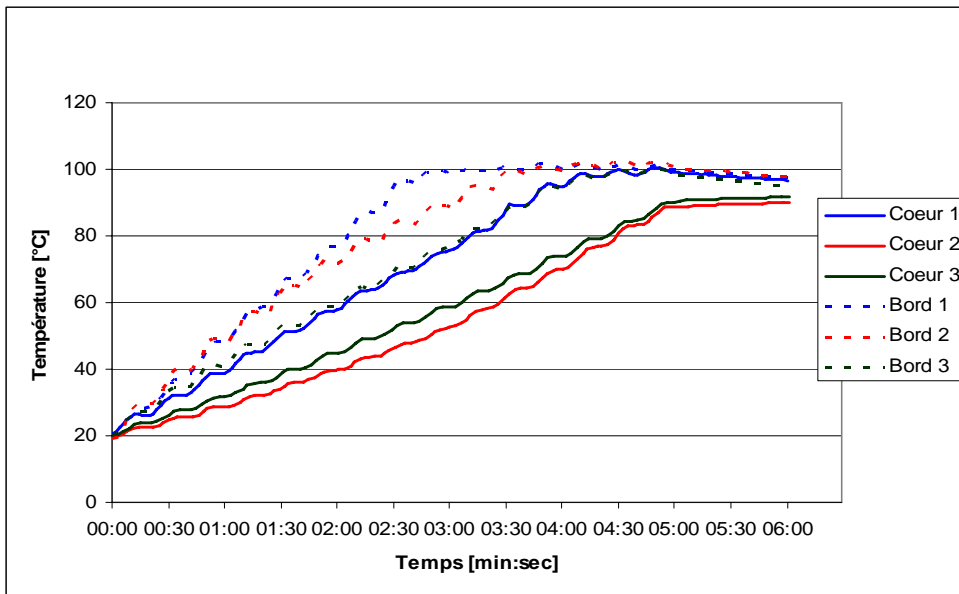
Cœur 1 :	6'560 P
Bord 1 :	5'449 P
Cœur 2 :	7'979 P
Bord 2 :	7'585 P
Cœur 3 :	4'130 P
Bord 3 :	13'317 P

Figure 34 : Détection des spores de *B. cereus*, chauffage d'une portion de spaghetti à 1300 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



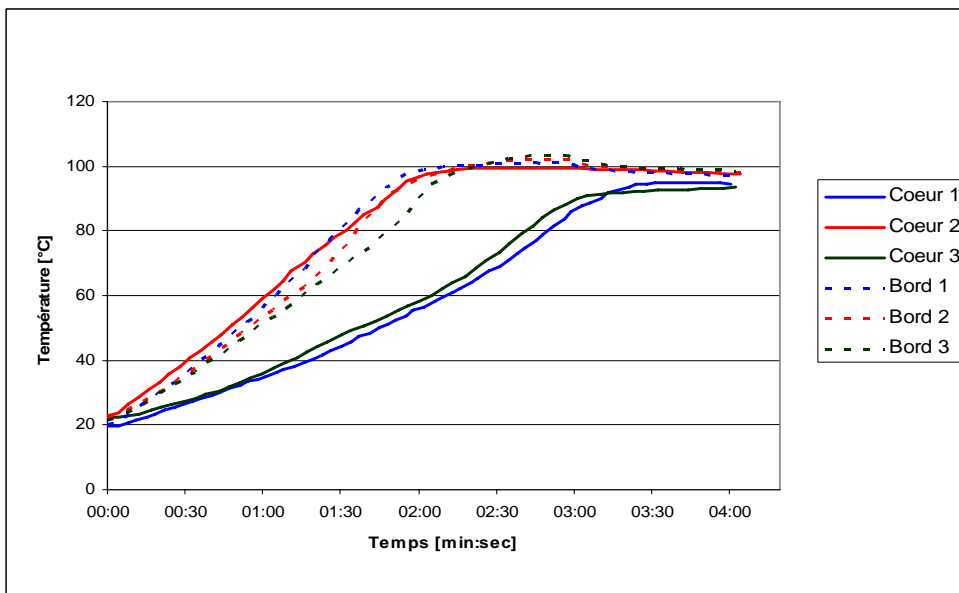
Cœur 1 :	34 P
Bord 1 :	7'782 P
Cœur 2 :	1 P
Bord 2 :	4'765 P
Cœur 3 :	283 P
Bord 3 :	5'056 P

Figure 35 : Détection des spores de *B. cereus*, chauffage d'une portion de riz à 1300 watts pendant 2 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



Cœur 1 :	9'871 P
Bord 1 :	22'774 P
Cœur 2 :	583 P
Bord 2 :	20'168 P
Cœur 3 :	917 P
Bord 3 :	8'685 P

Figure 36 : Détection des spores de *B. cereus*, chauffage d'une portion de riz à 650 watts pendant 5 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes



Cœur 1 :	1'481 P
Bord 1 :	13'071 P
Cœur 2 :	11'141 P
Bord 2 :	14'934 P
Cœur 3 :	1'123 P
Bord 3 :	16'431 P

Figure 37 : Détection des spores de *B. cereus*, chauffage d'une portion de riz à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat dans le four avec les valeurs P correspondantes

Les courbes de températures montrent encore des essais très hétérogènes entre le bord et le cœur des portions, avec des valeurs pasteurisatrices très différentes.

Les traitements ci-dessus (2 et 3 min à 1300 W, 5 min à 650 W) n'ont qu'une faible influence sur les spores de *Bacillus cereus* avec des valeurs pasteurisatrices variant entre 1 et 22'000 P.

3.6. Synthèse des résultats

Afin de résumer et de simplifier la lecture des résultats, le tableau 7 résume les facteurs de réduction des microorganismes traités.

Réduction supérieure à 10^2 ■ Réduction entre $10-10^2$ ■ Réduction inférieure à 10 □

Tableau 7 : Synthèse des résultats

Microorganisme	650 W 2 min	650 W 5 min	1300 W 2 min	1300 W 3 min
<i>E. coli</i>	□	■	■	■
<i>S. aureus</i>	□	■	■	■
Spores de <i>B. atrophaeus</i>	⊗	■	⊗	■
Spores de <i>B. cereus</i>	□	□	□	□

3.7. Comparaison des plats

Deux programmes ont été testés avec 4 sortes de plats afin de constater les différences de l'évolution de la température lors de la cuisson des produits.

Les plats utilisés sont, un plat PYREX, un plat en verre et une assiette en arcopal avec une portion de riz aplatie et en boule au milieu de l'assiette. Pour chaque programme les courbes de température correspondantes sont exposées dans les figures 38, 39, 40, 41.

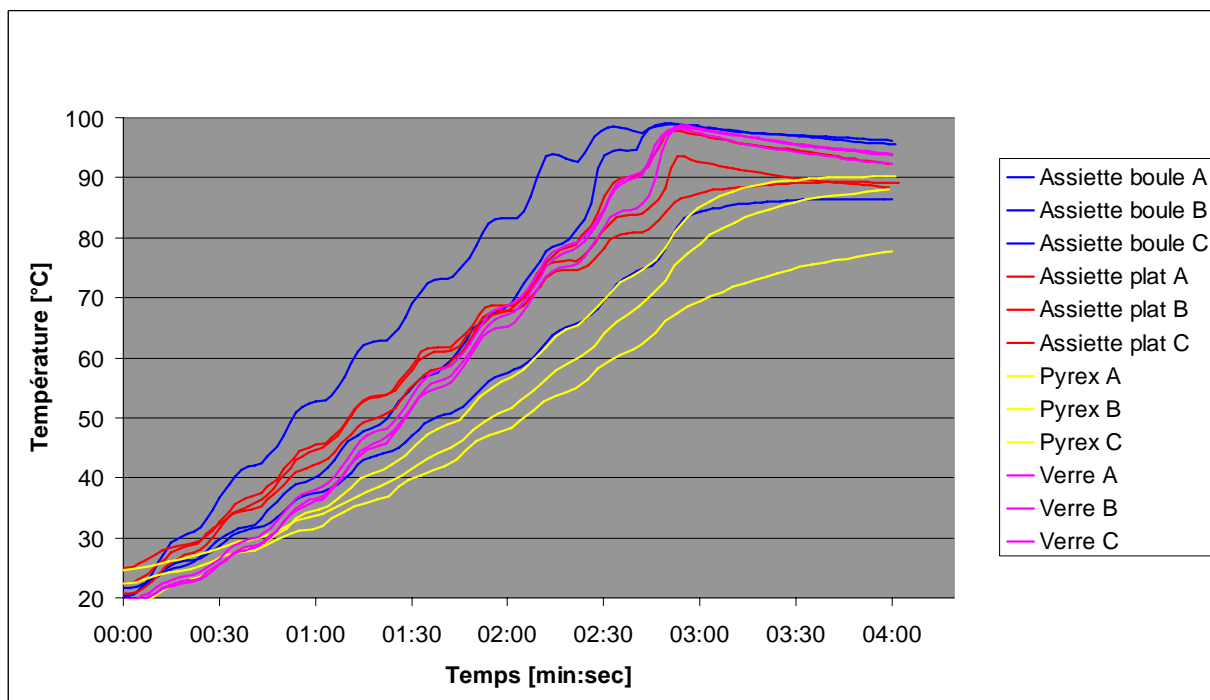


Figure 38 : Courbes de température à cœur des portions de riz à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

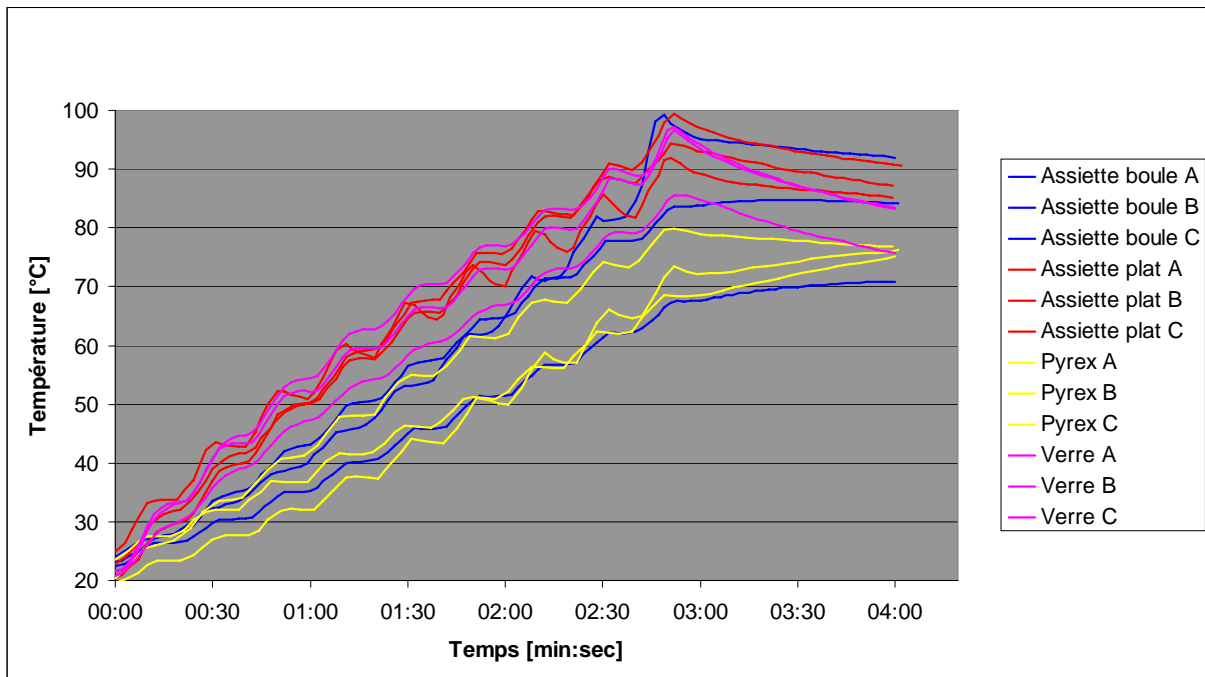


Figure 39 : Courbes de température au bord des portions de riz à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

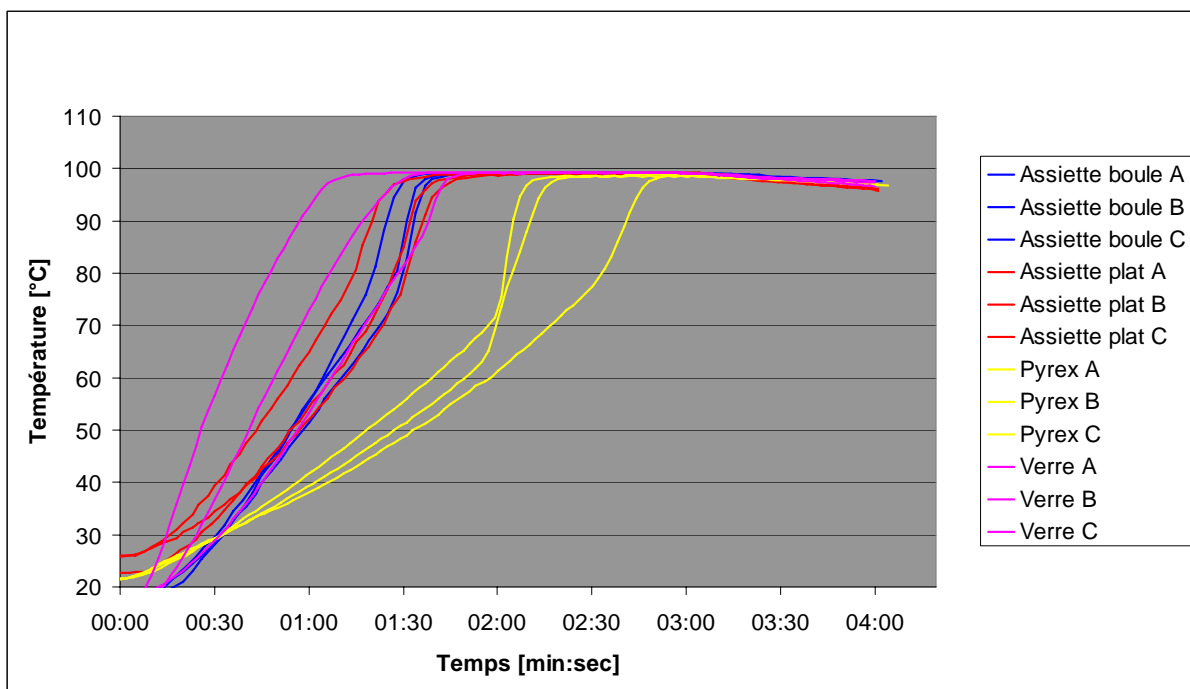


Figure 40 : Courbes de température à cœur des portions de riz à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

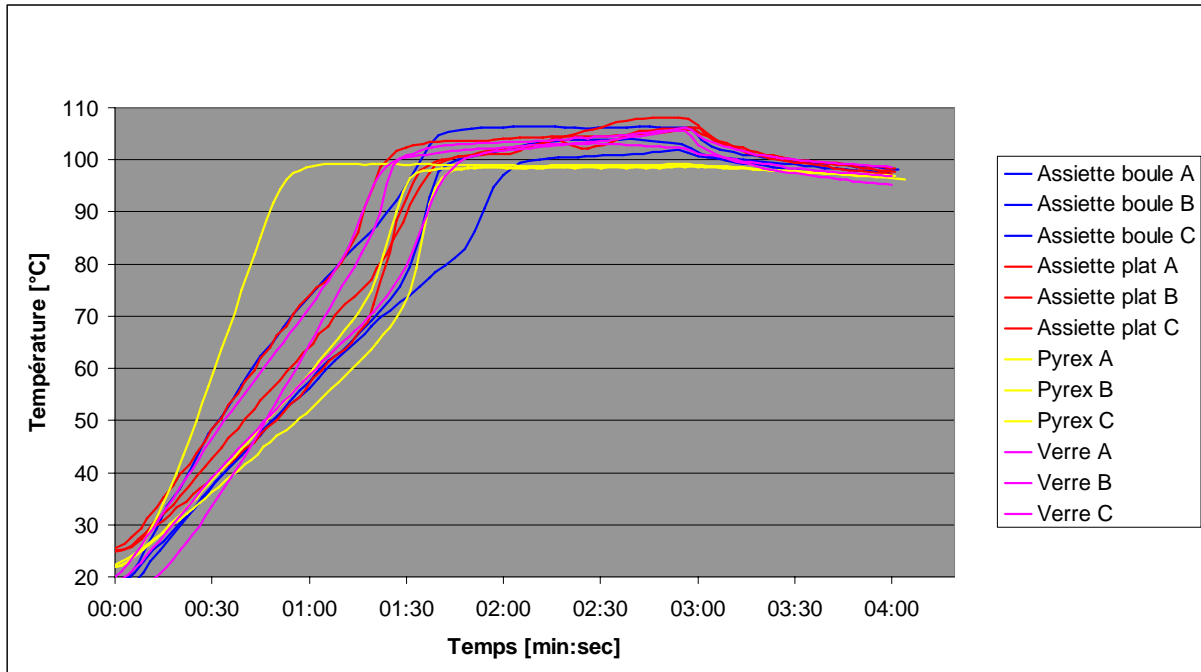


Figure 41 : Courbes de température au bord des portions de riz à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

Les courbes de température montrent des essais très hétérogènes entre les plats, il est impossible de donner un plat qui transférerait mieux la chaleur que les autres. Toutefois, dans les figures 38, 39, 40, il est constaté que dans le plat PYREX, la température met plus de temps à atteindre la valeur maximale.

A la fin de la cuisson, pendant la minute de repos, les essais maintiennent tous leur température. A 650 W, les températures finales restent très hétérogènes entre les essais. Par contre, à 1300 W, tous les essais se stabilisent à la même température (environ 98 °C).

3.7.1. Comparaison de traitements de riz à température ambiante et refroidie

Les mêmes tests que pour la comparaison des plats sont aussi réalisés entre les plats chauffés à partir d'un riz à température ambiante et un riz qui a été entreposé une nuit au frigo (5°C). Le but est d'étudier les différences d'évolution des courbes de température du procédé avec des températures d'avant cuisson distinctes. Les figures 42, 43 montrent les différences dans un plat en verre au cœur des portions. Les courbes des autres plats sont détaillées en [Annexe 5].

