HAL
open science

Design de communautés bactériennes pour fermenter de nouveaux aliments à base de légumineuses

Anne Thierry

To cite this version:

Anne Thierry. Design de communautés bactériennes pour fermenter de nouveaux aliments à base de légumineuses. WEBINAIRE Aliments Fermentés 24-25 mai 2018, Institut National de Recherche Agronomique (INRA). UAR Département Microbiologie et Chaîne Alimentaire (1194)., May 2018, Paris, France. hal-01795996

HAL Id: hal-01795996

https://hal.science/hal-01795996v1

Submitted on 5 Jun 2020

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

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

Design de communautés bactériennes pour fermenter de nouveaux aliments à base de légumineuses

Anne Thierry
Valérie Gagnaire
(STLO, INRA Rennes)

Webinar Mica 24-25 mai 2018

- Objectifs
- Stratégies de design
- Exemples de résultats

  projets MiLLup et CoLeg

Pourquoi designer des communautés ?

Pourquoi une communauté et pas une souche ?

→ Une souche ne peut apporter seule toutes les fonctionnalités attendues (propriétés sensorielles, techno-fonctionnelles, nutrition/santé…)

Caractérisation de communautés dans des aliments fermentés traditionnels
→ diversité au niveau espèces et au niveau infraspécifique
Ex : diversité de biotypes de *S. thermophilus* dans 3 fromages traditionnels italiens
(De Filippis, Plos one 2014)

Des communautés pour quels aliments fermentés ?

- Aliments fermentés traditionnels ou non
- Nouveaux aliments fermentés attendus dans le contexte de la durabilité des systèmes alimentaires : produits laitiers enrichis en protéines végétales, «yaourts végétaux », « vromages »,…

  plusieurs projets dans département Mica

  (STLO, GMPA, Micalis-ComBac, LISBP)

Quels aliments fermentés ?

- Aliments fermentés traditionnels ou ‘industriels’

Objectifs?

- assurer une meilleure régularité de la qualité des productions
- ‘reproduire’ les propriétés observées dans ferm traditionnelles
- apporter des propriétés supplémentaires aux propriétés sensorielles :
  - ex : activités antimicrobiennes, propriétés anti-inflammatoires

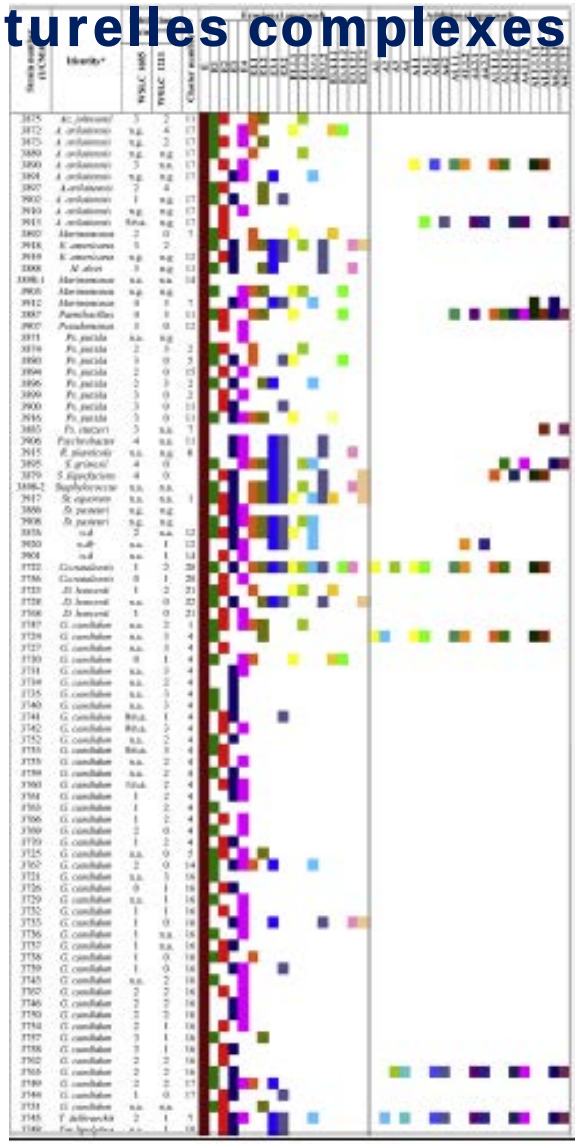
Approches

Empirique : méthode essai-erreur

Scientifique : démarche de simplification par étapes de communautés naturelles complexes

➡ ***exemples***

Exemples de stratégies de design de communautés par simplification de communautés naturelles complexes



- INRA GMPA : communauté simplifiée apportant la même flaveur (Livarot)

  82 souches bact et levures → 10 souches

  (Bonaïti, JDS 2005)

