

DIRECTIVES POUR LA CONSERVATION DU LAIT CRU PAR LE SYSTÈME LACTOPÉROXYDASE

CAC/GL 13-1991

INTRODUCTION

Le lait constitue une matière première aisément périssable. Les bactéries susceptibles de le contaminer peuvent se multiplier rapidement, et le rendre impropre aussi bien à la transformation qu'à la consommation par l'être humain. Il est possible de ralentir la croissance des bactéries en ayant recours à la réfrigération, ce qui a pour effet de ralentir le taux auquel l'altération se produit. Certaines circonstances peuvent toutefois mettre hors de portée le recours à la réfrigération, pour des raisons d'ordre économique et/ou technique. La difficulté qu'il y a de recourir à la réfrigération dans certaines régions peut constituer un problème majeur pour les pays qui tentent de mettre sur pied ou de développer leur production de lait. Dans de telles circonstances, il serait des plus utiles de pouvoir disposer d'une méthode, autre que celle de la réfrigération, qui permettrait de ralentir la croissance des bactéries dans le lait cru au cours des opérations de collecte et de transport de celui-ci vers les usines laitières où il doit être traité.

En 1967, le Panel d'experts FAO/OMS pour la qualité du lait a estimé que l'utilisation de l'eau oxygénée pouvait constituer pour ce problème une solution de rechange acceptable au cours des premiers stades de la mise sur pied d'une industrie laitière structurée, pour autant qu'il soit satisfait à certaines conditions. La méthode en question n'a toutefois pas été adoptée de façon universelle, étant donné qu'elle présente certains inconvénients, dont le principal réside en la difficulté de contrôler la façon dont elle est utilisée; il est en effet possible d'y avoir recours en vue de dissimuler la qualité bactériologique non satisfaisante d'un lait produit dans des conditions insuffisantes d'hygiène. On a également mis en question les conséquences d'ordre toxicologique que peut avoir l'utilisation, dans le lait, d'eau oxygénée en des concentrations relativement élevées.

Il n'en demeure pas moins qu'une méthode chimique de conservation du lait présenterait de nombreux avantages dans certaines situations. Des recherches ont dès lors été poursuivies en vue de mettre au point une telle méthode. On a récemment consacré une attention particulière aux systèmes antibactériens indigènes du lait, en vue d'établir s'il y aurait moyen d'avoir recours à ceux-ci de façon pratique aux fins d'assurer la conservation du lait cru. Au cours de ces dix dernières années, la recherche, tant fondamentale qu'appliquée, a démontré qu'un de ces systèmes, le système lactopéroxydase/thiocyanate/eau oxygénée (système LP), pouvait effectivement être utilisé avec succès à cette fin.

1. OBJET

- 1.1 Le présent Code de pratique a pour objet de décrire l'utilisation du système lactopéroxydase en vue de prévenir l'altération, sous l'action des bactéries, du lait cru (d'origine bovine ou de bufflesse) au cours des opérations de collecte de transport de

celui-ci vers les usines laitières de traitement. Il énonce les principes de la méthode, décrit les circonstances dans lesquelles elle peut être utilisée, en expose l'application pratique, ainsi que la façon dont il est possible d'en assurer le contrôle. Il y a lieu de faire remarquer qu'il ne convient d'avoir recours à cette méthode que lorsqu'il n'est pas possible de procéder à la réfrigération du lait cru.