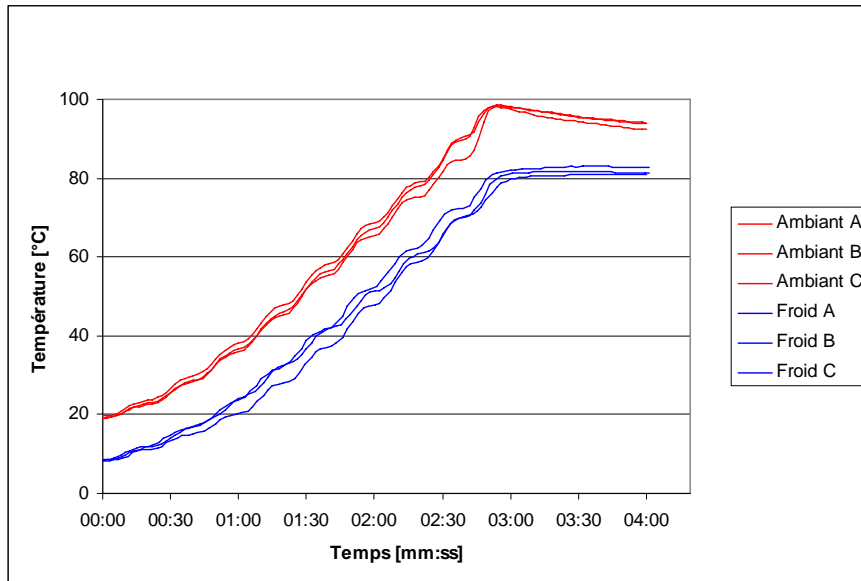


Figure 42 : Courbes de température au coeur des portions de riz à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

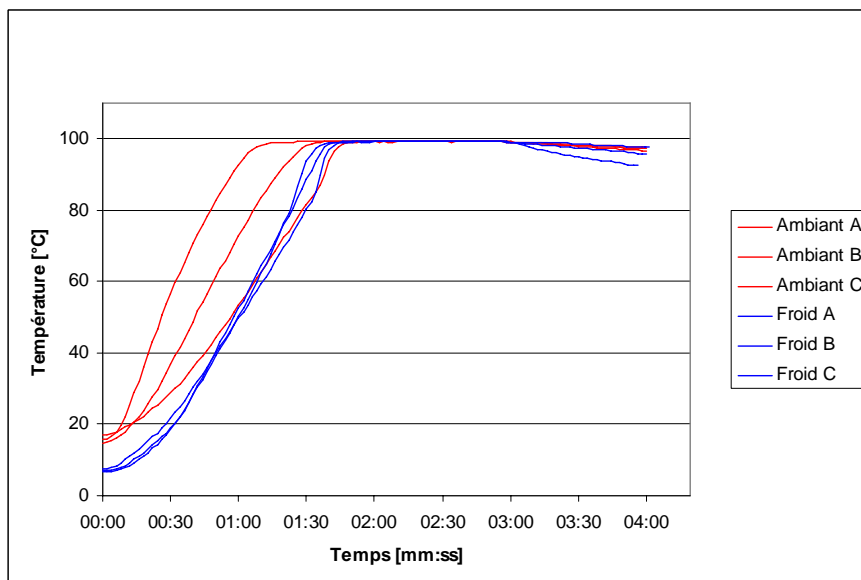


Figure 43 : Courbes de température au coeur des portions de riz à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

Avec 650 W, l'écart entre les deux températures avant la cuisson reste constant pendant tout le traitement et pendant la minute de repos. Avec 1300 W, l'écart de température diminue pendant tout le traitement jusqu'à trouver une température identique en fin de cuisson.

4. Discussion

4.1. Choix des aliments

Afin d'obtenir des résultats de qualité en peu de temps, les analyses sont concentrées sur des aliments où une inoculation des germes est la plus homogène possible. De plus, afin d'être proche de la réalité des ménages et des restaurants, il faut tester des plats qui sont généralement réchauffés au four à micro-ondes.

Des portions de spaghettis et de riz en sauce ont été choisies pour effectuer l'analyse, car il est simple d'inoculer de la sauce et de la mélanger dans le produit pour avoir une répartition des germes homogènes. Il aurait été plus difficile d'incorporer des germes de façon homogène sur, par exemple, une tranche de viande.

4.2. Tests de la répétabilité et de l'homogénéité des essais

Les résultats obtenus montrent très clairement que les traitements au four à micro-ondes ne sont pas homogènes. Les bords chauffent bien plus que les cœurs avec des valeurs de pasteurisation 5'000 et 10'000 P pour les cœurs et des résultats variant entre 10'000 et 28'000 P pour les bords des portions. Les ondes agitant les molécules d'eau du produit, ont de la peine à atteindre le cœur de la portion. Une fois la température maximale atteinte dans les bords et le cœur, la température de la portion est homogène.

Malgré un protocole strict, les essais chauffés à l'aide d'un four à micro-ondes ne sont pas répétables. Pour un même traitement effectué avec le même riz, le temps pour atteindre la température maximale est très différent. En effet, entre le plus rapide et le plus lent des essais, il y a presque 1 minute d'écart pour atteindre ce palier. Les effets de ces traitements sont par conséquent très différents avec des valeurs P pouvant varier du simple au double.

Comme les différences entre les portions sont réduites au maximum, il faut simplement constater que le four à micro-ondes n'est pas un appareil analytique précis et qu'il reste un appareil ménager.

4.3. Comparaison des effets des micro-ondes sur les germes

Les résultats microbiologiques d'un traitement au four à micro-ondes sur un germe, avec leurs courbes de température et valeur pasteurisatrice correspondantes, sont comparés entre eux afin de trouver le meilleur couple programme/temps possible pour réchauffer un aliment. Avec du riz blanc les essais sont déjà hétérogènes. Lors des tests effectués avec les sauces incubées un paramètre en plus accentue le phénomène. Comme la sauce et l'aliment sont mélangés manuellement il est possible que la portion ne soit pas vraiment homogène au départ. Si une sonde est en contact avec une partie plus humide (avec plus de sauce) la vibration des molécules d'eau ne sera pas la même que si elle est en contact avec un environnement plus sec. La température mesurée sera alors différente et c'est ce qui peut expliquer, que de temps en temps des différences énormes sont mesurées entre les essais et même que de temps en temps, la température à cœur soit plus élevée que la température dans le bord de la portion.

4.3.1.1. *Escherichia coli*

Comme *Escherichia coli* est peu résistant à la chaleur ($D_{47} = 0.8 - 65$ min), il était attendu qu'un traitement au four à micro-ondes avec un effet de plusieurs P réduise considérablement la flore microbiologique. Les résultats obtenus avec les programmes atteignant ces effets (2 et 3 min à 1300 W et 5 min à 650 W) sont semblables aux prévisions avec une réduction de germe d'un facteur de 10^4 au minimum.

Par contre avec un traitement à 650 W pendant 2 min, la température à cœur n'atteint pas les 50 °C et l'effet du traitement est bien inférieur à 1 P. *Escherichia coli* résiste à de telles conditions et les résultats microbiologiques le prouvent, avec aucune réduction observée au cœur de la portion. Il y a certes une diminution d'un facteur de 10^2 dans les bords qui atteignent une température plus élevée qu'au coeur, mais cela reste insuffisant.

4.3.1.2. *Staphylococcus aureus*

Avec une résistance à la chaleur de $D_{60} = 0.3$ min, il était attendu qu'un traitement au four à micro-ondes avec un effet de plusieurs P réduise considérablement la flore microbiologique de *Staphylococcus aureus*.

Les traitements effectués avec une puissance de 1300 W réduisent les germes présents d'un facteur de 10^3 environ. Même constatation pour les essais à 650 W pendant 5 min. Malgré quelques colonies trouvées sur les plaques, après ces différents traitements il est impossible, d'un point de vue microbiologique, de les différencier.

Par contre pour les essais à 650 W pendant 2 min la diminution est bien moins élevée. Au bord, là où la température augmente le plus vite, la diminution est d'un facteur de 10^2 . Au cœur, aucune réduction n'est remarquée. Les valeurs pasteurisatrices sont, comme pour le même programme avec *Escherichia coli* bien inférieures à 1 P et prouvent que ce traitement est insuffisant pour *Staphylococcus aureus*.

Les *Staphylococcus aureus* testés sont coagulase positive, producteurs de toxines et donc pathogènes. L'inactivation de l'activité enzymatique de la lécithinase pour cette souche de *Staphylococcus aureus* est intéressante. Il est connu que les *Staphylococcus aureus* lécithinase positive sont susceptibles d'être également coagulase positive. Si elles sont coagulase positive, alors elles ont de fortes chances de produire des toxines. L'activité enzymatique et la production de toxines sont liées. L'inactivation de l'activité enzymatique de la lécithinase pourrait empêcher cette production de toxines et donc rendre les germes apathogènes. Mais dans le cas du réchauffement d'un plat au four à micro-onde, si l'aliments est contaminé par les *Staphylococcus aureus* et qu'ils ont déjà produits leurs toxines, les toxines déjà présentes ne seraient pas détruites.

4.3.1.3. Spores de *Bacillus*

- Spores de *Bacillus atrophaeus*

L'étude sur l'effet des traitements au four à micro-ondes sur les spores de *Bacillus atrophaeus* est, en premier lieu, un entraînement pour l'analyse des spores de *Bacillus cereus*. Il est tout de même constaté une réduction d'un facteur de 10 à 10^2 pour les traitements supérieurs à 1 P. Il n'est pas étonnant de trouver cette réduction car ces spores ont une valeur D à 90 °C de 8.5 min et les températures atteintes lors des traitements sont de 100°C pendant plus d'une minute.

- Spores de *Bacillus cereus*

Avec une valeur D à 90 °C de 60 min il est attendu que la chaleur des différents traitements soit trop faible pour réduire ces spores. C'est donc le moyen idéal pour voir si d'autres paramètres que la chaleur, telles que les ondes, agissent sur les germes lors d'un traitement au four à micro-ondes. Comme aucun traitement ne réduit les spores de *Bacillus cereus*, il peut donc être déduit comme le mentionnent B. A. Welt, C.H. Tong, J. L. Rossen et D. B. Lund ; ainsi que Juan A. Canumir, José E. Celis, Johannes de Bruijn et Leslie V. Vidal, que seule la chaleur produite par la vibration des molécules d'eau à un effet sur les germes présents dans l'aliment et non les micro-ondes. [7 ; 8]

4.4. Comparaison des programmes de cuissons

De part de la non répétabilité des essais et des résultats microbiologiques, il est très difficile de comparer les différents traitements afin de dire lequel serait le plus approprié. La seule certitude est que le programme 2 min à 650 W est insuffisant pour réchauffer un plat au four à micro-ondes.

Les courbes de température montrent, qu'avec le programme 1300 W pendant 2 min, la température à cœur n'a pas le temps d'atteindre les 100 °C et se stabilise à 90 °C environ. Malgré cela, ce programme a un effet d'au moins 2 P dans le cœur le plus froid de tous les essais et est donc suffisant pour être considéré comme une pasteurisation.

Il est tout de même conseillé d'utiliser les programmes les plus forts (1300 W pendant 3 min et 650 W pendant 5 min) pour garantir une chaleur suffisante dans toute la portion. Il est très difficile de les différencier, seuls les résultats microbiologiques sur les spores de *Bacillus atrophaeus* tendent à montrer que le programme 1300 W pendant 3 min est un peu plus performant et pourrait être préféré au programme 650 W pendant 5 min.

Cette préférence se confirme avec les essais effectués avec un riz froid. En effet avec une puissance de 650 W, l'écart entre les deux températures avant la cuisson reste constant pendant tout le traitement alors qu'avec un même traitement à 1300 W, l'écart de température diminue pendant tout le traitement jusqu'à trouver une température identique en fin de cuisson.

4.5. Comparaison des plats

Avec la non répétabilité des essais il est impossible de donner un plat qui transférerait mieux la chaleur que les autres. Toutefois, il est constaté que dans le plat PYREX, la température met plus de temps à atteindre sa valeur maximale. Ces tests montrent par contre que, pour avoir une bonne cuisson au four à micro-ondes, ce n'est pas le plat le facteur le plus important mais le programme de cuisson.

5. Conclusion et perspectives

Avec un programme adapté, la quantité de chaleur dégagée dans l'aliment suffit pour détruire les germes végétatifs testés (*E. coli* et *S. aureus*). Il est conseillé de toujours utiliser le programme le plus puissant. Avec un four micro-ondes pouvant générer une puissance d'environ 1300 W, un temps de cuisson de 2 à 3 min est nécessaire afin que le cœur de la portion atteigne une température suffisante pour détruire les germes pathogènes existants. Avec un four ayant une puissance d'environ 650 W, il est alors conseillé de chauffer l'aliment pendant 4 à 5 minutes. Un temps inférieur ne ferait que réduire partiellement, voir n'aurait aucun effet sur la population de germes présente dans l'aliment. Il est important, une fois le programme terminé, de laisser reposer le plat une minute avant de le consommer. C'est pendant cette minute que la majorité de la réduction des germes se produit, étant donné que la température maximale est stabilisée. Le traitement au four à micro-ondes n'a par contre, aucun effet de réduction des spores de *Bacillus cereus*.

Le choix d'un plat pour le réchauffement d'un aliment au four à micro-ondes n'est pas très important tant que ce plat est adapté au four à micro-onde.

Dans l'optique de la continuité du travail, il serait intéressant de mélanger l'aliment en cours de traitement afin d'améliorer l'homogénéité de la température. Il faudrait aussi reconduire les analyses, avec d'autres fours à micro-ondes et des programmes équivalents en comparant les résultats, afin de savoir si la répétabilité des essais ou la réduction des germes seraient équivalente.

Il est peu probable que le traitement ait un effet sur des toxines thermorésistantes comme celles produites par *Staphylococcus aureus*. Il serait toutefois important de tester cette hypothèse. Il serait aussi intéressant de savoir si les *Staphylococcus aureus*, ayant subi un traitement au four à micro-ondes et perdu l'activité de la lécithinase, sont également coagulase négative et si la production de toxines est inhibée.

Des traitements au four à micro-ondes pourraient également être testés sur d'autres germes tels que les *Listeria monocytogeneses* qui n'ont pas pu être effectués par manque de temps. Comme la méthode est maintenant en place, le traitement d'aliments avec des matrices plus complexes, comme de la viande, des légumes entiers ou un plat complet composés de plusieurs aliments, etc. peut être envisagé.

6. Bibliographie

- [1] Wikipedia l'encyclopédie libre : Le four à micro-ondes (2007), consulté le 02.03.07
http://fr.wikipedia.org/wiki/Four_%C3%A0_micro-ondes
- [2] Lycos : Le four à micro-ondes domestique (2007), consulté le 02.03.07
<http://membres.lycos.fr/dkpat/rdet/Web-rdet/dom/dom.html>
- [3] Aquadesign.be, Guide internet généraliste : Four à micro-ondes, son histoire, son fonctionnement et ses dangers (22.09.2006), consulté le 06.03.07
<http://www.aquadesign.be/news/article-3291.php>
- [4] Panasonic ideas for life : Technologie Inverter (2007), consulté le 06.03.07
http://www.panasonic.fr/servlet/PB/menu/1221941_13/index.html
- [5] Brinon C, projet de semestre, Influence des micro-ondes sur la charge en germes des mets dans les ménages et dans la restauration, Haute Ecole Spécialisée de Suisse occidentale // Valais – Wallis, (2007)
- [6] P.P. Legnani, E. Leoni, F. Righi et L.A. Zarabini, Effect of microwave heating and Gamma irradiation on microbiological quality of spices and herbs, Italien journal of food science Volume 13, Number 3, (2000), 337-345
- [7] B. A. Welt, C.H. Tong, J. L. Rossen et D. B. Lund, Effect of microwave radiation on inactivation of *Clostridium sporogenes* (PA 3679) Spores, Applied and Environmental Microbiology, (février 1994), 482-488
- [8] Juan A. Canumir, José E. Celis, Johannes de Bruijn et Leslie V. Vidal, Pasteurisation of apple juice by using microwaves, Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, Volume 35, Number 5,(août 2002), 389-392
- [9] Schmitt R. : Microbiologie Alimentaire, Risques microbiologiques par des organismes pathogènes, HEVs, Sion (2006), 10-102
- [10] P. Gélinasm, Répertoire des microorganismes pathogènes, (1995, La fondation des gouverneurs, Edisem), 64-65
- [11] C.M. Bourgeois, J.F. Mescle, J. Zucca, Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires (1988, Lavoisier), 65-71
- [12] P. Gélinasm, Répertoire des microorganismes pathogènes, (1995, La fondation des gouverneurs, Edisem), 54-55
- [13] Mayoraz-Devantéry N., Application de succédanés de souches de « Bacillus » dans différents processus technologiques de réchauffement après détermination de leur résistance à la chaleur par méthode capillaire, Haute école valaisanne, (2006)
- [14] Milani F., Production de spores de *B. atrophaeus* et détermination de leur résistance à la chaleur, Haute école valaisanne, (2005)

- [15] Schmitt R. : Microbiologie Alimentaire, Cinétique d'inactivation, HEVs, Sion (1999), 8
- [16] Schmitt R., Microscopie quantitative, Haute école valaisanne (2005), 1-3
- [17] Quantitative Bestimmung von aerobier, mesophiler Keime Methode SO8101 édition vom 17.09.01 HEVs Sion
- [18] Procédure pour la méthode dans la masse, DI8106, édition 1F du 14.07.05, HEVs Sion
- [19] Zufferey J. : Initiation à la microbiologie, EPSIC, Lausanne (2003)
- [20] Quantitative Bestimmung koagulasepositiver Staphylokokken Methode SO8108 édition vom 22.10.01 HEVs Sion
- [21] Procédure pour la méthode en surface, DI8107, édition 1F du 14.07.05, HEVs Sion
- [22] Quantitative Bestimmung von *Escherichia coli* Methode SO8106 édition vom 17.09.01 HEVs Sion
- [23] Quantitative Bestimmung von *Bacillus cereus* Methode SO8403 édition vom 26.10.05 HEVs Sion

7. Remerciements

- J'aimerais remercier Dr. Ester Schmitt pour sa disponibilité et les conseils qu'elle m'a apportés.
- Grand merci à Bruno Lehner, Martin Gilles, ainsi que toute l'équipe du laboratoire de microbiologie pour l'aide qu'ils m'ont apportée tout au long de mon travail de diplôme.
- Merci également à Dr. Rudolf Schmitt pour son conseil sur la valeur de pasteurisation.
- Finalement je remercie ma famille et mon amie pour leur soutien tout au long de mes études.

8. Annexes

- [Annexe 1] Préparation du milieu Campden Agar (CA)
- [Annexe 2] Courbes de températures des essais avec *E. coli*
- [Annexe 3] Courbes de températures des essais avec *S. aureus*
- [Annexe 4] Courbes de températures des essais avec les spores de *Bacillus*
- [Annexe 5] Courbes de températures des essais avec les portions de riz refroidi

Brinon Christophe

Préparation du milieu Campden Agar (CA)

La préparation du milieu Campden Agar (CA) se fait de la manière suivante :

Suspendre les ingrédients du tableau A1, 1 dans de l'eau déminéralisée sous constante agitation et amener à ébullition. Puis stériliser en autoclavant 15 min à 121°C.