- INRA Aurillac, Univ Caen : design of consortia anti-*Listeria*

  à partir d'un consortium anti-*Listeria* indéfini

  → 89 souches de levures et bactéries

  → communauté active de 6 souches

  Comparaison avec approches par addition

  → communauté différente de 5 souches

  (Imran, FM, 2010)

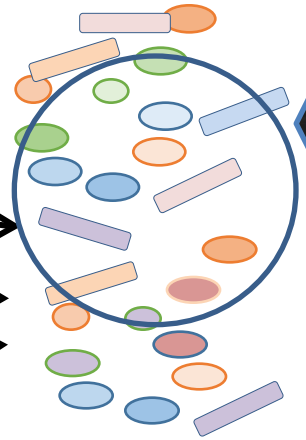
Quels aliments fermentés ?	Objectifs?	Approches
• Aliments fermentés traditionnels ou 'industriels'	• assurer une meilleure régularité de la qualité des productions • 'reproduire' les propriétés observées dans ferm traditionnelles • apporter des propriétés supplémentaires aux propriétés sensorielles : ex : activités antimicrobiennes, propriétés anti-inflammatoires	Empirique : méthode essai-erreur Scientifique : démarche de simplification par étapes de communautés naturelles complexes
• **Nouveaux aliments fermentés**	• Apporter propriétés sensorielles et nutritionnelles attendues	Scientifique : Design raisonné

Stratégies de design de communautés microbiennes *de novo*

Biotopes variés

Cirm

Collection

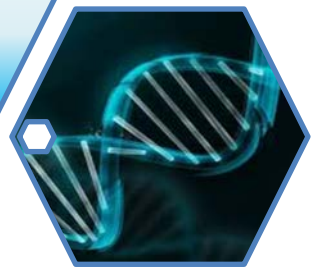


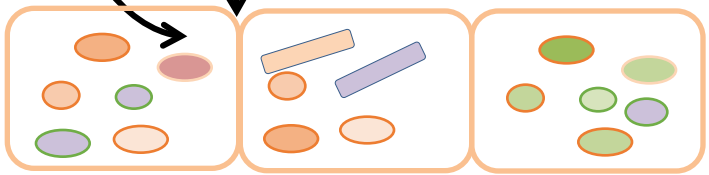
Sur quelles bases associer les souches ?

Littérature

Génomes

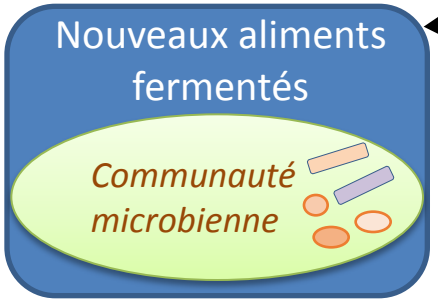
Criblage





Communautés de souches

Quelles espèces ?
Quelles souches ?
Importance du biotope d'origine ?
…



Critères d'évaluation : croissance, métabolites, fonctionnalités (flaveur, digestibilité,…)

Example 1 : AIC MiLLup : design de consortia bactéries lactiques pour fermenter des Mixtes Lait Lupin