2. PRINCIPES DE LA MÉTHODE

- 2.1 Le système lactopéroxydase/thiocyanate/eau oxygénée est un système antibactérien indigène dont on constate la présence dans le lait ainsi que dans la salive de l'être humain. L'on trouve la lactopéroxydase enzymatique dans le lait d'origine bovine et dans celui de bufflesse, en des concentrations relativement élevées. Elle peut oxyder les ions de hypothiocyanate en présence de l'eau oxygénée. Cette réaction a pour effet de convertir le thiocyanate en acide d'hypothiocyanate (HOSCN). Au pH du lait, le HOSCN est dissocié, et se présente principalement sous la forme d'ions d'hypothiocyanate (OSCN). Cet agent réagit de manière spécifique avec les groupes sulphydryles libres, rendant de la sorte inactives diverses enzymes métaboliques vitales des bactéries, ce qui a pour effet de bloquer leur métabolisme, et la possibilité de se multiplier. Étant donné que les protéines du lait ne contiennent que très peu de groupes sulphydryles, et que ceux qui y sont présents sont relativement peu accessibles aux OSCN⁻ (masqués), ce composé a dans le lait une réaction toute particulière, dirigée contre les bactéries qui sont présentes dans celui-ci.
- 2.2 L'effet que subissent les bactéries varie d'après leur souche et leur espèce. À l'encontre d'une flore mixte de lait cru, où prédominent les bactéries mésophiles, cet effet est bactériostatique (principalement inhibitoire). À l'encontre de certaines bactéries gram-négatives, c'est-à-dire pseudomonades, *Escherichia coli*, l'effet est bactéricide. Étant donné l'effet principalement bactériostatique qu'a le système, il n'est pas possible de se servir de la méthode pour dissimuler la qualité insuffisante d'un lait qui, au départ, contenait une population bactérienne élevée.
- 2.3 Les produits antibactériens de l'oxydation du thiocyanate ne présentent, à un pH neutre, aucune stabilité. Tout excédent de ces produits se décompose en thiocyanate de façon spontanée. La vitesse de cette réaction est fonction de la température, c'est-à-dire qu'elle est d'autant plus rapide que la température est élevée. La pasteurisation du lait assurera une élimination complète de toute concentration résiduelle des produits actifs de l'oxydation.
- 2.4 L'oxydation du thiocyanate ne se produit pas dans une très grande mesure dans le lait lorsque celui-ci a quitté la mamelle. Cette oxydation peut toutefois être amorcée par l'addition d'eau oxygénée en petites quantités (voir Section 4). Les concentrations élevées (300-800 ppm) auxquelles l'on utilise l'eau oxygénée pour assurer la conservation du lait détruisent la lactopéroxydase enzymatique, et empêchent l'oxydation du thiocyanate. Dans cette méthode, l'effet antibactérien est donc un effet de l'eau oxygénée elle-même.

- 2.5 Dans certaines limites, l'effet antibactérien du système LP est proportionnel à la concentration du thiocyanate dans le lait (à condition qu'une quantité équimolaire d'eau oxygénée y ait été ajoutée). Le taux du thiocyanate présent dans le lait est fonction de la façon dont le bétail est nourri, et peut donc varier. Pour être utilisée de façon pratique, la méthode requiert par conséquent que l'on ajoute dans le lait une certaine quantité de thiocyanate, en vue de faire en sorte que l'on y atteigne bien le taux nécessaire pour produire l'effet désiré.
- 2.6 Les taux de thiocyanate que fait atteindre ce traitement n'excèdent pas les taux physiologiques que l'on a observés dans le lait en certaines circonstances et dans certains régimes alimentaires donnés. Ils sont également bien moins élevés que les taux de thiocyanate dont on connaît l'existence dans la salive humaine et dans certains légumes courants, tels que le chou et le chou-fleur. En outre, les résultats d'expériences cliniques ont clairement démontré que le lait traité selon cette méthode n'affecte en rien l'absorption d'iode par la glande thyroïde, que ce soit auprès des personnes dont le taux d'iodémie est normal, ou auprès de celles qui souffrent d'une insuffisance d'iode.

3. UTILISATION PROJETÉE DE LA MÉTHODE

- 3.1 La méthode est destinée à être mise en oeuvre en des circonstances dans lesquelles, en raison de difficultés d'ordre technique, économique et/ou pratique, il n'est pas possible d'avoir recours à la réfrigération pour maintenir au lait cru sa qualité. Si l'on pouvait utiliser le système LP dans les régions où il n'existe pas encore d'infrastructure permettant de procéder à la collecte du lait de consommation, l'on parviendrait à assurer la production d'un lait qui constituerait un aliment salubre et sain, chose qu'il ne serait pratiquement pas possible de réaliser autrement.
- 3.2 La méthode n'est pas destinée à être appliquée par les producteurs de lait individuels; elle doit être mise en oeuvre dans les centres ou points de collecte appropriés. Ces centres doivent être équipés des installations adéquates pour nettoyer et désinfecter les récipients utilisés pour recueillir et transporter le lait.
- 3.3 C'est au personnel responsable de la collecte du lait que devrait être confié le soin d'assurer le traitement de ce lait. Les membres de ce personnel devraient avoir reçu une formation adéquate, comprenant l'enseignement des notions générales d'hygiène laitière, qui leur permettrait d'assurer convenablement cette tâche.
- 3.4 C'est à la laiterie qui assure le traitement du lait recueilli en utilisant le système lactopéroxydase que devrait incomber la responsabilité de s'assurer que la méthode est bien appliquée comme il convient. Cette laiterie se doit de mettre en oeuvre les méthodes de contrôle appropriées (voir Section 5) lui permettant de s'assurer tant de la façon dont la méthode est appliquée, que de la qualité du lait cru et de la qualité du lait préalablement à sa transformation.
- 3.5 La méthode devrait être employée en ordre principal en vue de prévenir la multiplication des bactéries dans le lait cru, au cours de la collecte et du transport de ce lait vers l'usine laitière où il doit être procédé à sa transformation, dans les conditions énoncées