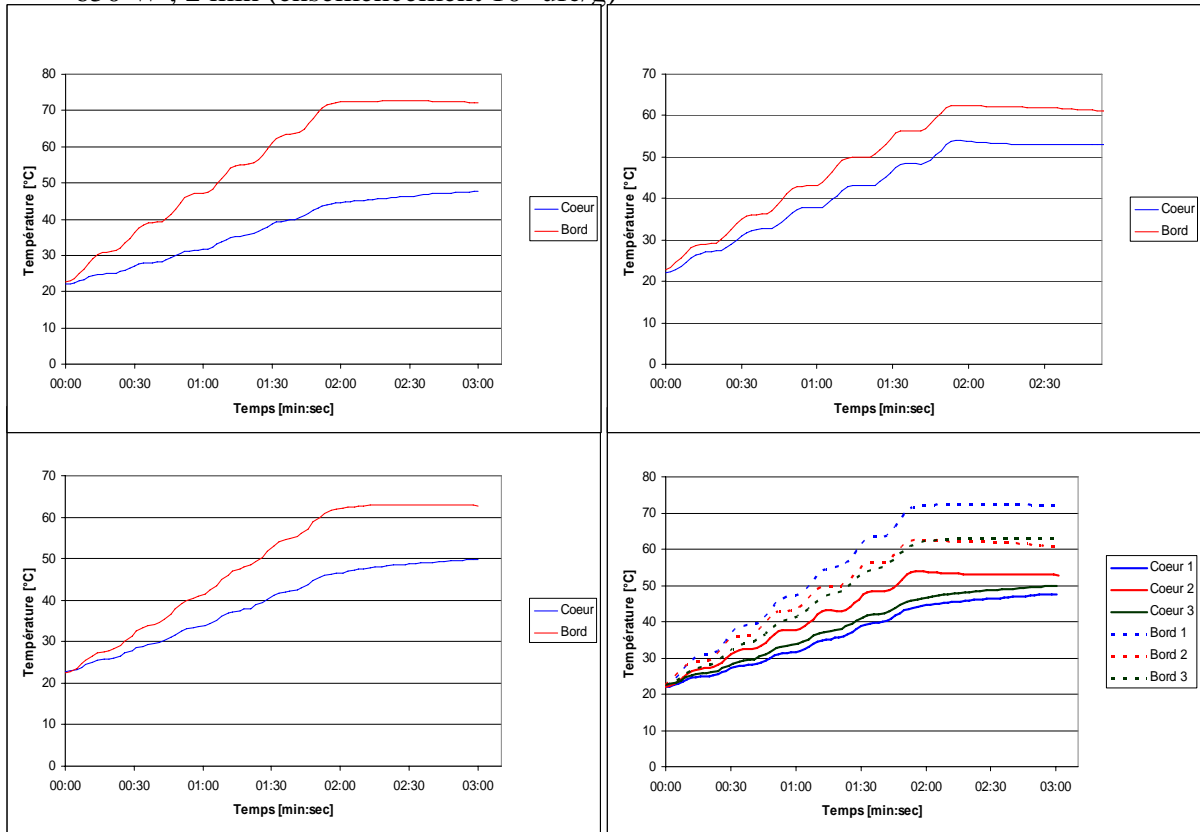
Le milieu peut se conservé jusqu'à 2 mois entre 2 °C et 8 °C.

Tableau A1 ; 1 : Ingrédients nécessaires pour la préparation du milieu Campden Agar (CA)

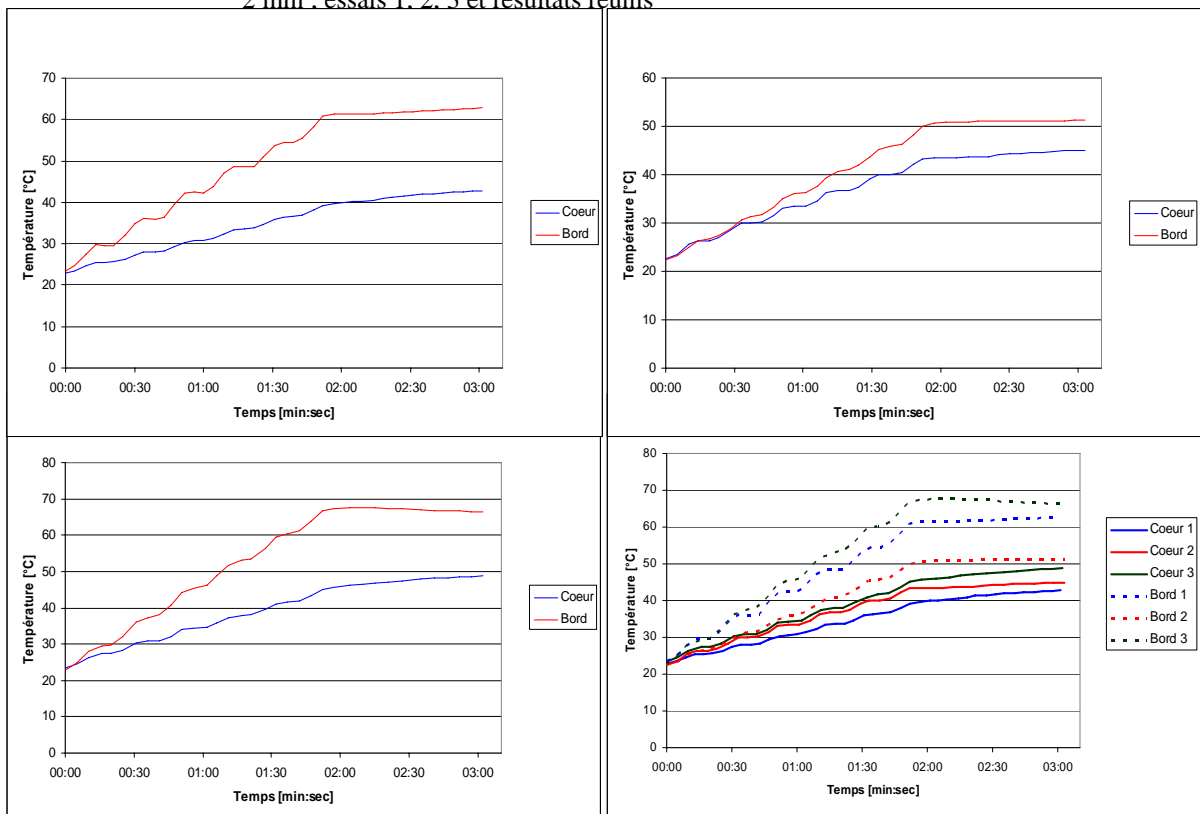
Produits de référence		Produits utilisés		Quantité
Produits	Référence	Produits	Référence	
Tryptone	Oxoid L42	Tryptic digest of casein	Biolife 412340	5.0 g
Bacto Peptone	Difco 211677	Bacto™ Peptone	Difco 0118-17	5.0 g
Yeast Extract	Oxoid LP21	Jaune d'oeuf émulsion 50 %	Biolife 42111621	2.0 g
D-Glucose anhydrous	Merck 1.08337.5000	D(+)-Glucose Monohydrat PH.EUR.III	203140.0914, Panreac Quimica SA	1.0 g
Lab Lemco	Oxoid L29	Beef Extract Powder	Biolife 41125	1.0 g
Manganese sulphate	Merk 1.05941	Manganese(II)-sulfate Monohydrate (MnSO ₄)	Fluka 63555	0.082 g
Calcium chloride	Merck 1.02382.0500	Calcium chloride dihydrate (CaCl ₂)	Fluka 21100	0.056 g
Bacto agar	BD 214010	Agar Bacteriological (Agar Bios Special LL)	Biolife 4110302	15.0 g
Eau déminéralisée				1000 ml

Courbes de températures des essais avec E. coli

- 650 W ; 2 min (ensemencement 10^5 ufc/g)

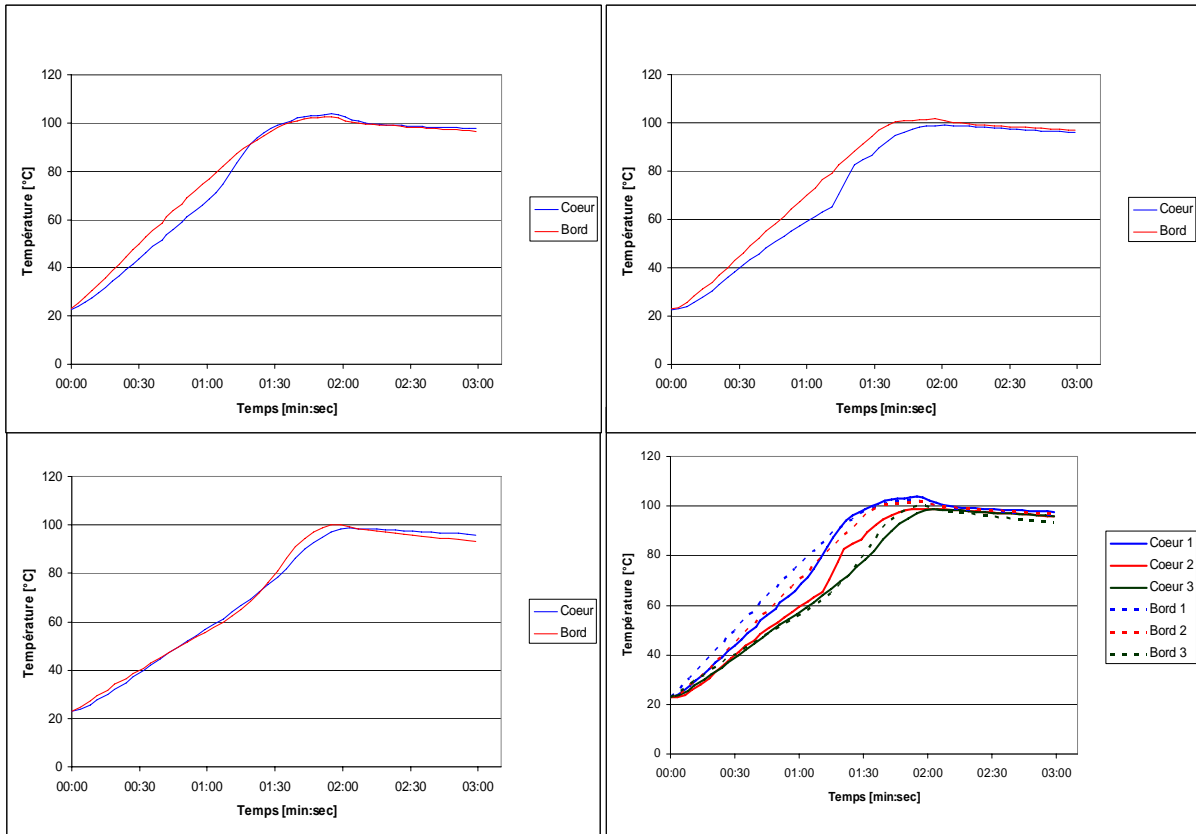


Figures A2 ; 1, 2, 3, 4 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 650 W pendant 2 min : essais 1, 2, 3 et résultats réunis

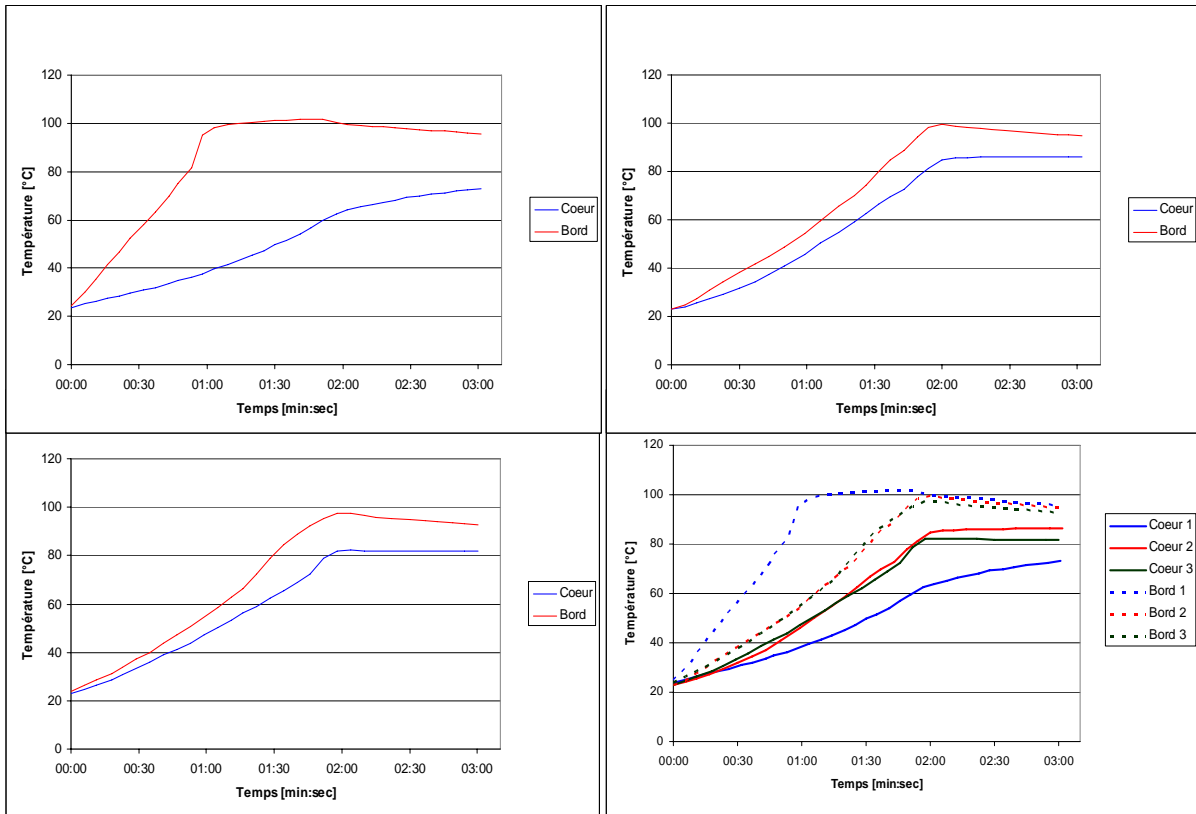


Figures A2 ; 5, 6, 7, 8 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- 1300 W ; 2 min (ensemencement 10^5 ufc/g)

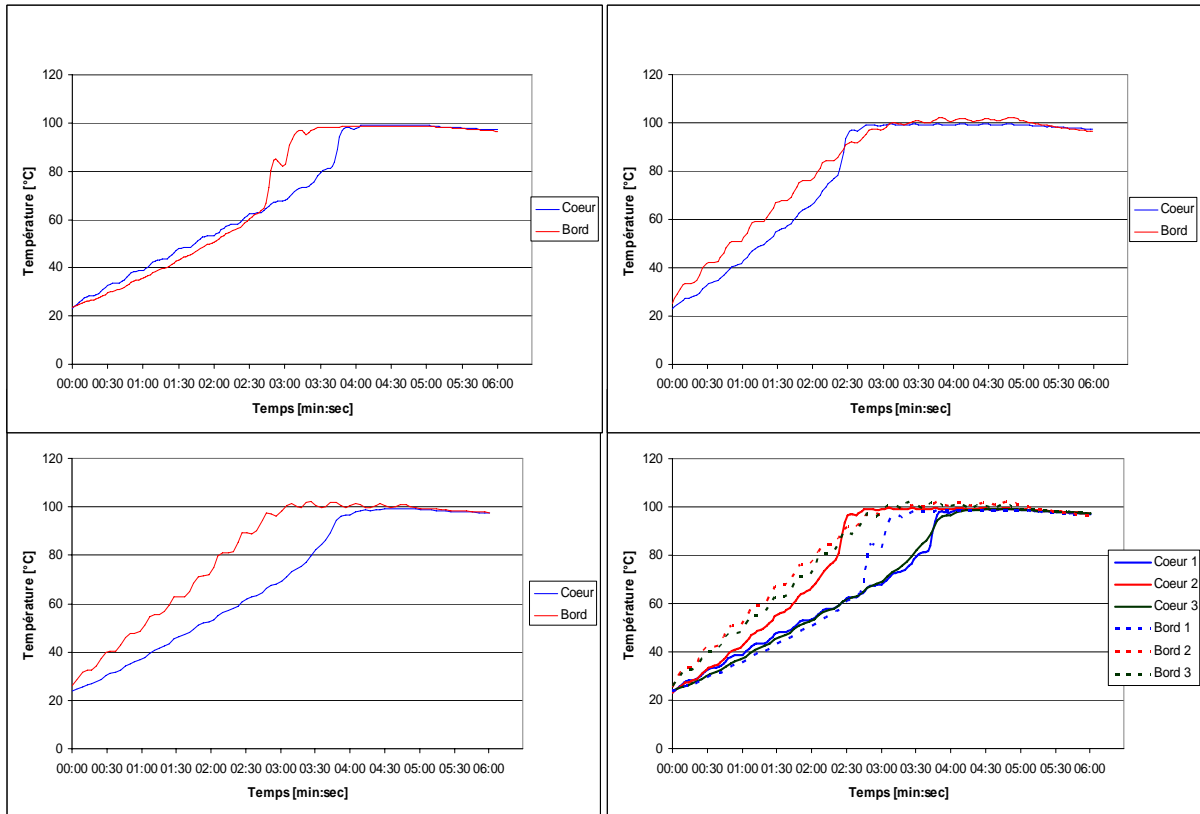


Figures A2 ; 9, 10, 11, 12 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 1300 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

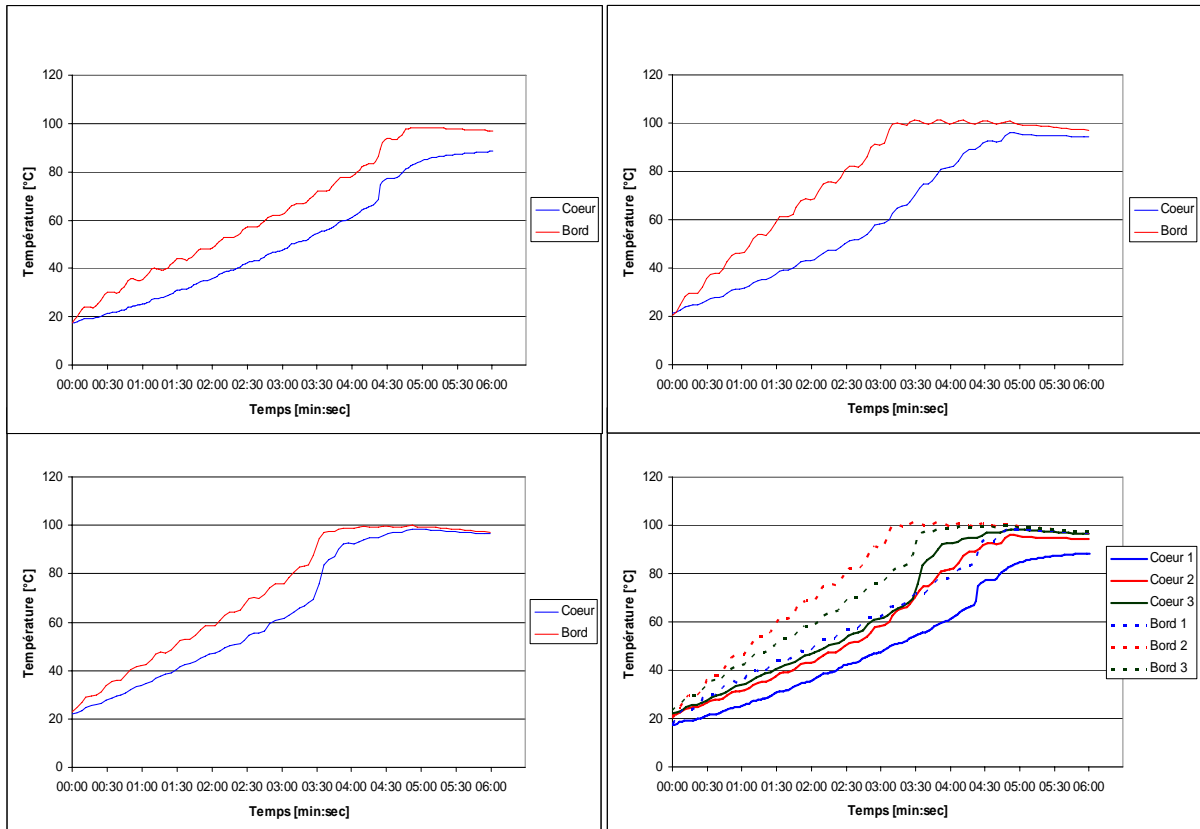


Figures A2 ; 13, 14, 15, 16 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de **riz** à 1300 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- 650 W ; 5 min (ensemencement 10^4 ufc/g)