2016-2017, STLO Rennes, LISBP Toulouse, Maiage Jouy

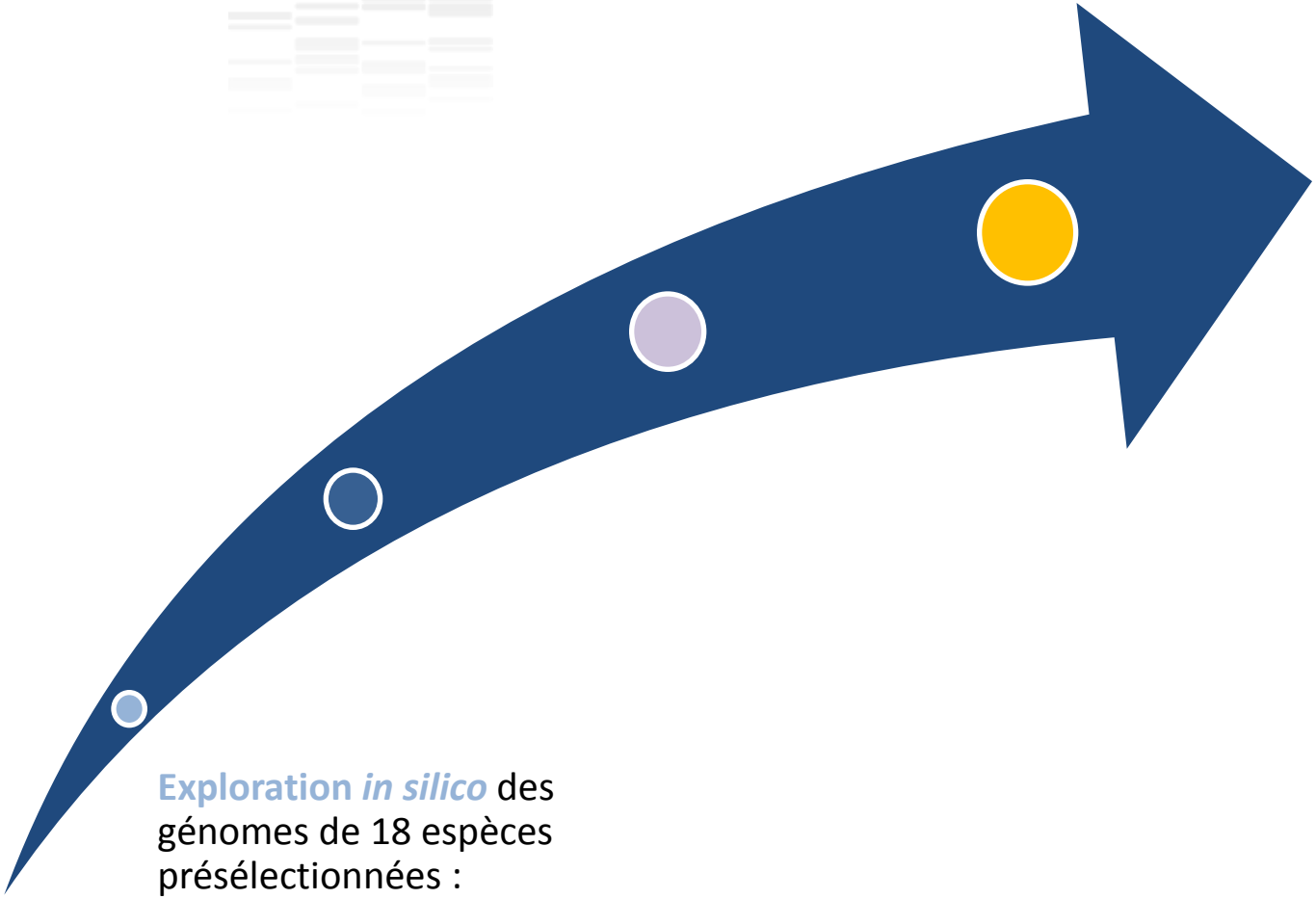
Comment fonctionnaliser par la fermentation de nouvelles matrices alimentaires à base de lait et de légumineuses ?

mixtes de lait et
de farine de lupin

bactéries lactiques
mésophiles
homofermentaires

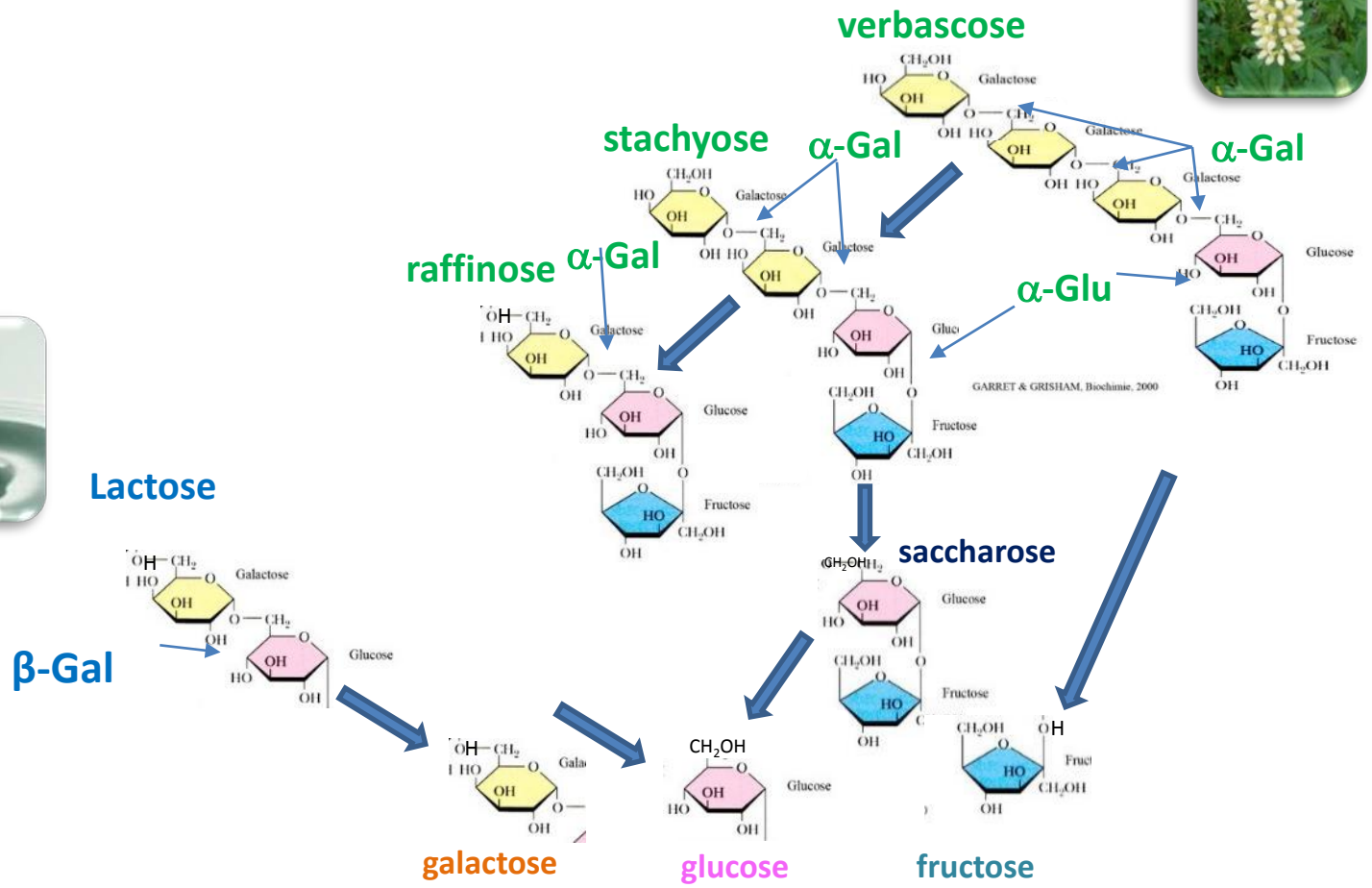
- **Objectif** : Moduler la concentration du produit fermenté en oligosaccharides du lupin (cause de ballonnements) et en protéines (cause d'allergie, production peptides d'intérêt santé et digestibilité)
- **Stratégie** : Concevoir des communautés de souches de bactéries lactiques sur la base de leur complémentarité métabolique