au point 3.1. L'effet inhibitoire du traitement dépend de la température à laquelle le lait est entreposé; des expériences effectuées dans différents pays, tant en laboratoire que sur le terrain, avec du lait cru d'une qualité bactériologique satisfaisante, ont fait apparaître que la durée pendant laquelle ces effets inhibitoires exercent leur action varie comme suit:

Température, en °C	Temps, en heures
30	7-8
25	11-12
20	16-17
15	24-26

3.6 Le recours à la méthode de lactopéroxydase ne permet pas d'éviter la nécessité de pasteuriser le lait préalablement à sa consommation par l'être humain. Il ne permet pas non plus de se passer des précautions ni des procédés auxquels on a normalement recours en vue d'assurer au lait cru un degré d'hygiène élevé.

4. APPLICATION PRATIQUE DE LA MÉTHODE

4.1 En vue d'obtenir les effets antibactériens cités plus haut, il est possible d'activer le système lactopéroxydase dans le lait cru, en y ajoutant du thiocyanate, tel que le thiocyanate de sodium, et de l'eau oxygénée, sous forme de percarbonate de sodium, selon le processus suivant:

- On ajoute 14 mg de NaSCN par litre de lait. Le lait doit alors être mélangé en vue de faire en sorte que le SCN⁻ se répartisse uniformément. Un brassage d'une minute environ au moyen d'un pilon propre peut normalement suffire à cet effet.
- On ajoute en second lieu 30 mg de percarbonate de sodium par litre de lait. Le lait est ensuite brassé pendant 2 à 3 minutes afin d'assurer la dissolution complète du percarbonate de sodium, ainsi que la répartition uniforme de l'eau oxygénée dans le lait.

4.2 Il est impératif d'ajouter le thiocyanate de sodium et le percarbonate de sodium dans l'ordre indiqué ci-dessus. La réaction enzymatique débute dans le lait lorsque l'on y ajoute l'eau oxygénée (percarbonate de sodium). Elle s'achève dans les quelques 5 minutes qui suivent l'addition de H₂O₂, après quoi, on ne trouve plus d'hydrogène dans le lait.

4.3 L'activation du système lactopéroxydase doit être effectuée dans les 2-3 heures qui suivent le moment de la traite.

4.4 Les quantités de thiocyanate de sodium et de percarbonate de sodium nécessaires au traitement d'un volume donné de lait (par exemple celui que contiennent les bidons de 40 ou de 50 litres) devraient être fournies aux centres ou aux points de collecte dans des emballages contenant les quantités nécessaires pour quelques semaines à la fois. Les spécifications techniques du thiocyanate et du percarbonate de sodium qu'il convient d'utiliser figurent dans les Appendices I et II.