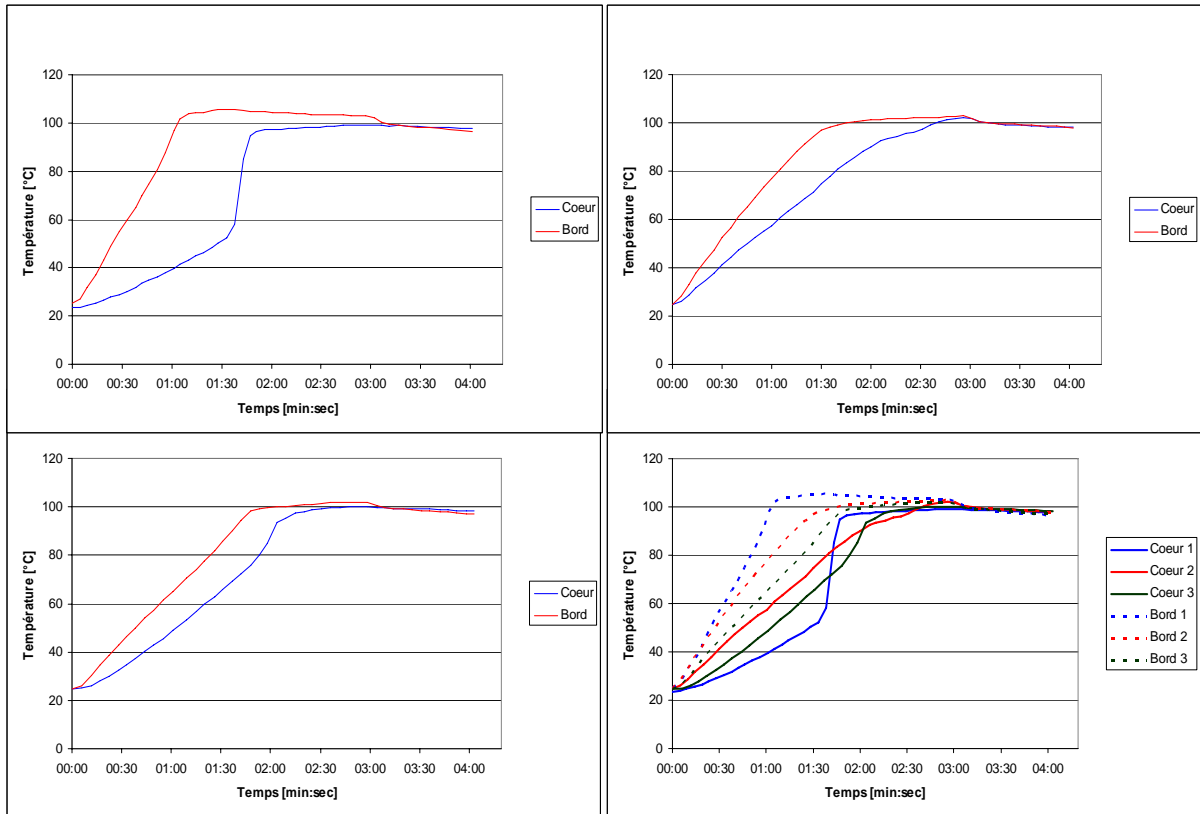


Figures A2 ; 17, 18, 19, 20 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de spaghetti à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

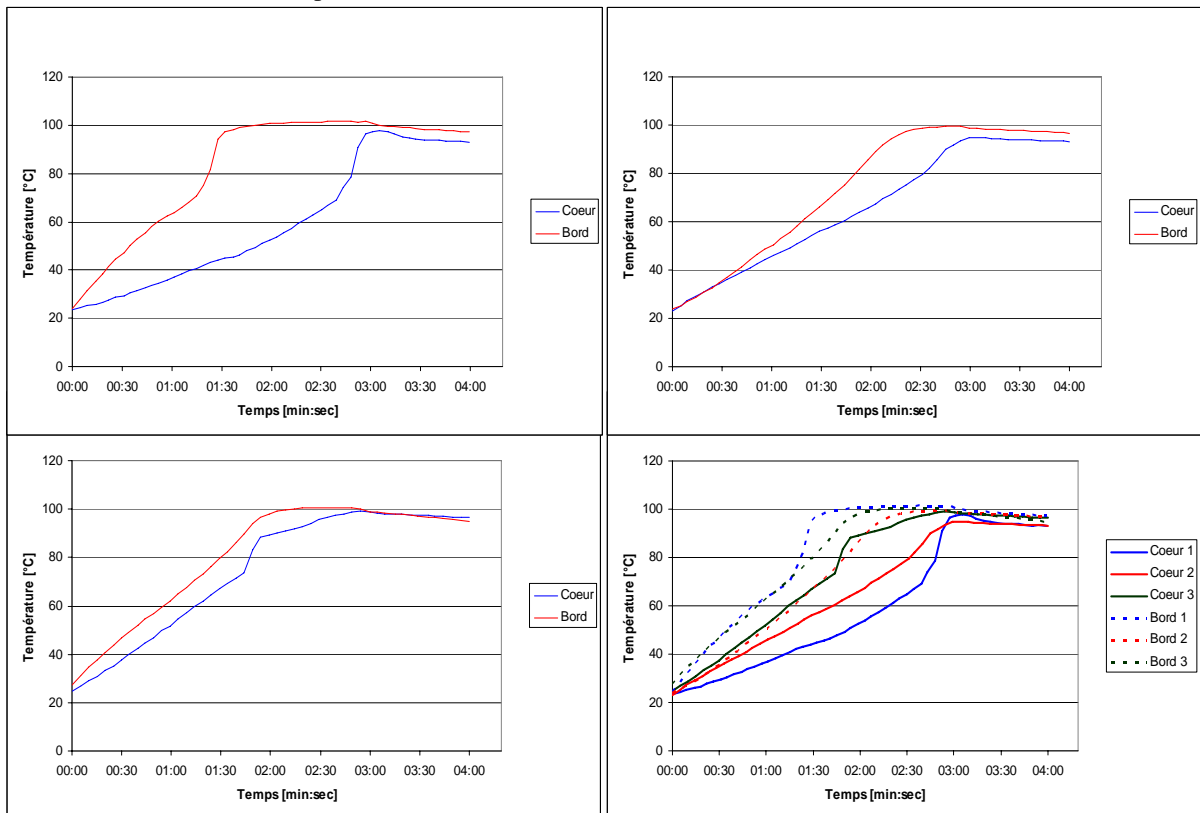


Figures A2 ; 21, 22, 23, 24 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de riz à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- 1300 W ; 3 min (ensemencement 10^4 ufc/g)

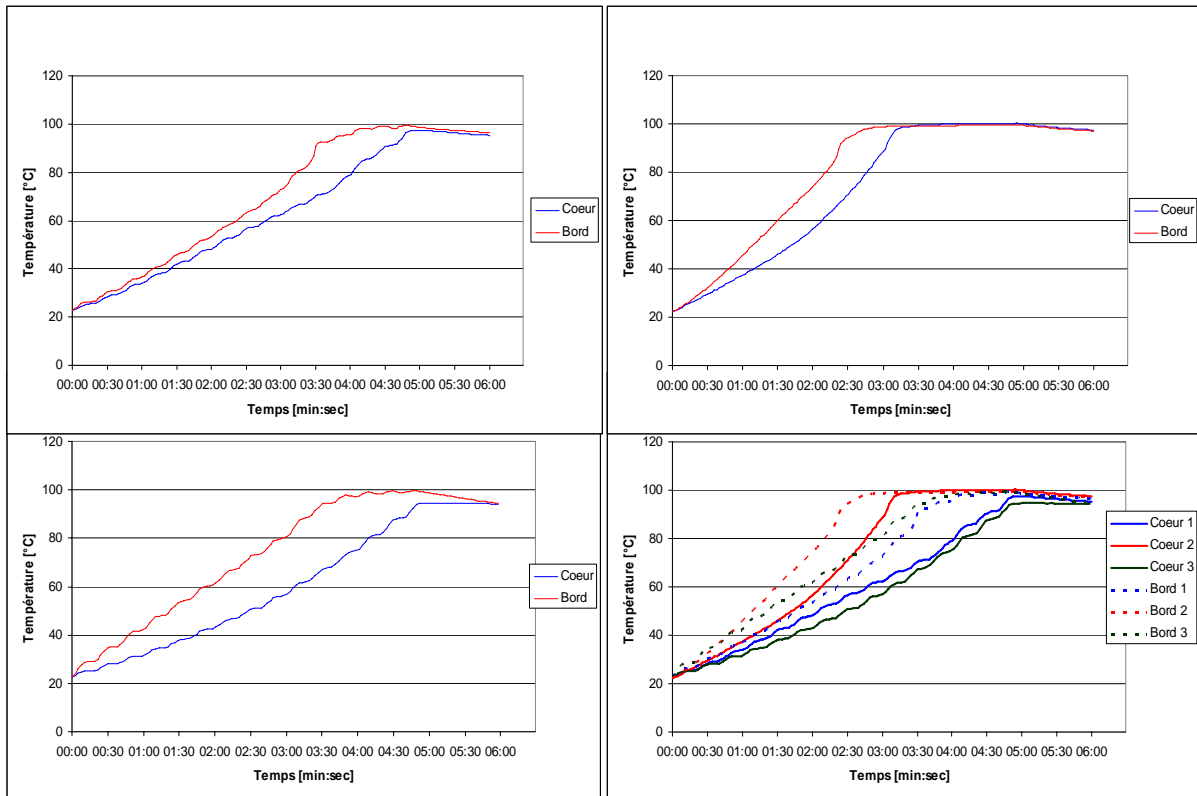


Figures A2 ; 25, 26, 27, 28 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de spaghetti à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis



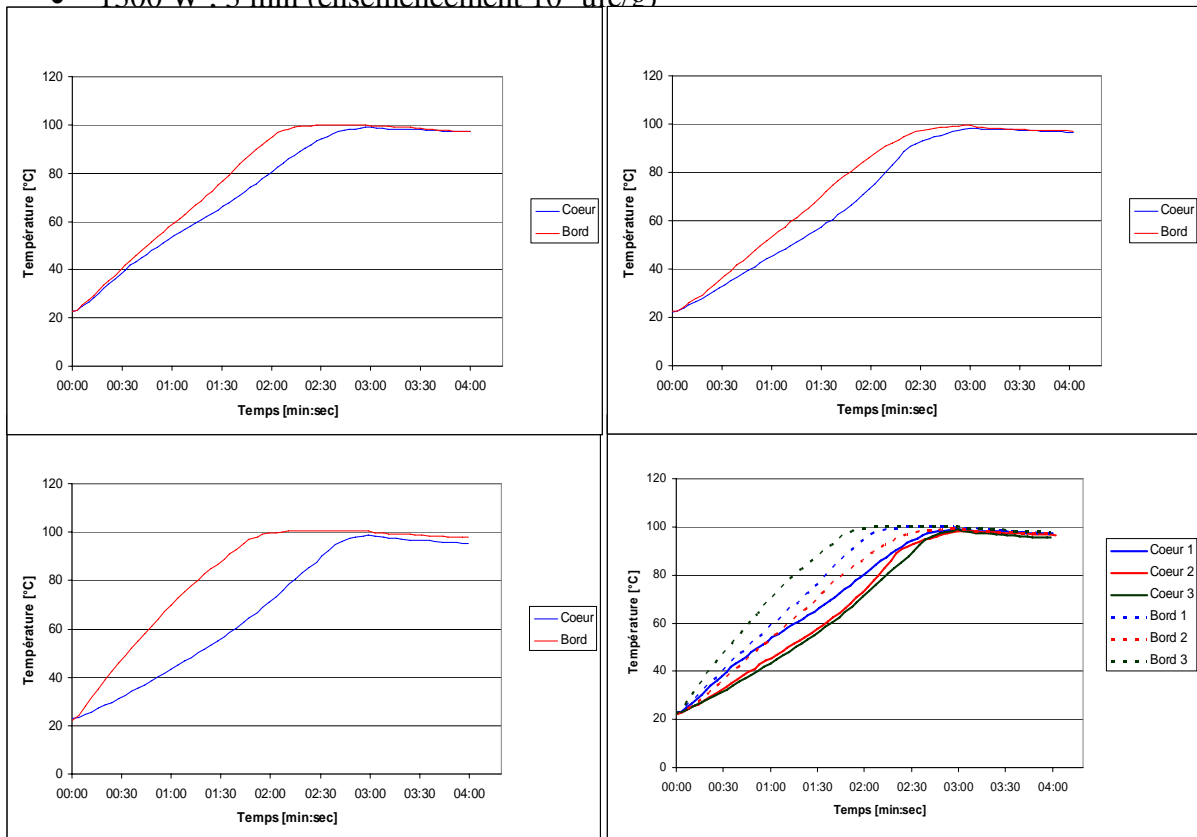
Figures A2 ; 29, 30, 31, 32 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de riz à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- 650 W ; 5 min (ensemencement 10^5 ufc/g)



Figures A2 ; 33, 34, 35, 36 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de riz à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

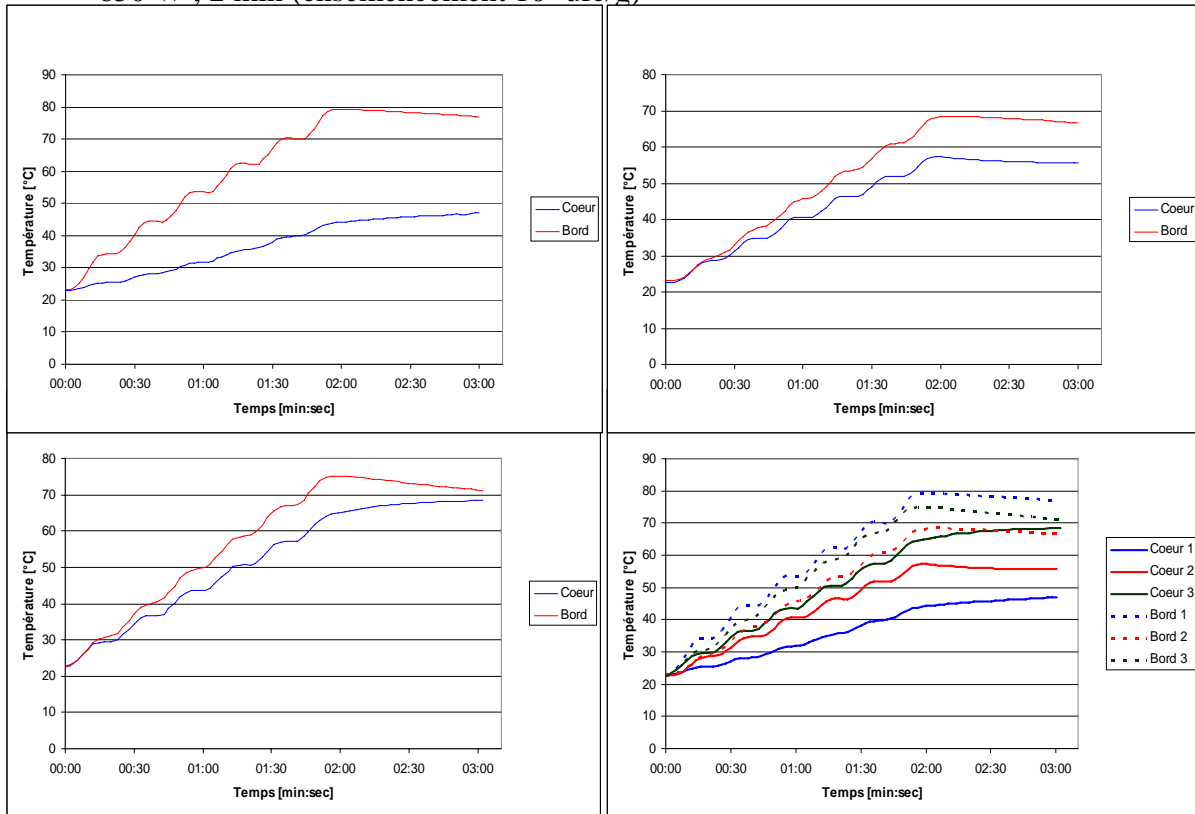
- 1300 W : 3 min (ensemencement 10^5 ufc/g)



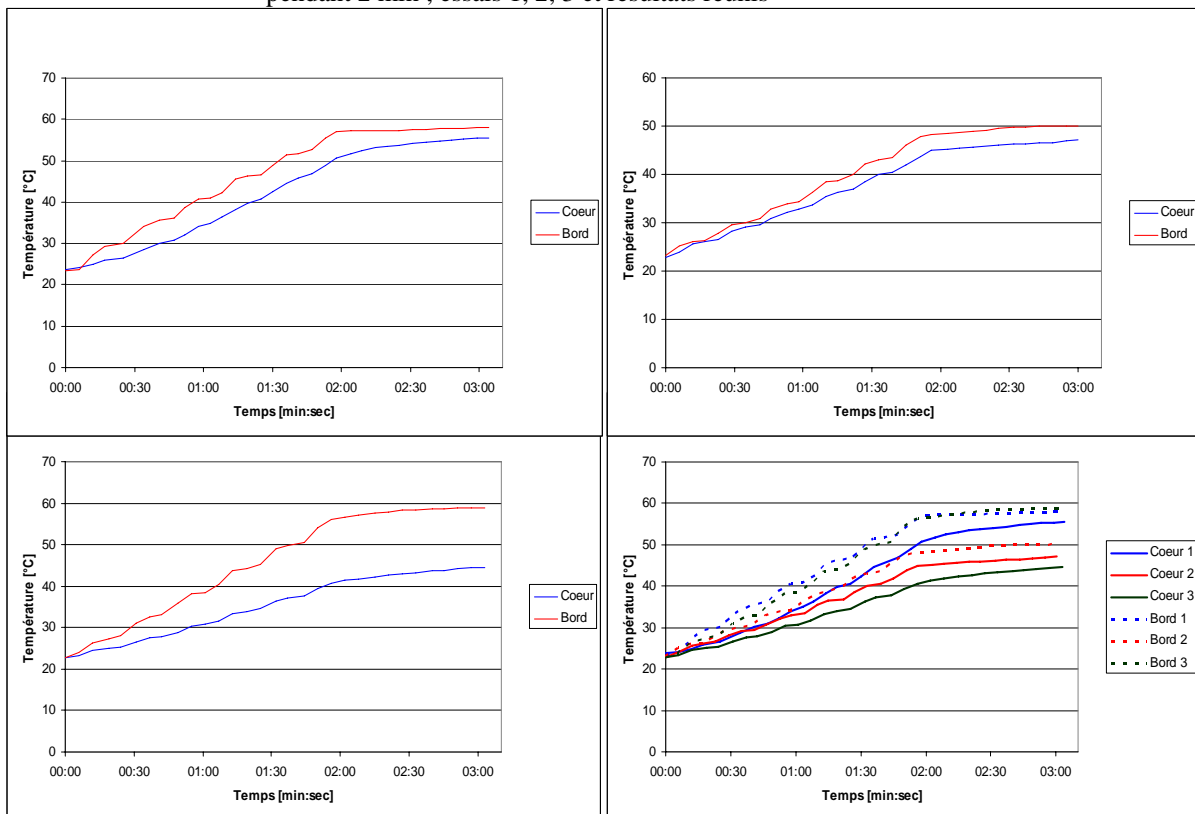
Figures A2 ; 37, 38, 39, 40 : Détection d'*Escherichia coli*, chauffage d'une portion de riz à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