Stratégie projet MiLLup



Exploration *in silico* des génomes de 18 espèces présélectionnées : utilisation des sucres

Exploration *in silico* : recherche de la prévalence des gènes codant pour des enzymes impliquées dans l'hydrolyse des sucres du milieu



Stratégie projet MiLLup

Conception et test des communautés bactériennes

***Clustering* des souches**

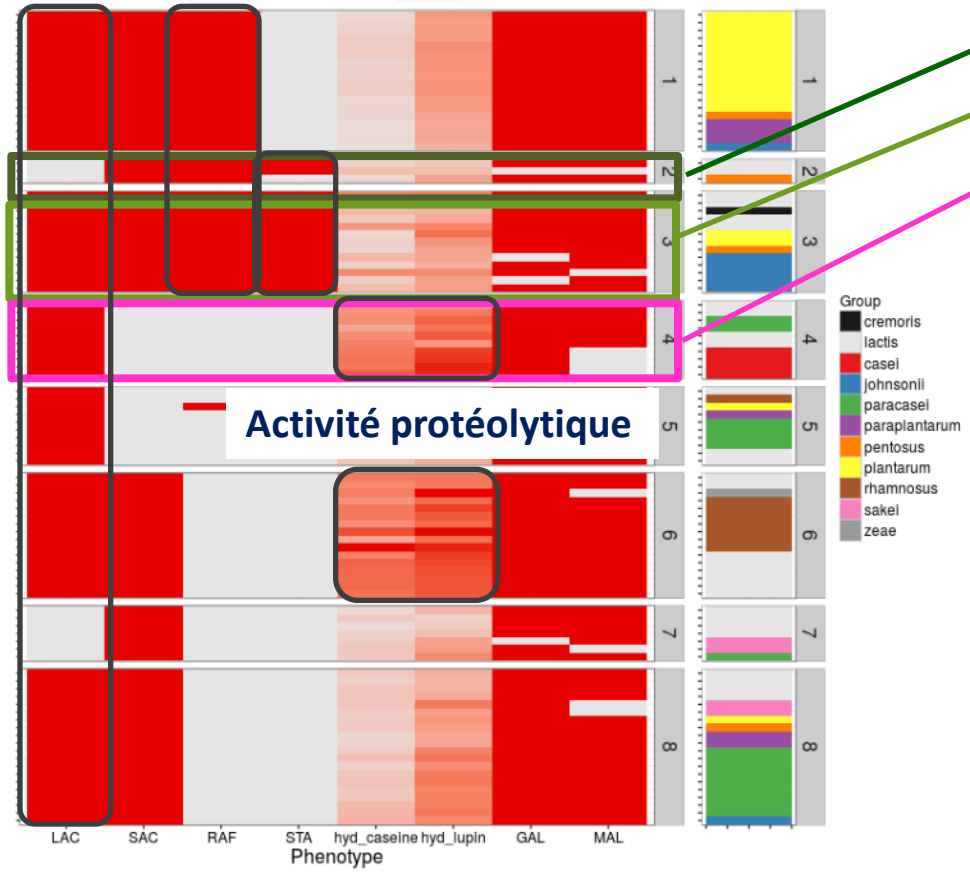
Criblage *in vitro* de souches appartenant aux espèces sélectionnées : fermentation sucres et activité protéolytique