5. CONTRÔLE DE L'UTILISATION

- 5.1 L'utilisation du système lactopéroxydase en vue d'assurer la conservation du lait cru doit être contrôlée par l'usine laitière qui reçoit le lait. Ce contrôle devrait consister en un ensemble d'épreuves d'acceptation effectuées de façon courante, telles que l'épreuve d'acidité titrable, les épreuves au bleu de méthylène, à la résazurine, la numération totale des cellules viables, ainsi qu'en des analyses de la concentration du thiocyanate dans le lait. Comme le thiocyanate n'est pas consommé au cours de la réaction, le lait traité arrivant à l'usine laitière devrait contenir approximativement, par litre, 10 mg de thiocyanate de plus que la quantité que l'on y trouve naturellement (il est possible de déterminer cette dernière en analysant du lait non traité provenant de la même région). La méthode d'analyse du SCN⁻ est décrite à l'Appendice III. Les contrôles devraient être effectués par sondage. Si la concentration du thiocyanate s'avère trop (ou trop peu) élevée, il y a lieu de rechercher les raisons pour lesquelles cette concentration se situe en dehors des limites spécifiées. Il incombe également à l'usine laitière d'effectuer le contrôle des produits chimiques destinés à être utilisés dans les centres de collecte en vue d'assurer l'activation du système lactopéroxydase.
- 5.2 Il convient également de procéder à l'analyse de la qualité bactériologique du lait (au moyen des épreuves au bleu de méthylène, à la résazurine, par la numération totale sur boîte de Petri), et ce aux fins de s'assurer que les règles d'hygiène convenables ont bien été observées. Comme les effets du système sont principalement bactériostatiques, les épreuves en question peuvent toujours révéler la présence dans le lait, à l'origine, d'une population bactérienne élevée.

APPENDICE I

SPÉCIFICATION TECHNIQUE DU THIOCYANATE DE SODIUM

Définition

Nom chimique	Thiocyanate de sodium
Formule chimique	NaSCN
Poids moléculaire	81,1
Teneur d'essai	98-99 %
Humidité	1-2 %

Pureté (d'après les spécifications du JECFA*)

Métaux lourds (tels que Pb)	< 2 ppm
Sulfates (SO ₄)	< 50 ppm
Sulfures (S)	< 10 ppm

* Comité conjoint d'experts FAO/OMS pour les additifs alimentaires.

APPENDICE II

SPÉCIFICATION TECHNIQUE DU PERCARBONATE DE SODIUM

Definition

Nom chimique	Percarbonate de sodium (*)
Formule chimique	2Na ₂ CO ₃ ·3H ₂ O
Poids moléculaire	314,0
Teneur d'essai	85 %

Le percarbonate de sodium disponible dans le commerce, et dont l'utilisation est recommandée, répond à la spécification suivante:

Péroxyhydrate carbonate de sodium	> 85 %
Métaux lourds (tels que Pb)	< 10 ppm
Arsenic (tel que As)	< 3 ppm

* Pour savoir où il est possible de se procurer dans le commerce du percarbonate de sodium, on peut s'adresser au Secrétariat général de la FIL, 41 Square Vergote, B-1040 Bruxelles, Belgique.

APPENDICE III

ANALYSE DU THIOCYANATE DANS LE LAIT

Principe

Le thiocyanate peut être déterminé dans le lait, après déprotéinisation au moyen d'acide trichloracétique (ATC), en tant que complexe ferrique, en mesurant l'absorbance à 460 nm. Le niveau minimum de détection que permet d'atteindre cette méthode est de 1 à 2 ppm de SCN⁻.

Solutions réactives

1. Acide trichloracétique à 20 % (p/v): on dissout 20 g d'ATC dans 100 ml d'eau distillée, et on filtre.
2. Réactif au nitrate ferrique: l'on dissout 16,0 g Fe(NO₃)₃·9H₂O dans 50 ml 2 M HNO₃* et on dilue ensuite avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml. La solution doit être conservée dans l'obscurité et au frais.

* On obtient 2 M HNO₃ en diluant 138,5 ml de HNO₃ à 65 % jusqu'à 1 000 ml avec de l'eau distillée.

Détermination

On mélange 4,0 ml de lait avec 2,0 ml de solution d'ATC à 20 %. Cet ensemble est bien mélangé, et on le laisse ensuite reposer pendant 30 minutes au moins. On le filtre ensuite au moyen d'un papier filtre convenable (Whatman N° 40). On mélange alors 1,5 ml du filtrat clair avec 1,5 ml du réactif au nitrate ferrique, et on mesure l'absorbance à 460 nm. Pour l'essai à blanc, on utilise un mélange de 1,5 ml de solution de nitrate ferrique et de 1,5 ml d'eau. Il y a lieu d'effectuer la mesure dans les 10 minutes qui suivent l'addition de la solution de nitrate ferrique, car le complexe coloré ne demeure pas stable longtemps. On détermine ensuite la concentration du thiocyanate par comparaison avec des solutions étalons dont le taux de concentration du thiocyanate est connu, par exemple 10, 15, 20 et 30 µg/ml de thiocyanate.