Courbes de températures des essais avec *S.aureus*

- 650 W ; 2 min (ensemencement 10^5 ufc/g)

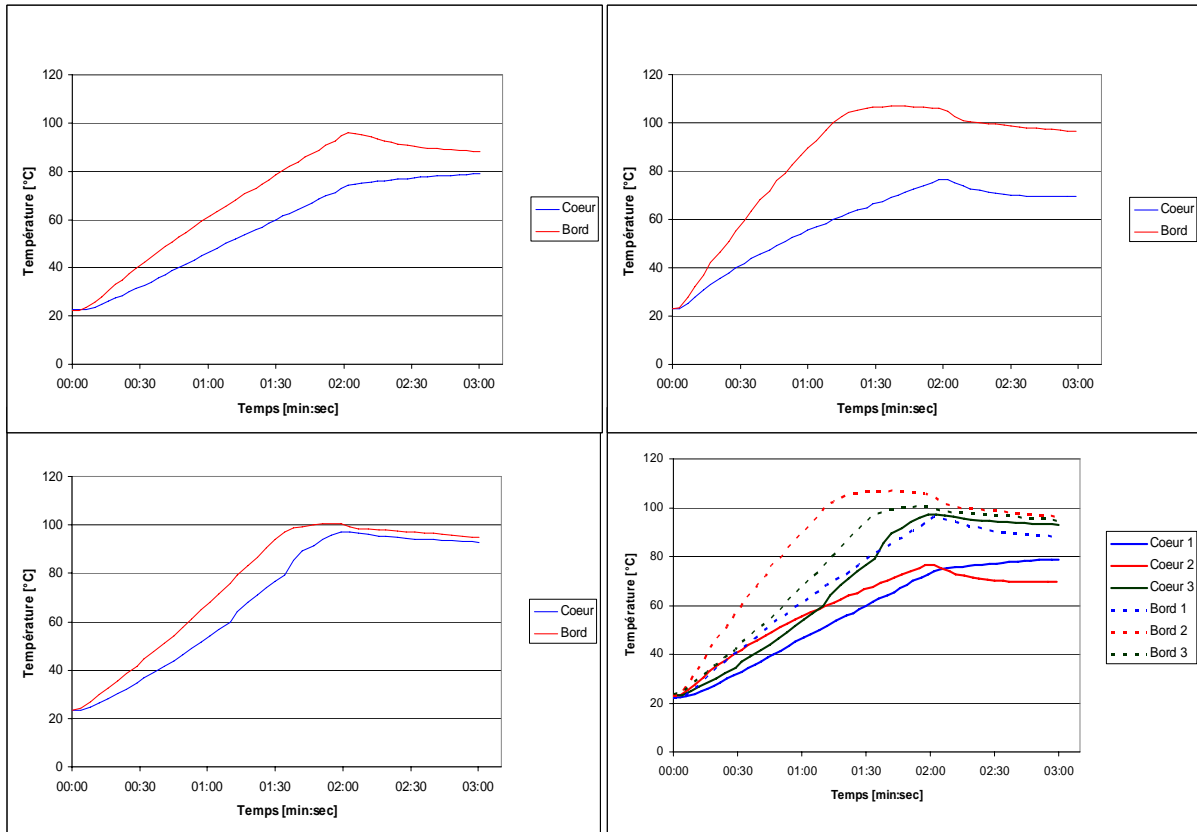


Figures A3 ; 1, 2, 3, 4 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 650 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

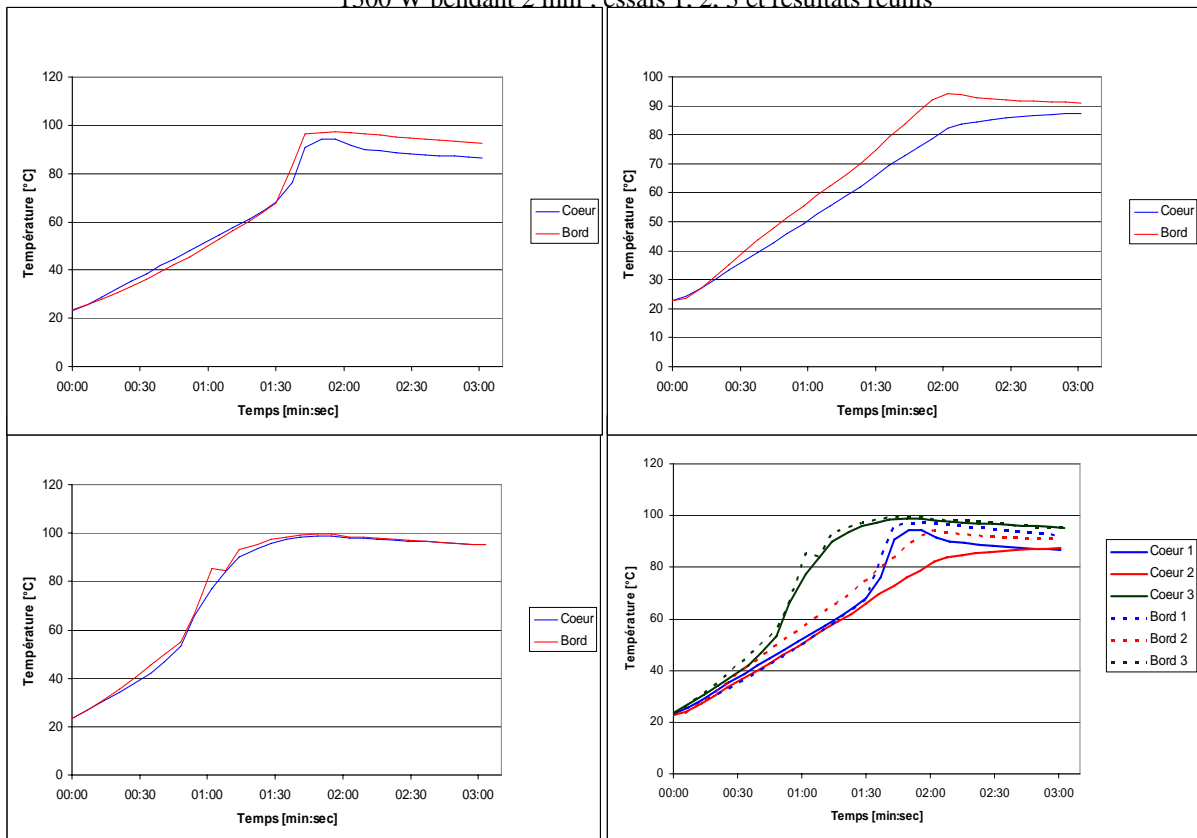


Figures A3 ; 5, 6, 7, 8 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- 1300 W ; 2 min (ensemencement 10^5 ufc/g)

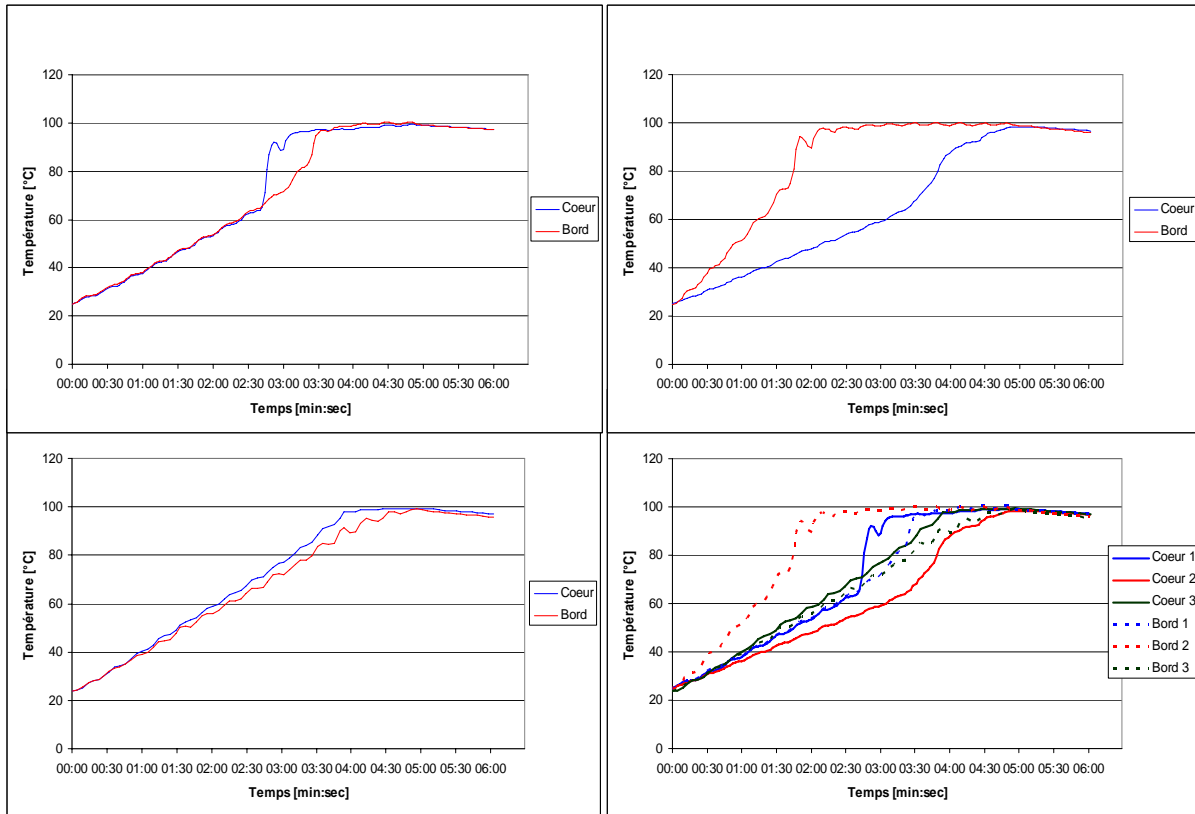


Figures A3 ; 9, 10, 11, 12 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 1300 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

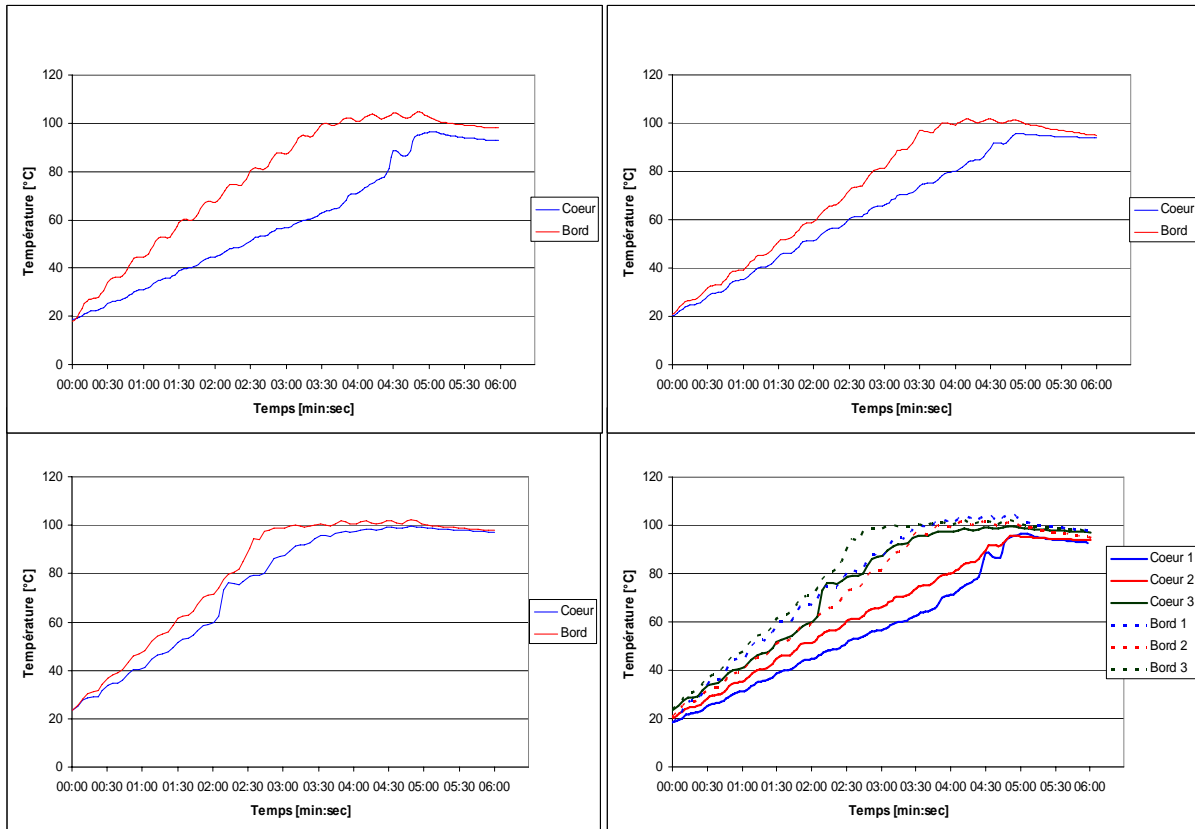


Figures A3 ; 13, 14, 15, 16 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **riz** à 1300 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- 650 W ; 5 min (ensemencement 10^4 ufc/g)

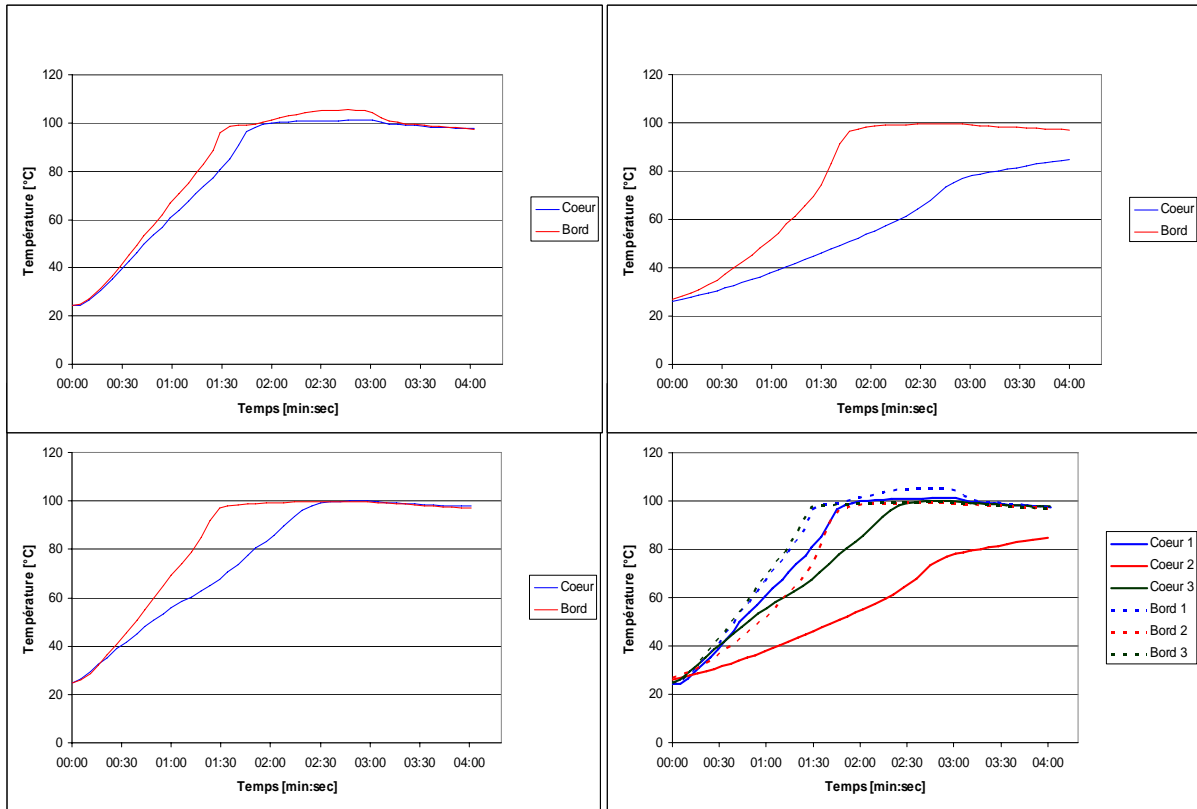


Figures A3 ; 17, 18, 19, 20 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

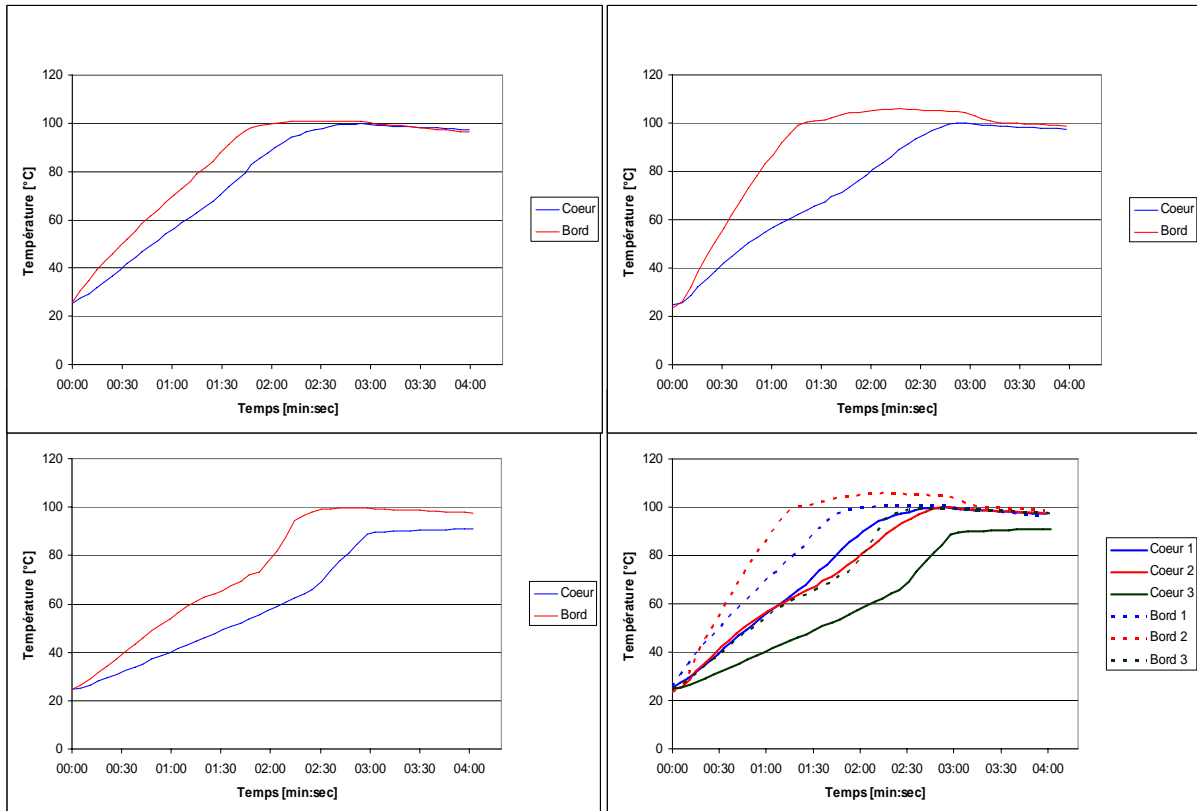


Figures A3 ; 21, 22, 23, 24 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- 1300 W ; 3 min (ensemencement 10^4 ufc/g)