Exploration *in silico* des génomes de 18 espèces présélectionnées : utilisation des sucres

➡ sélection de 10 espèces bactériennes contenant des gènes d'intérêt (*Lactoccocus* et *Lactobacillus*)

MiLLup : Résultats de clustering et principe d'association des souches

Fermentation raffinose/stachyose moins répandue



Fermentation lactose largement distribuée : 200 souches/ 219

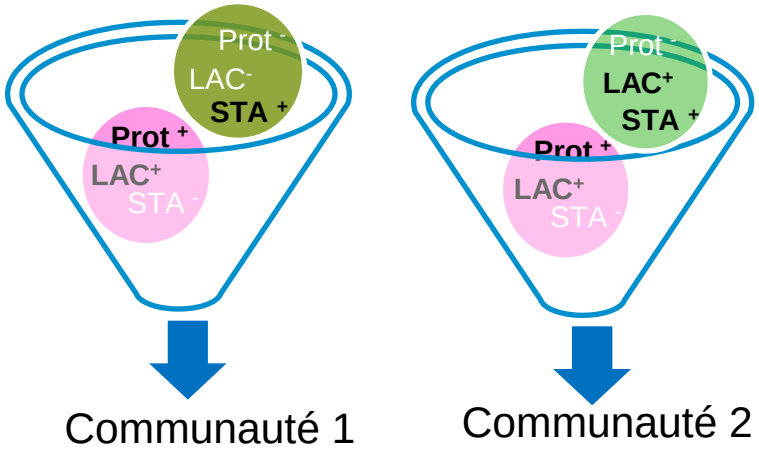
LAC⁻ / **STA⁺** / Prot⁻ — ***Profil « lupin »***

LAC⁺ / STA⁺ / Prot⁻⁻

LAC⁺ / STA⁻ / **Prot⁺** — ***Profil « lait »***

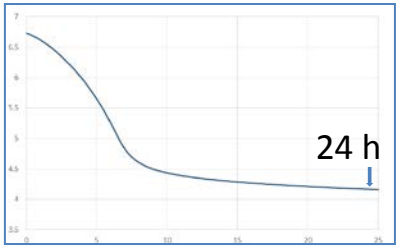
Règles d'association :

- réunir fonctions LAC⁺ STA⁺ et Prot⁺ dans chaque communauté
- Associer lactocoques et lactobacilles