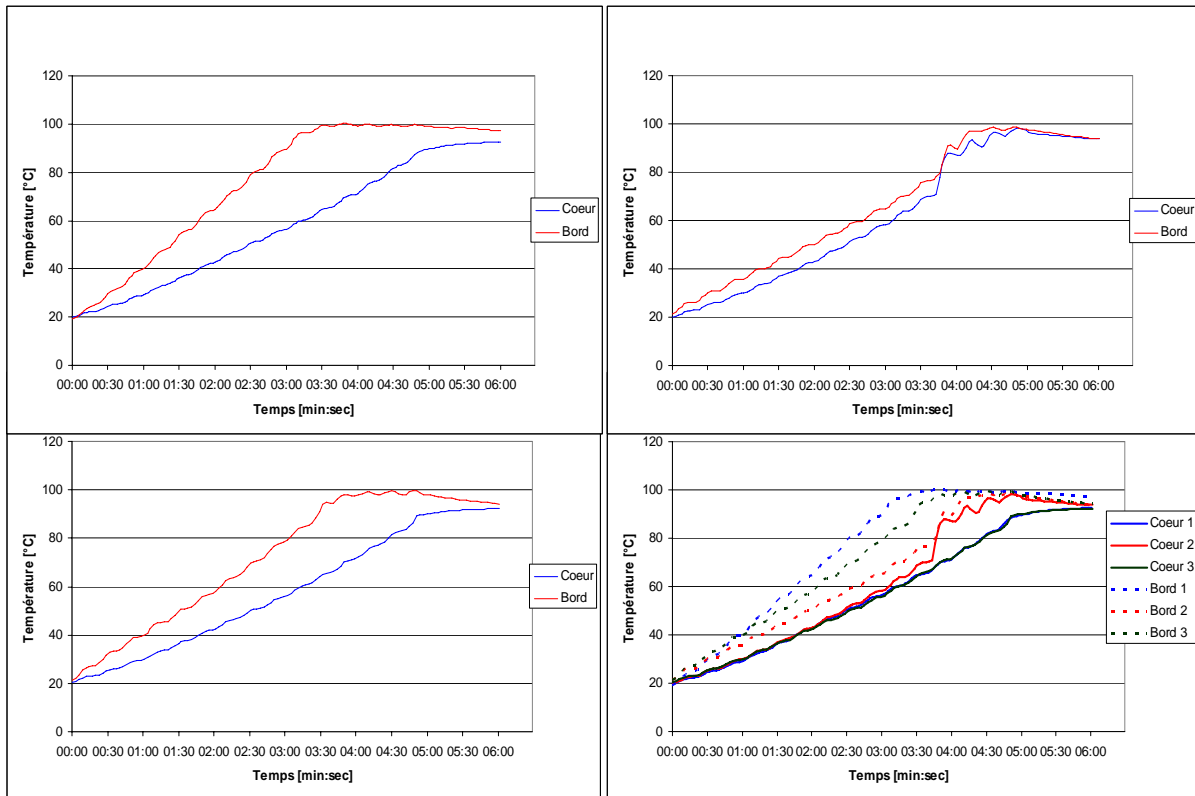


Figures A3 ; 25, 26, 27, 28 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis



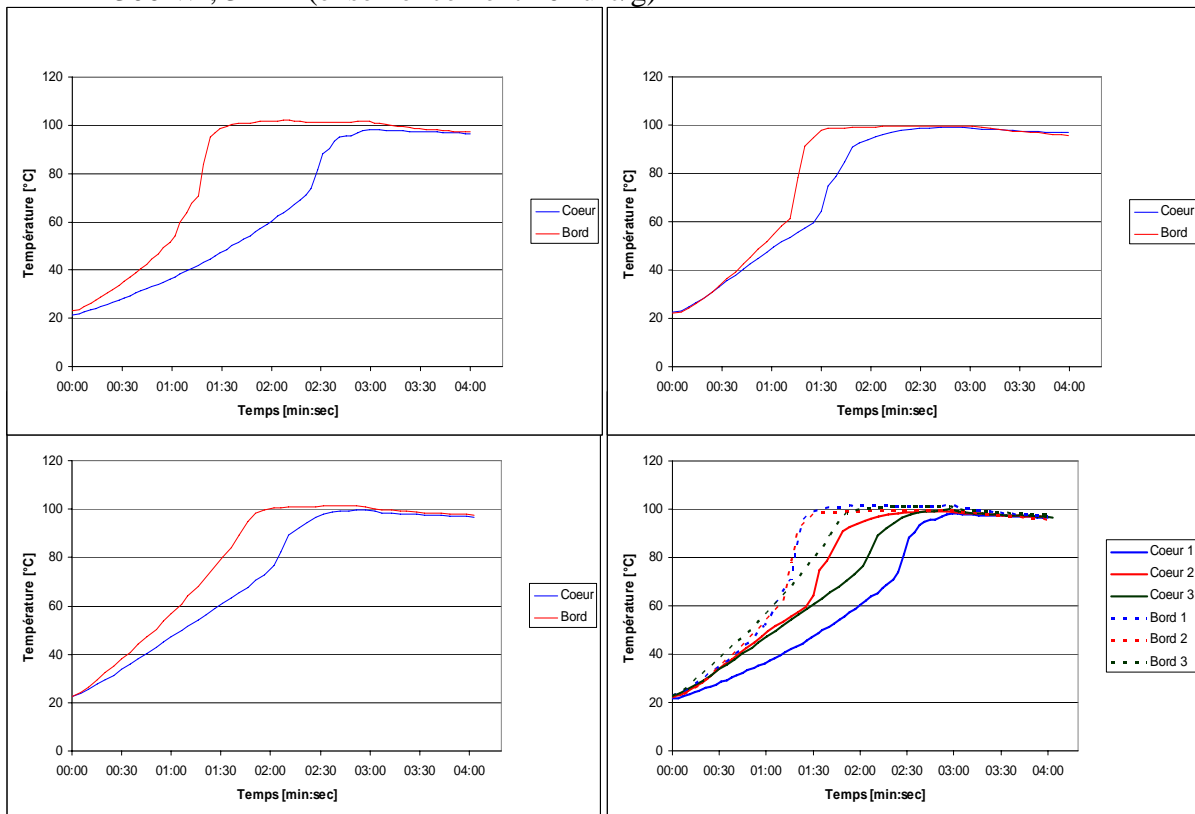
Figures A3 ; 29, 30, 31, 32 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de **riz** à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- 650 W ; 5 min (ensemencement 10^5 ufc/g)



Figures A3 ; 33, 34, 35, 36 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de riz à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

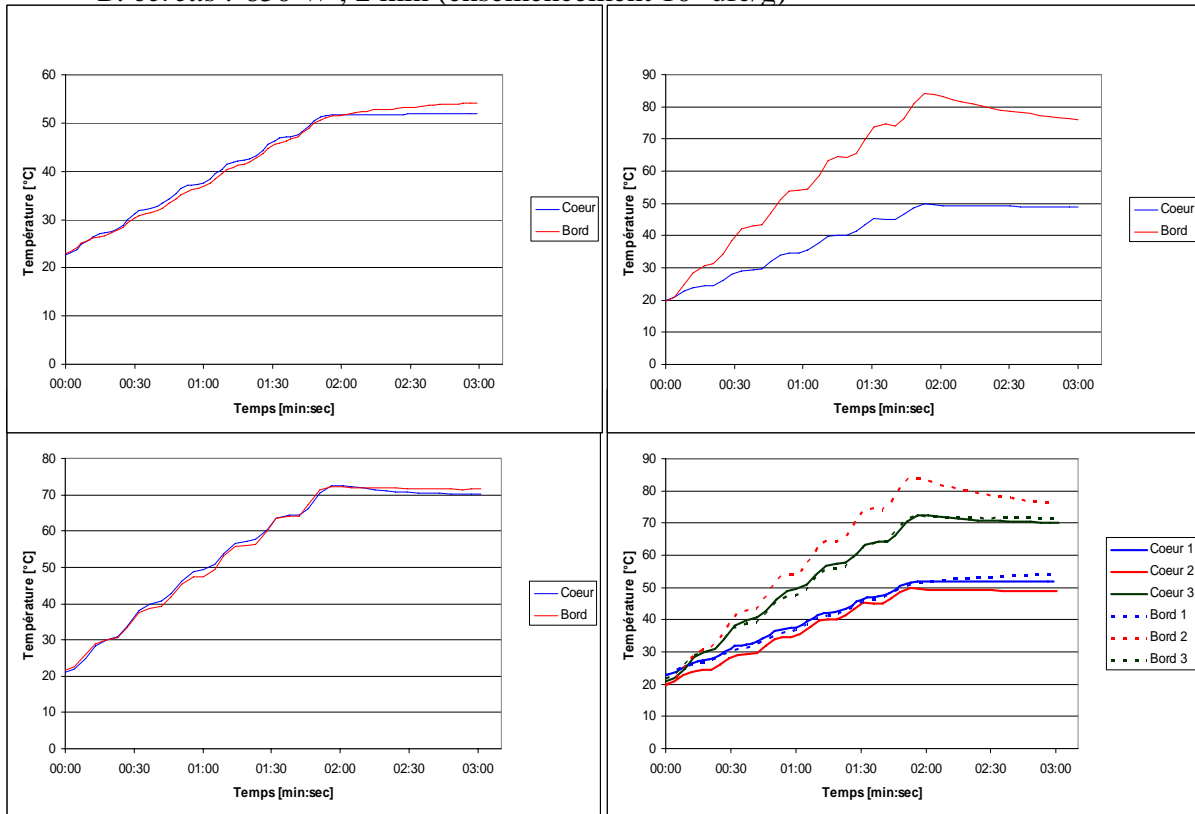
- 1300 W ; 3 min (ensemencement 10^5 ufc/g)



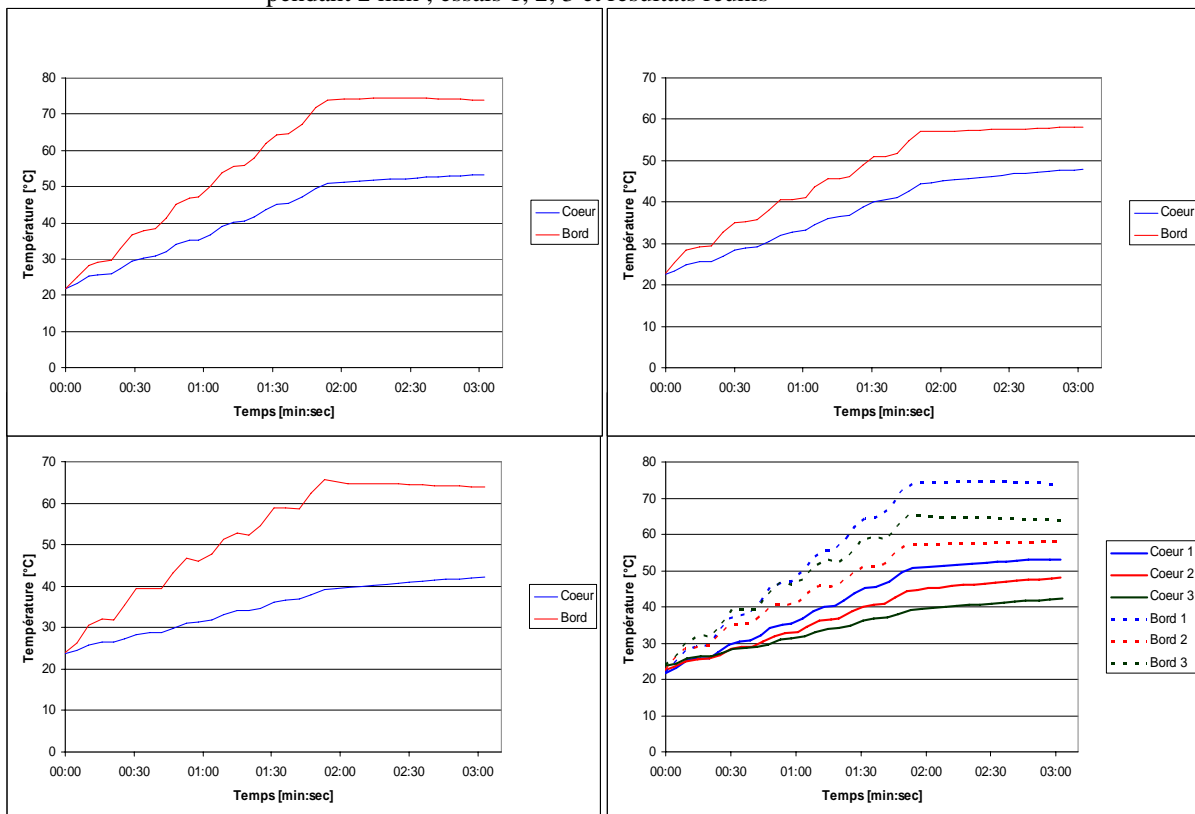
Figures A3 ; 37, 38, 39, 40 : Détection de *Staphylococcus aureus*, chauffage d'une portion de riz à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

Courbes de températures avec les spores de Bacillus

- *B. cereus* : 650 W ; 2 min (ensemencement 10^5 ufc/g)

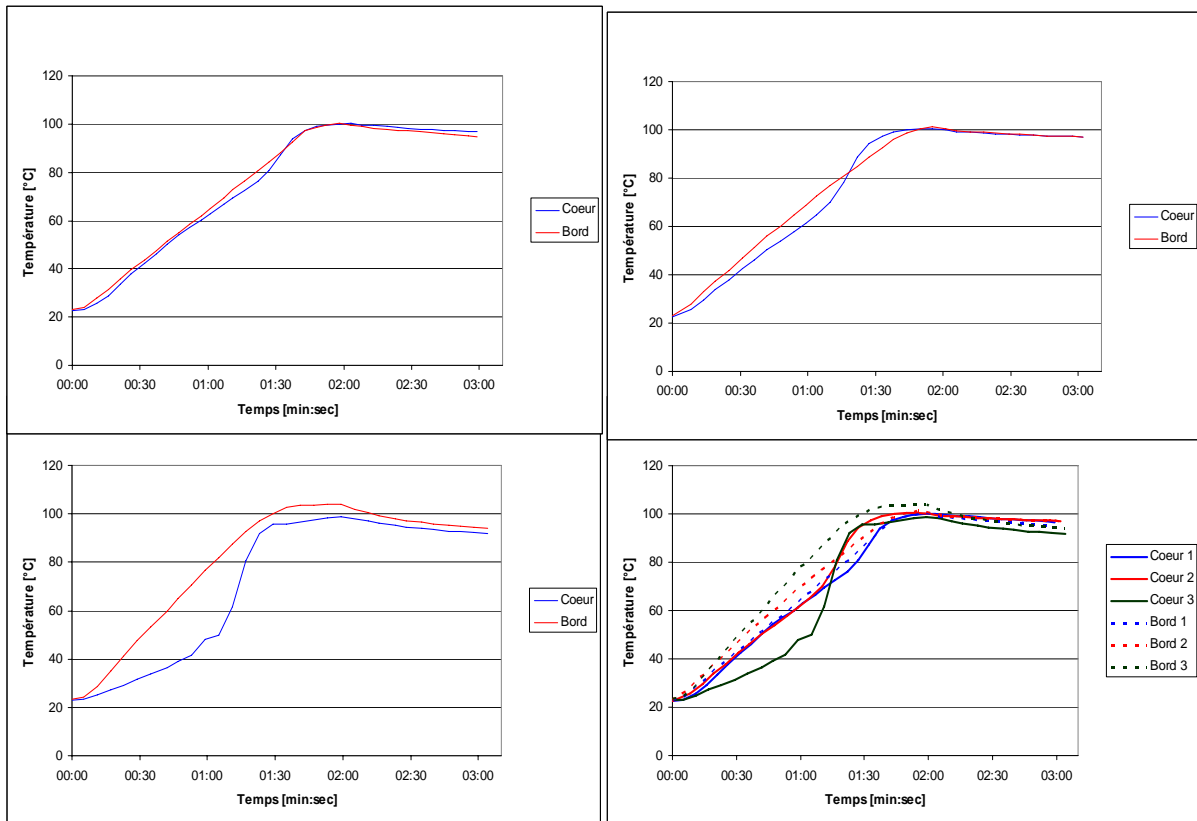


Figures A4 ; 1, 2, 3, 4 : Détection de spores de *Bacillus cereus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 650 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

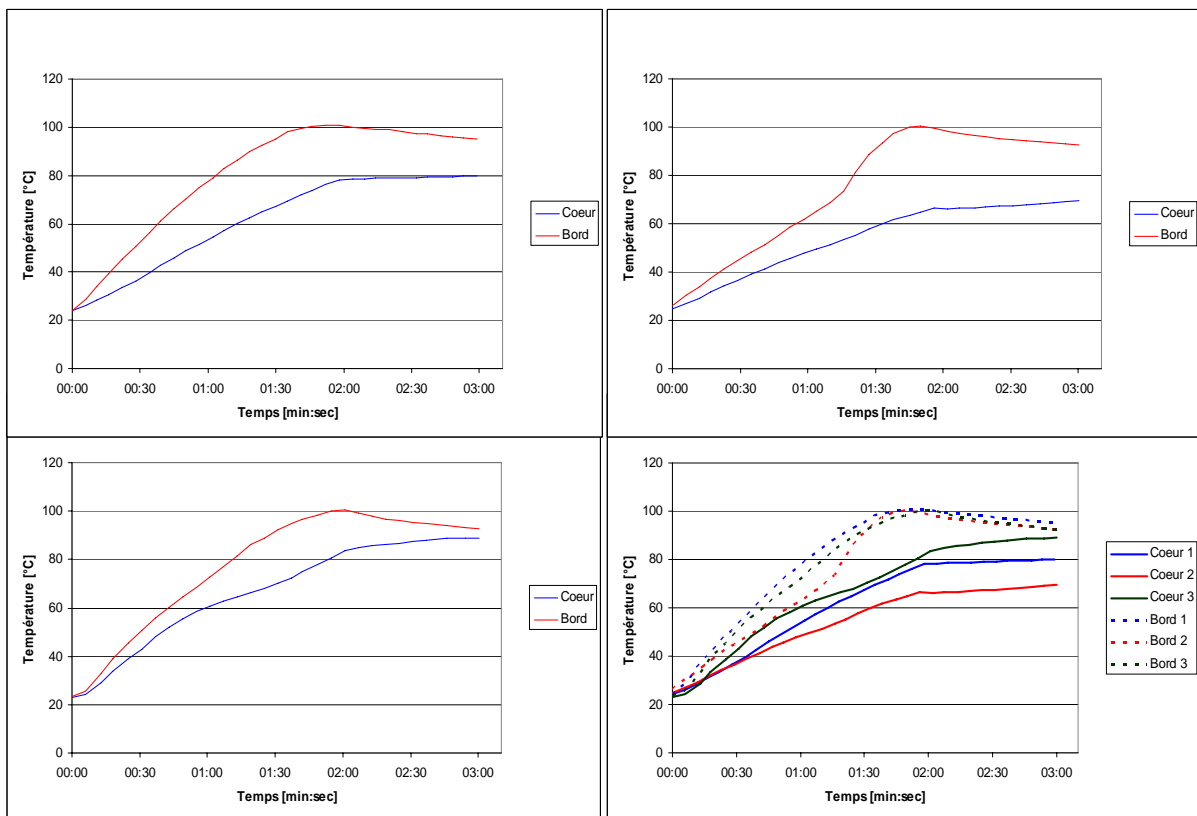


Figures A4 ; 5, 6, 7, 8 : Détection de *Bacillus cereus*, chauffage d'une portion de **riz** à 650 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- *B. cereus* : 1300 W ; 2 min (ensemencement 10^5 ufc/g)