MiLLup : Acidification et croissance selon la communauté

pH

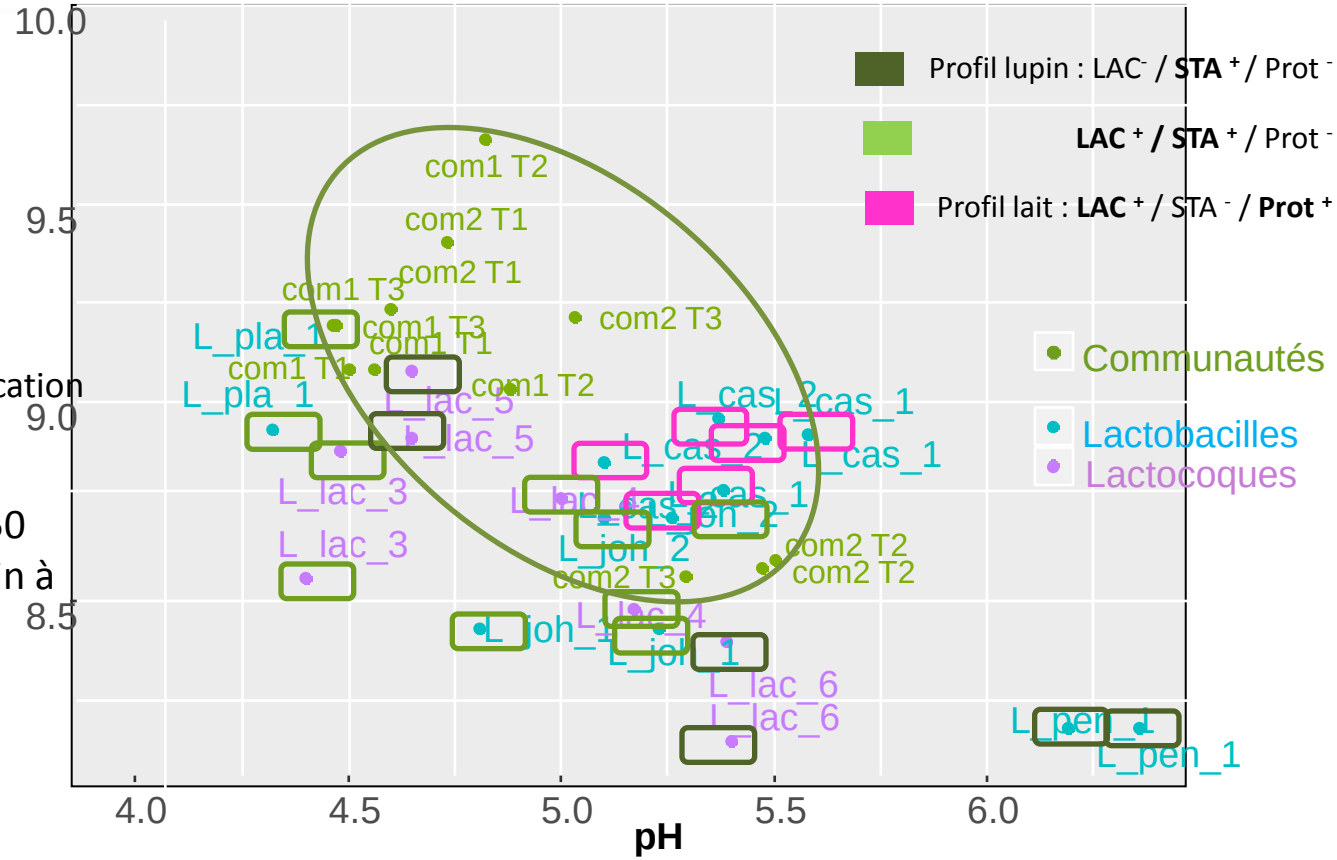


Time (h)

Exemple de cinétique d'acidification

- ✓ Mixte caséine-lupin (50-50 protéines) stérilisé 20 min à 115°C
- ✓ inoculation : 10^6 UFC/ml
- ✓ Incubation: 32°C

Populations maximales (log UFC ou nombre de copies/mL)



MiLLup : Caractéristiques des milieux fermentés selon la communauté

Analyse en composantes principales : 32 cultures caractérisées à 24 h pour pH, populations, teneur en sucres, acides organiques, acides aminés libres, indice de protéolyse

Communautés : forte population, fermentation sucres lait et lupin

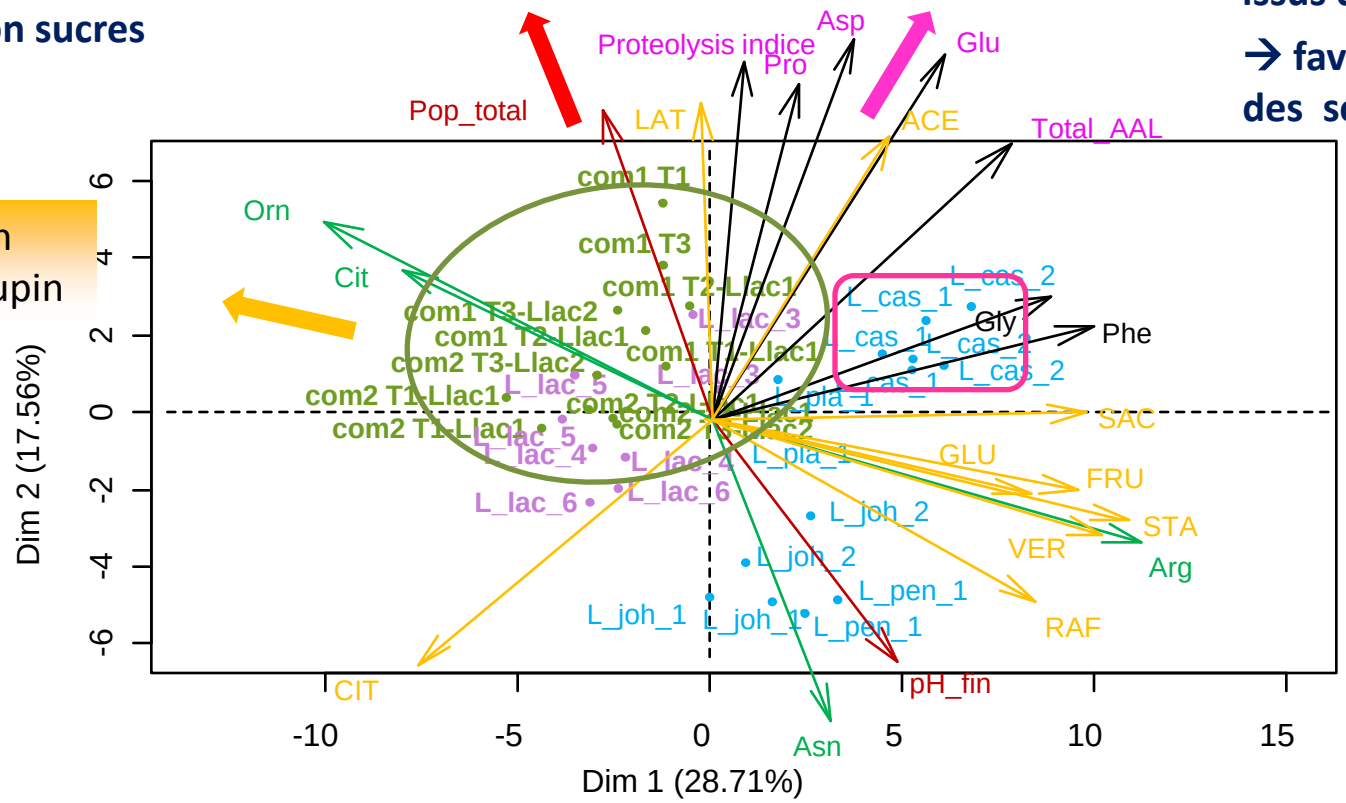
Forte population et pH bas

Protéolyse

Produits de protéolyse issus des souches Pro⁺

→ favorise croissance des souches Prot⁻

Fermentation oligosacch. lupin



Exemple 2 : projet CoLeg : Fermentation des Légumineuses par des Communautés microbiennes

STLO Rennes, GMPA Grignon, Micalis Jouy, LISBP Toulouse

Objectif : fermentation de 3 légumineuses

par les mêmes communautés microbiennes

Lupin blanc

Pois

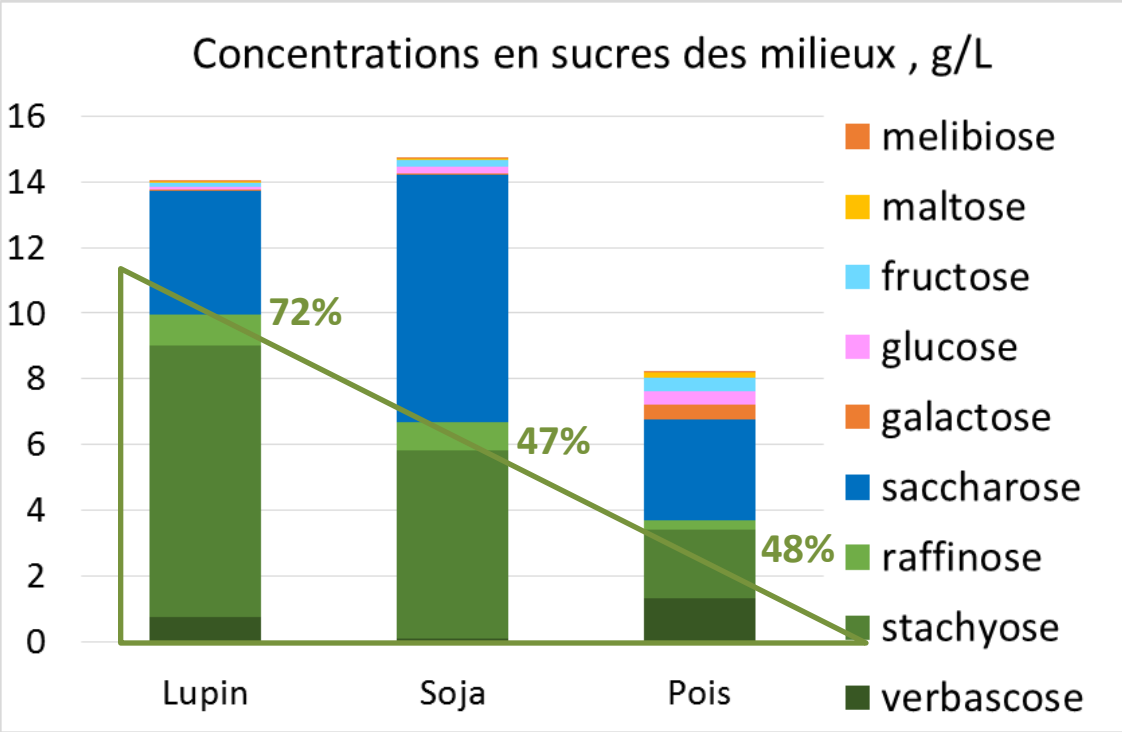
Soja

Préparation des milieux :

- ✓ préparé à partir de suspension de farine à 10% dans eau stérile
- ✓ centrifugé et stérilisé par autoclavage 20 min à 120°C
- ✓ ensemencé par différentes communautés (bact. lactiques seules ou en mélange avec microorganismes de surface des fromage

Composition des milieux :