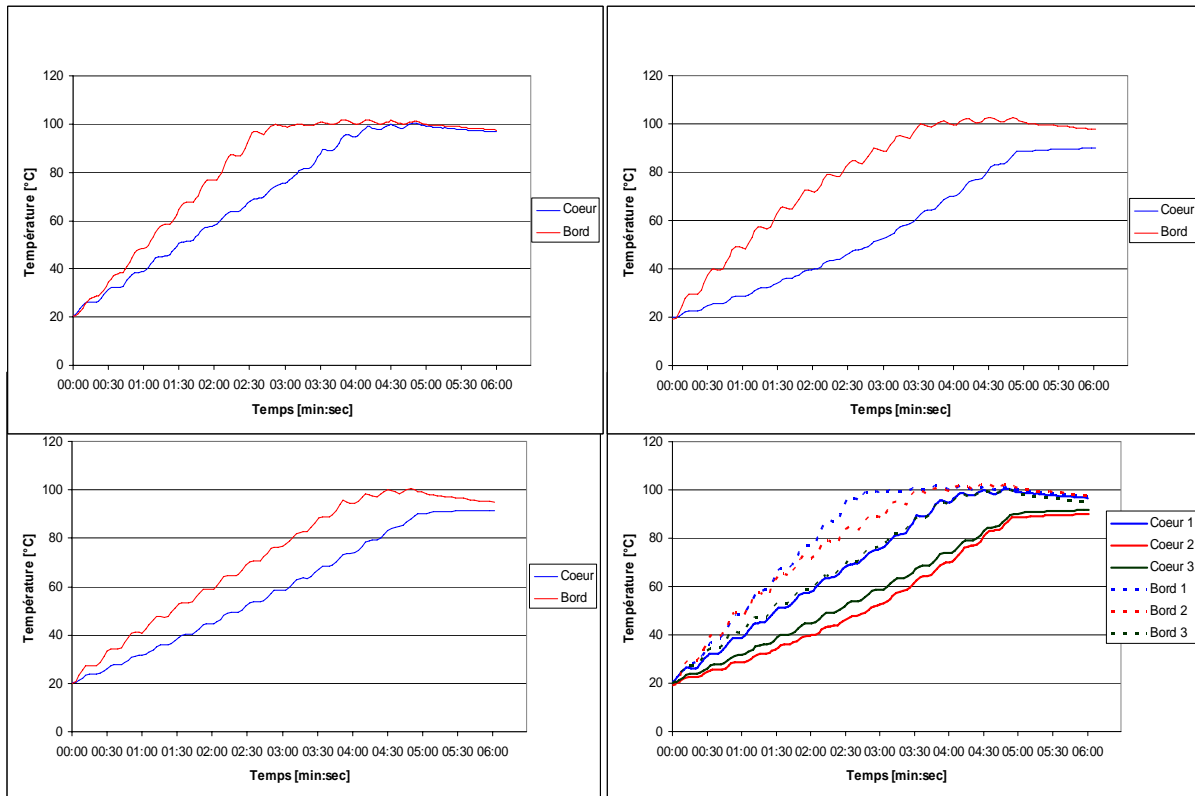


Figures A4 ; 9, 10, 11, 12 : Détection de spores de *Bacillus cereus*, chauffage d'une portion de **spaghettis** à 1300 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis



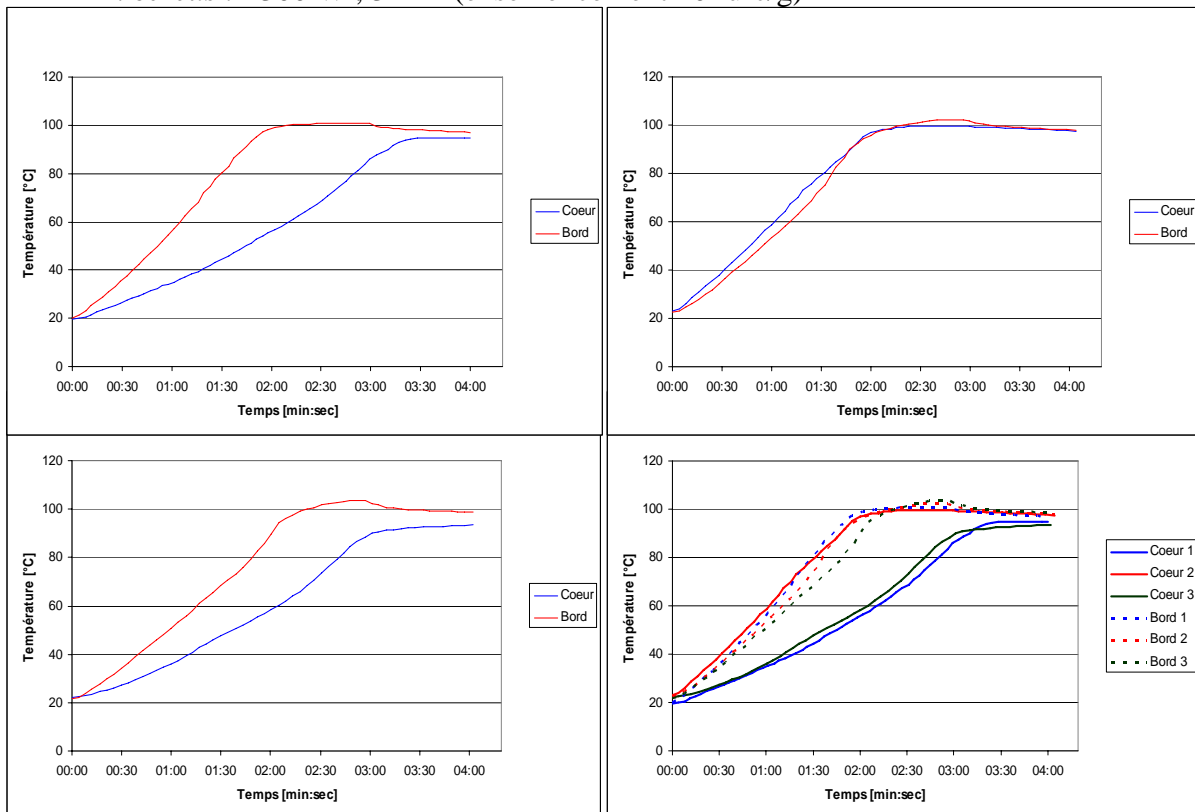
Figures A4 ; 13, 14, 15, 16 : Détection de spores de *Bacillus cereus*, chauffage d'une portion de **riz** à 1300 W pendant 2 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- *B. cereus* : 650 W ; 5 min (ensemencement 10^5 ufc/g)



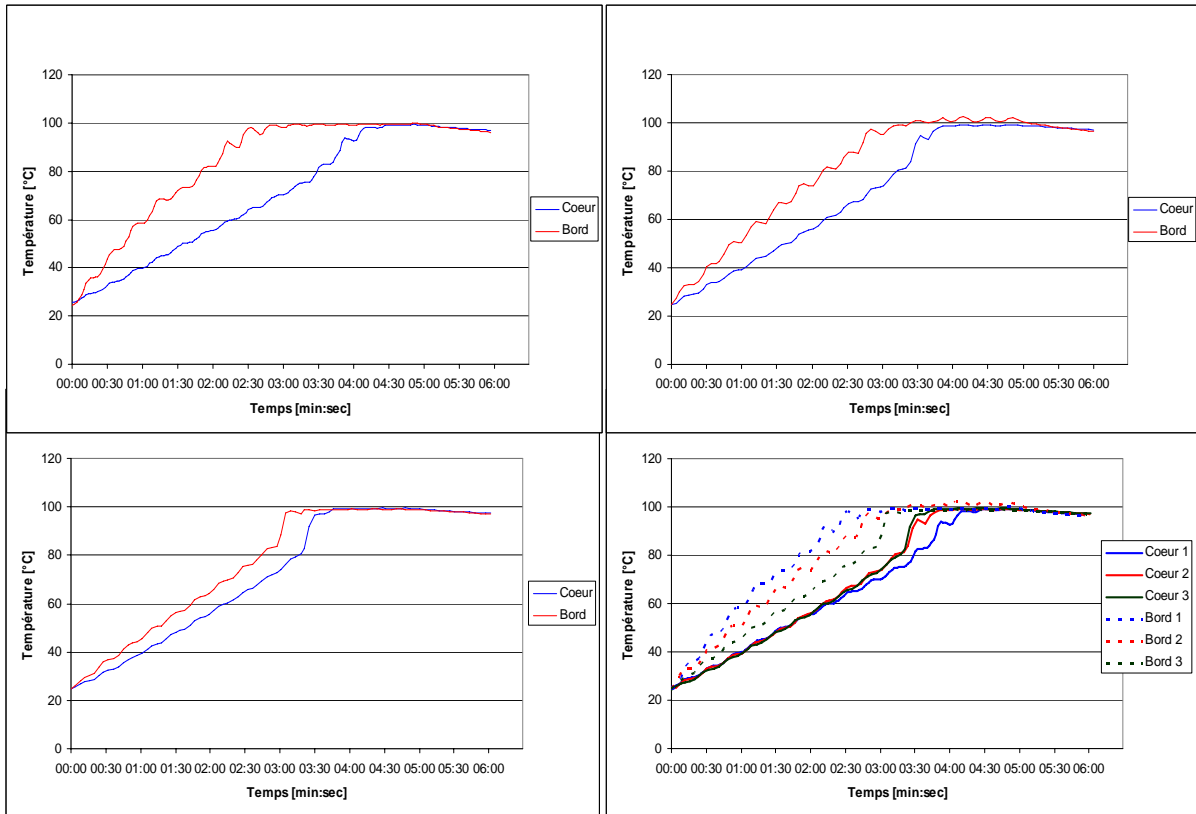
Figures A4 ; 17, 18, 19, 20 : Détection de spores de *Bacillus cereus*, chauffage d'une portion de riz à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- *B. cereus* : 1300 W ; 3 min (ensemencement 10^5 ufc/g)

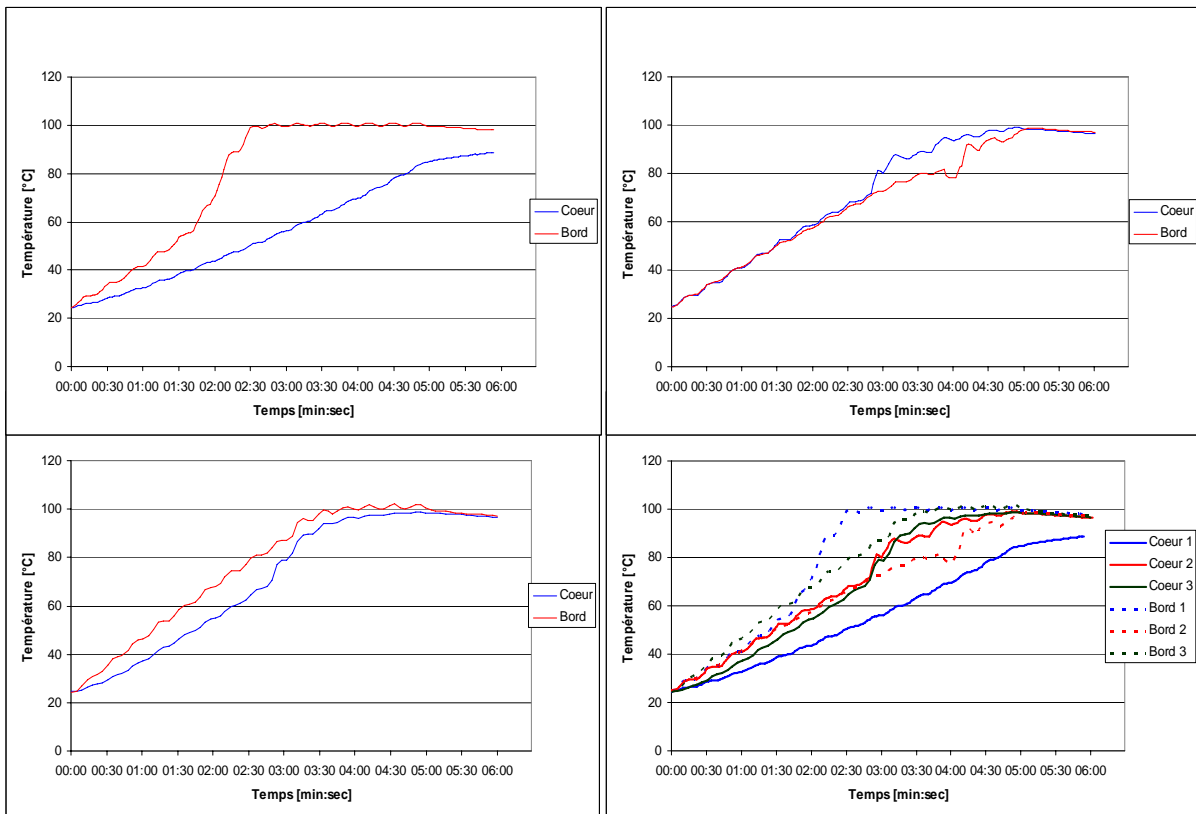


Figures A4 ; 21, 22, 23, 24 : Détection de spores de *Bacillus cereus*, chauffage d'une portion de riz à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- *B. atrophaeus* : 650 W ; 5 min (ensemencement 10^4 ufc/g)

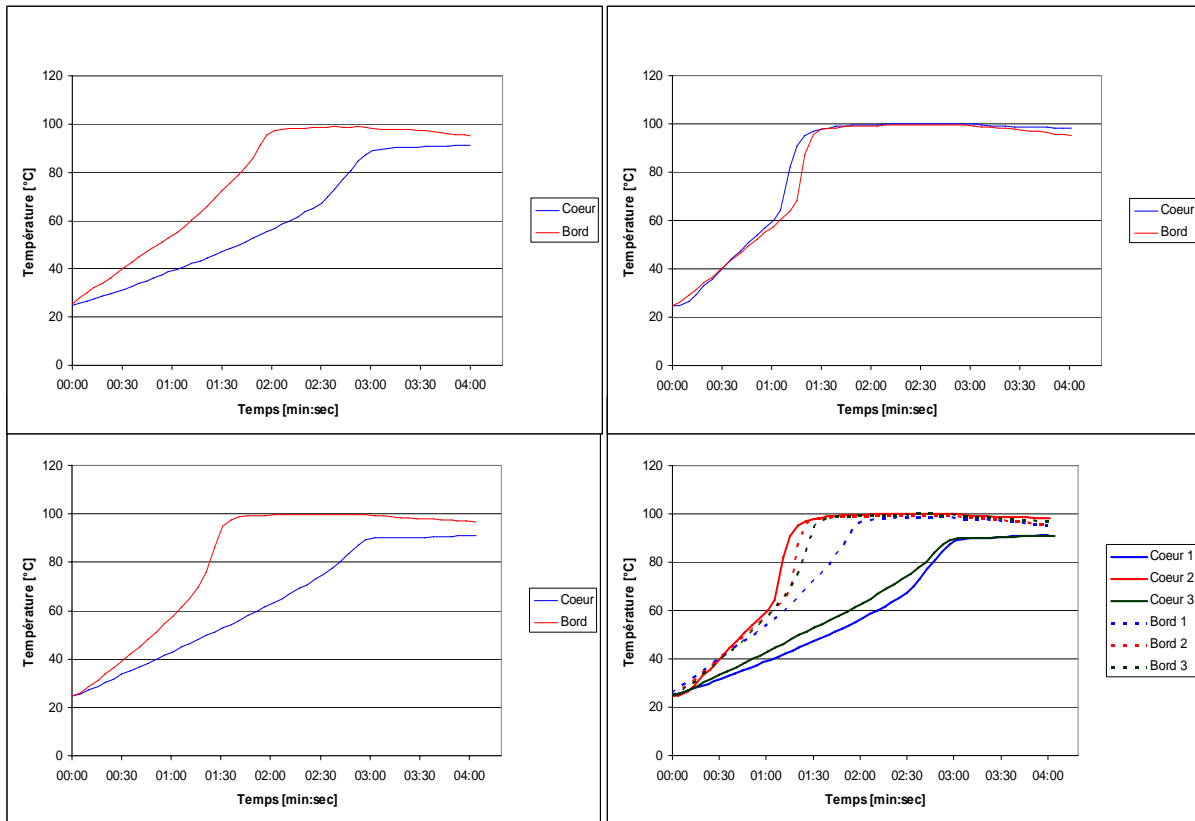


Figures A4 ; 25, 26, 27, 28 : Détection de spores de *Bacillus artophaeus*, chauffage d'une portion de spaghettis à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

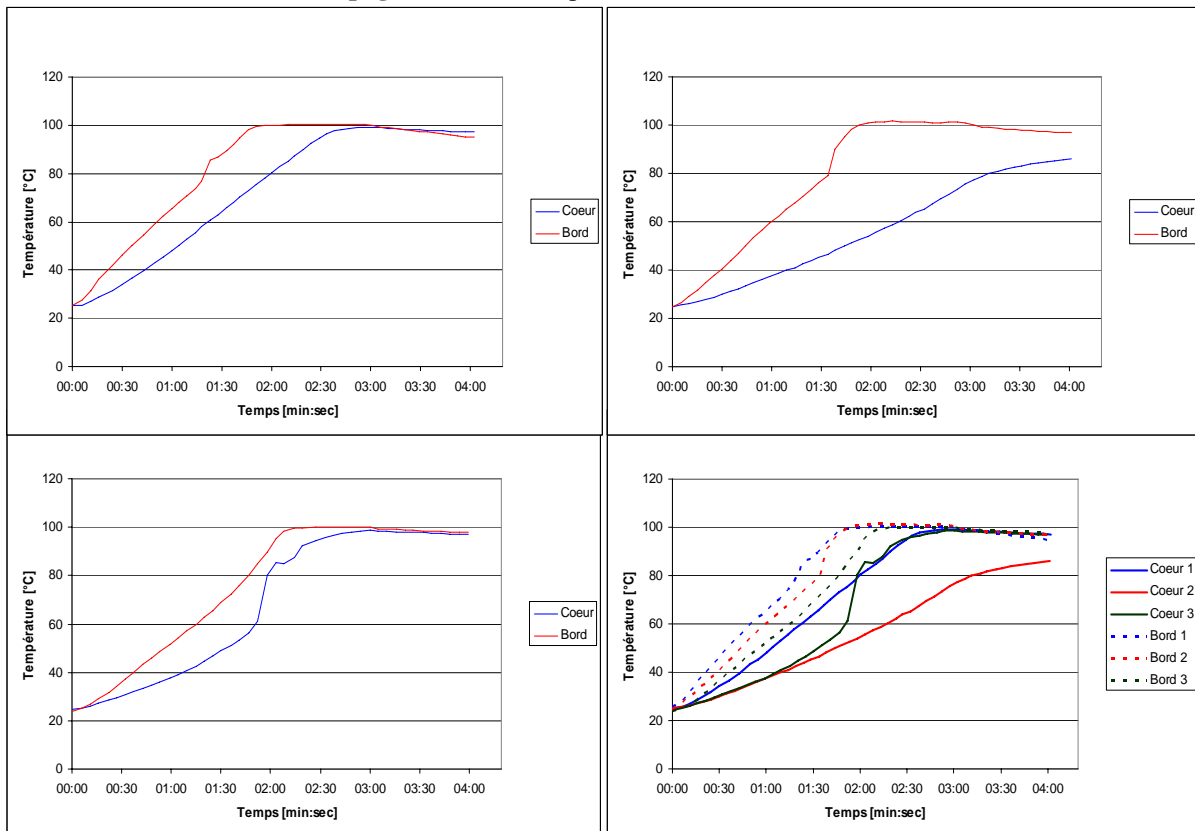


Figures A4 ; 29, 30, 31, 32 : Détection de spores de *Bacillus artophaeus*, chauffage d'une portion de riz à 650 W pendant 5 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