- ✓ Protéines : 20 (pois)-30 (soja) g/kg
- ✓ Sucres (hors amidon) : 8-14 g/kg



Projet CoLeg : stratégie de choix des souches

Communauté de bactéries lactiques mésophiles

Hydrolyse saccharose et oligosaccharides

Genus	Species	SAC	RAF	STA	FRU	GAL	MAL	hyd_protéines-lupin
Lactococcus	*lactis*	1	1	1	1	0	0	-1.53
Lactococcus	*lactis*	1	1	1	1	1	1	-1.02
Lactobacillus	*plantarum*	1	1	1	1	1	1	1.92
Lactobacillus	*rhamnosus*	1	0	0	1	1	1	4.52
Lactobacillus	*rhamnosus*	1	0	0	1	1	1	4.22

2 souches associées

Hydrolyse saccharose

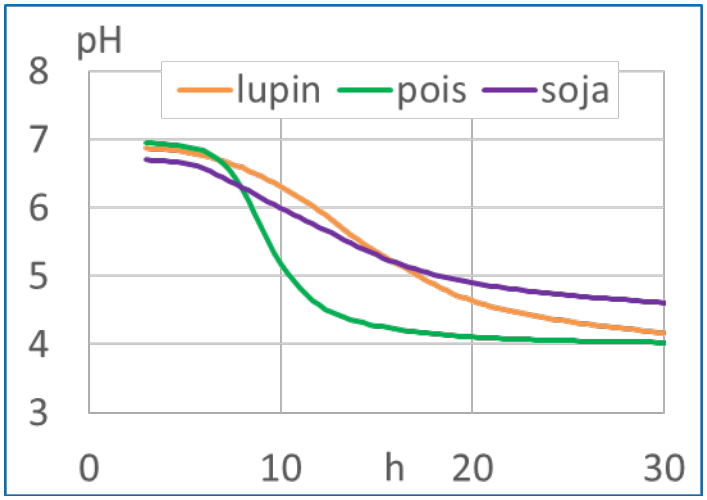
Profil Prot+

Règles d'association :

- réunir fonctions STA⁺ et SAC+/Prot⁺ dans chaque communauté
- Associer lactocoques et lactobacilles

Projet CoLeg : Caractéristiques des 3 milieux fermentés avec la même communauté de bactéries lactiques

	pH	*Lact. lactis* log UFC/g	*Lactob. rhamosus* log UFC/g	Acide lactique, g/kg	Stachyose consommé, g/kg
lupin	4,6	8,8	8,6	6,0	5,6 (63%)
soja	4,5	8,5	8,7	5,2	4,8 (71%)
pois	4,2	8,9	7,2	2,7	1,3 (53%)



Des similarités entre les 3 milieux :

pop. bactérienne totale > $6x10^8$ UFC/ml

pH 24 h < 4,6

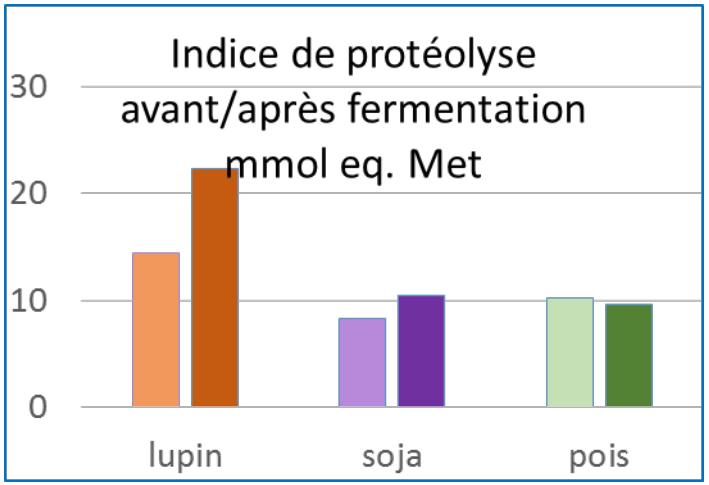
consommation des oligosaccharides > 50%

Des spécificités :

Milieu pois : Acidification plus rapide dû à un pouvoir tampon plus faible

Milieu lupin : plus de protéolyse

Milieu soja : intermédiaire



Conclusions

- Démarche de design originale basée sur la complémentarité des fonctions ciblées peu de travaux publiés

  ex : travaux Mathieu Barret de construction de communautés de souches inhibitrices de *Xanthomonas* par recouvrement des ressources utilisées

- Stratégie :
  - ✓ Exploitation données génomiques : OK pour sucres, vitamines, …
    ☹ parfois beaucoup travail en amont pour mettre en relation gènes et fonctions exprimées ex : lipolyse *P. freudenreichii*, protéolyse *L. helveticus*
  - ✓ …associée à criblage *in vitro* : indispensable pour valider l'expression des fonctions ciblées
  - ✓ Souches associées sur la base de la complémentarité des fonctions

- 'Performances' des communautés supérieures à celle des cultures pures

  → Interactions à explorer et expliciter

- Particularités de chacune des 3 légumineuses testées