- *B. atrophaeus* : (ensemencement 10^4 ufc/g)



Figures A4 ; 33, 34, 35, 36 : Détection de spores de *Bacillus artophaeus*, chauffage d'une portion de spaghetti à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis



Figures A4 ; 37, 38, 39, 40 : Détection de spores de *Bacillus artophaeus*, chauffage d'une portion de riz à 1300 W pendant 3 min ; essais 1, 2, 3 et résultats réunis

Courbes de températures des essais avec les portions de riz refroidi

- 650 W ; 3 min

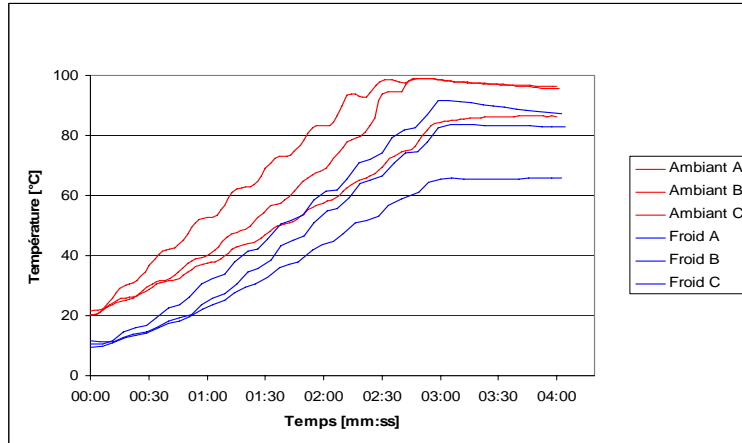


Figure A5 ; 1 : Courbes de température **au cœur** des portions de riz **en boules**, dans l'assiette à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

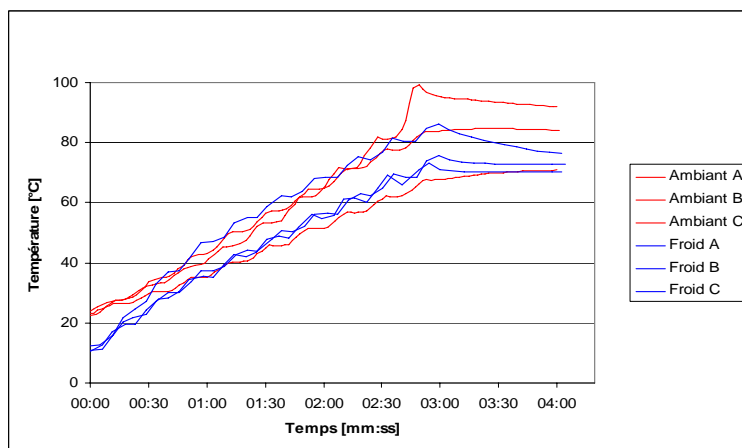


Figure A5 ; 2 : Courbes de température **au bord** des portions de riz **en boules**, dans l'assiette à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

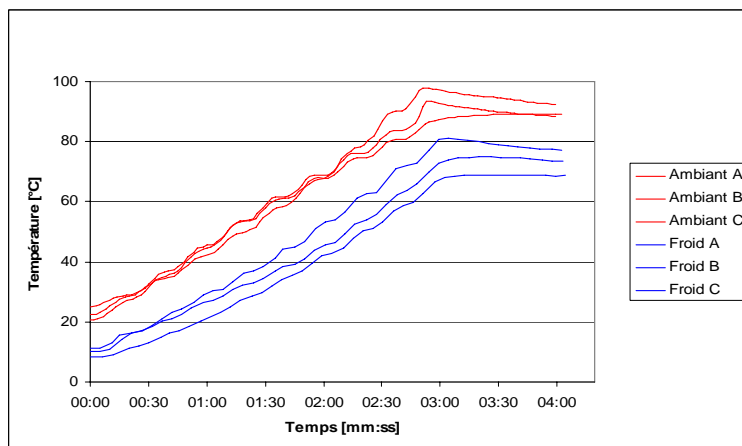


Figure A5 ; 3 : Courbes de température **au cœur** des portions de riz **aplatis**, dans l'assiette à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

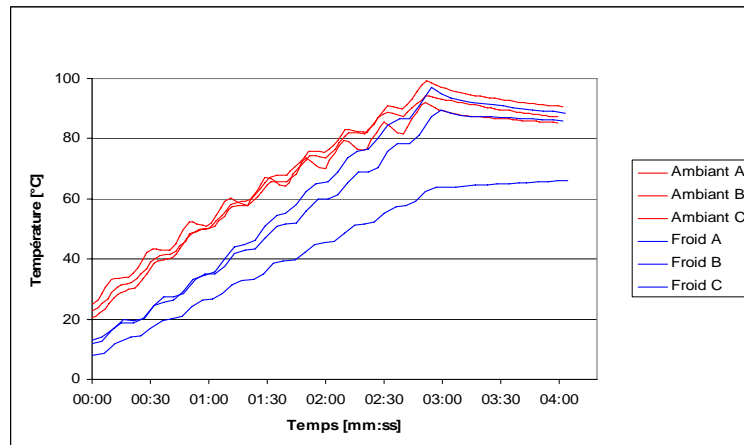


Figure A5 ; 4 : Courbes de température au bord des portions de riz en boules, dans l'assiette à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

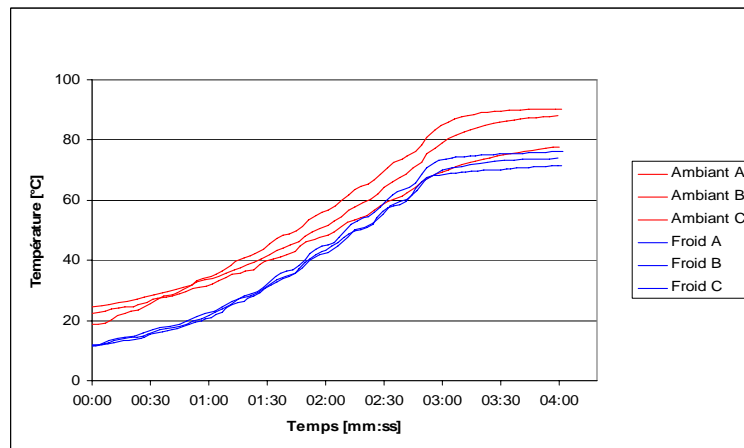


Figure A5 ; 5 : Courbes de température au cœur des portions de riz, dans le plat PYREX à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

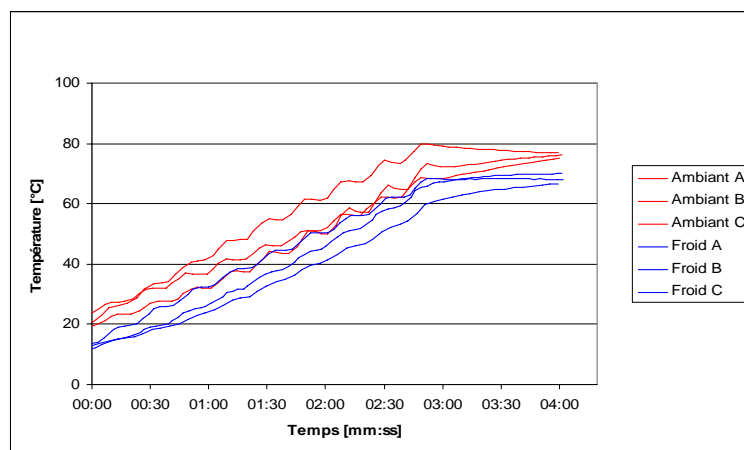


Figure A5 ; 6 : Courbes de température au bord des portions de riz, dans le plat PYREX à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

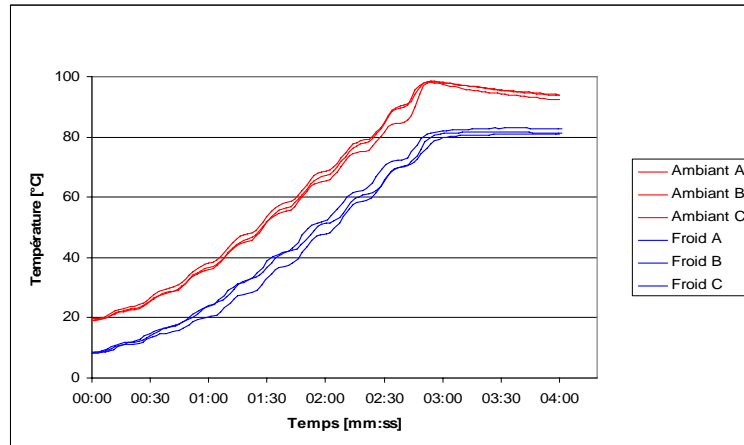


Figure A5 ; 7 : Courbes de température **au cœur** des portions de riz, dans le **plat en verre** à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

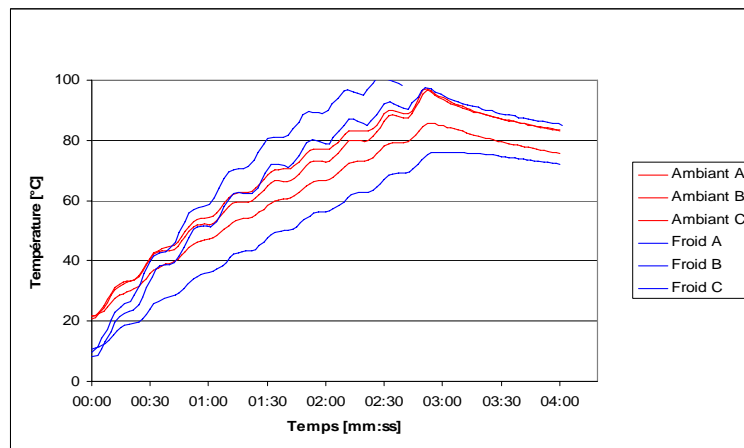


Figure A5 ; 8 : Courbes de température **au bord** des portions de riz, dans le **plat en verre** à 650 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

- 1300 W ; 3 min

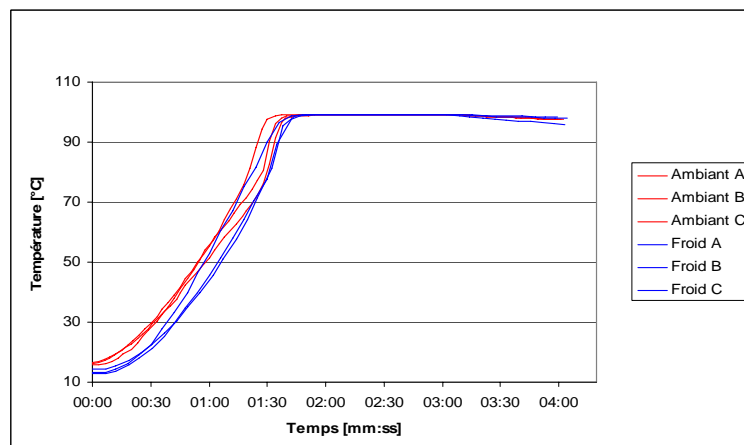


Figure A5 ; 9 : Courbes de température **au cœur** des portions de riz **en boules**, dans **l'assiette** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

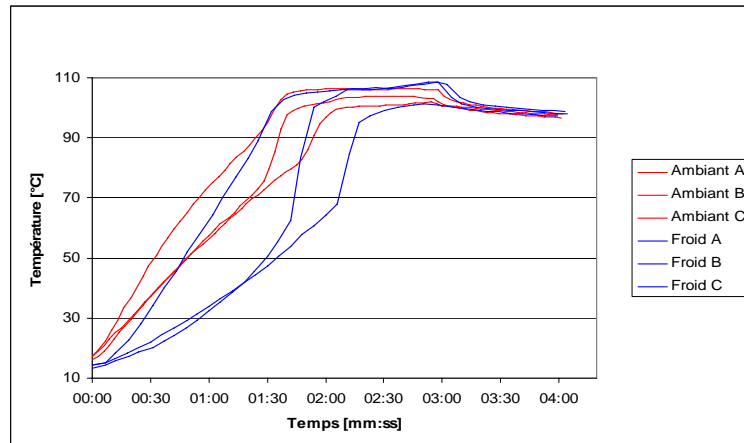


Figure A5 ; 10 : Courbes de température **au bord** des portions de riz **en boules**, dans l'assiette à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

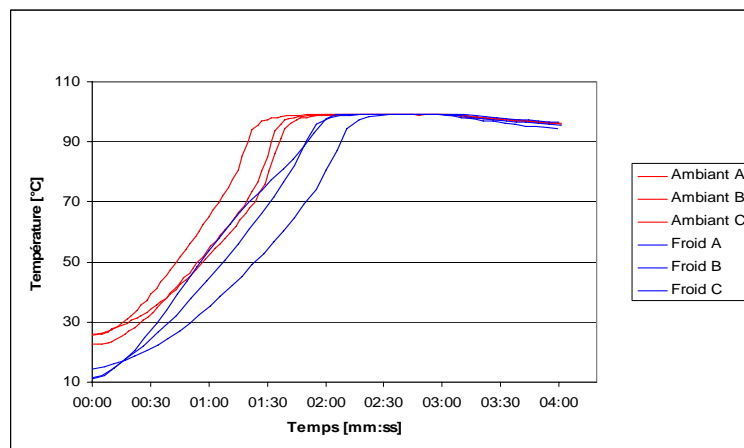


Figure A5 ; 11 : Courbes de température **au cœur** des portions de riz **aplatis**, dans l'assiette à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

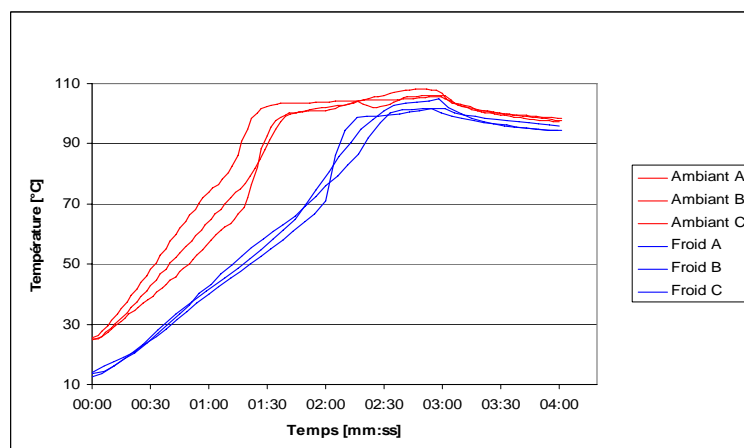


Figure A5 ; 12 : Courbes de température **au bord** des portions de riz **aplatis**, dans l'assiette à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

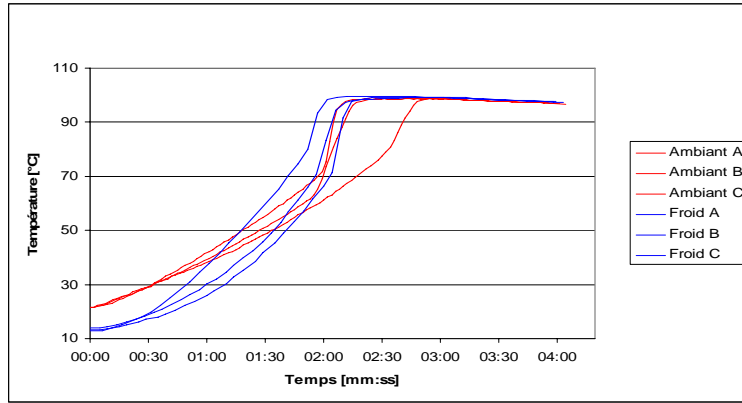


Figure A5 ; 13 : Courbes de température **au cœur** des portions de riz, dans le **plat PYREX** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

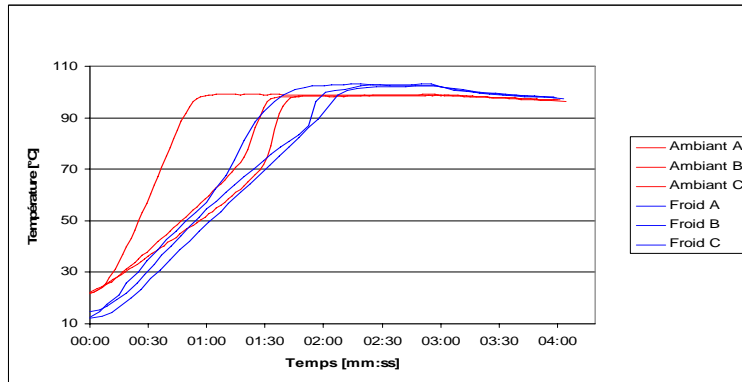


Figure A5 ; 14 : Courbes de température **au bord** des portions de riz, dans le **plat PYREX** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

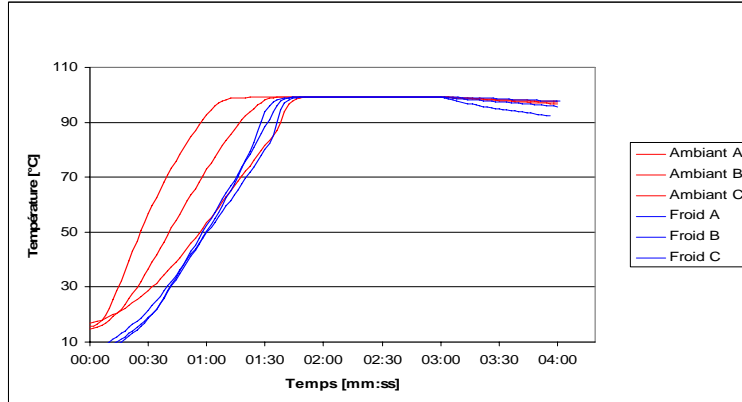


Figure A5 ; 15 : Courbes de température **au cœur** des portions de riz, dans le **plat en verre** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat

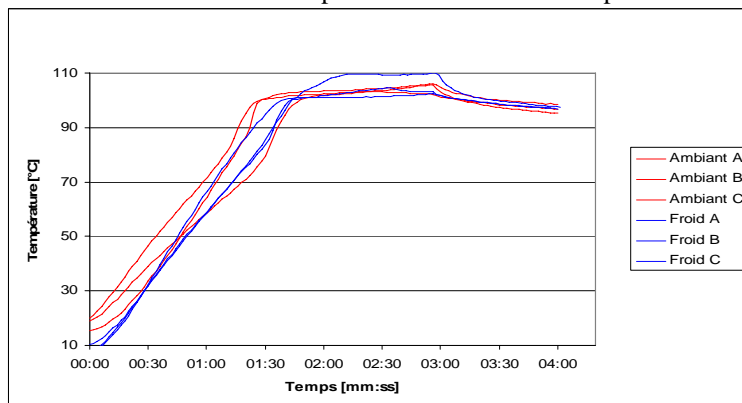


Figure A5 ; 16 : Courbes de température **au bord** des portions de riz, dans le **plat en verre** à 1300 watts pendant 3 minutes et un repos de 1 minute du plat