



HAL
open science

Les microorganismes d'intérêt alimentaire : leviers d'innovation au service des aliments fermentés

Florence Valence

► To cite this version:

Florence Valence. Les microorganismes d'intérêt alimentaire : leviers d'innovation au service des aliments fermentés. 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-01795997

HAL Id: hal-01795997

<https://hal.science/hal-01795997v1>

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.

les microorganismes d'intérêt alimentaire : leviers d'innovation au service des aliments fermentés



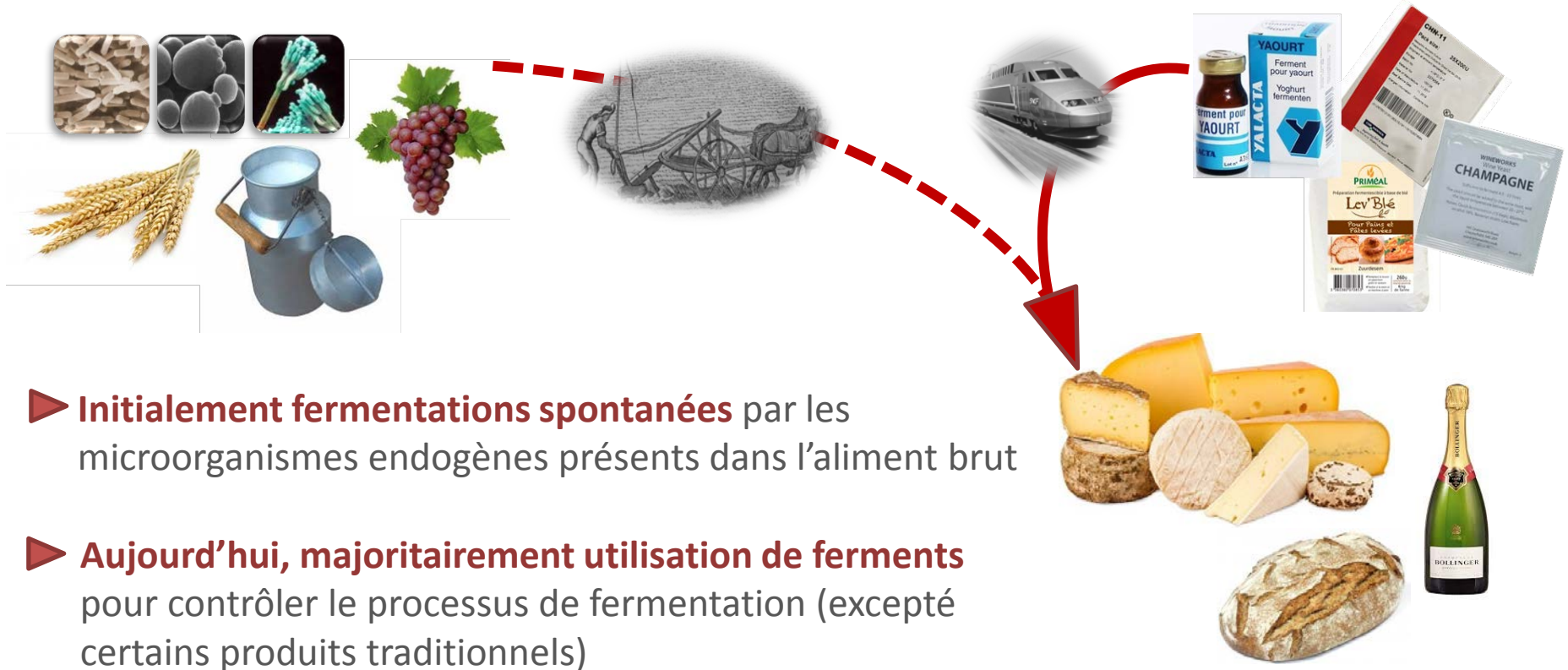
Florence Valence

CIRM-BIA

STLO, INRA, AGROCAMPUS OUEST, 35000, RENNES, France

Fermentation : méthode ancestrale de conservation des aliments

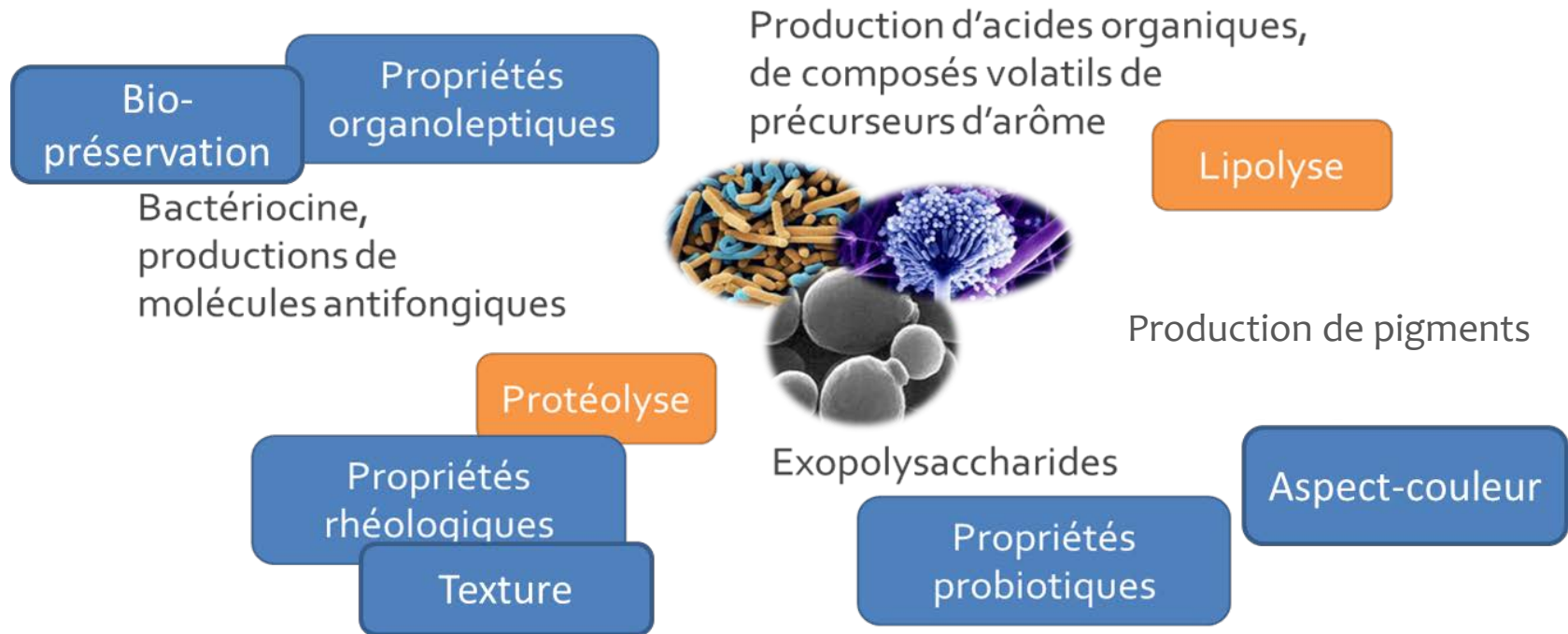
- Plusieurs espèces microbiennes en mélange, jusqu'à : 10^7 à 10^9 / g de produit
- 50 – 400 g / personne/ jour (5 à 40 % de la diète journalière selon les pays)
- Plus de 5 000 aliments fermentés référencés dans le monde !
- Des écosystèmes extrêmement diversifiés (bactéries, des levures, des champignons filamenteux)



► **Initialement fermentations spontanées** par les microorganismes endogènes présents dans l'aliment brut

► **Aujourd'hui, majoritairement utilisation de ferments** pour contrôler le processus de fermentation (excepté certains produits traditionnels)

Les microorganismes des éléments clés des produits fermentés...



Des fonctionnalités multiples et diversifiées

- Microorganisme dépendant
- Espèce dépendant
- Souche dépendant (diversité intra-spécifique)

« Le rôle de l'infiniment petit est infiniment grand » *L. Pasteur*

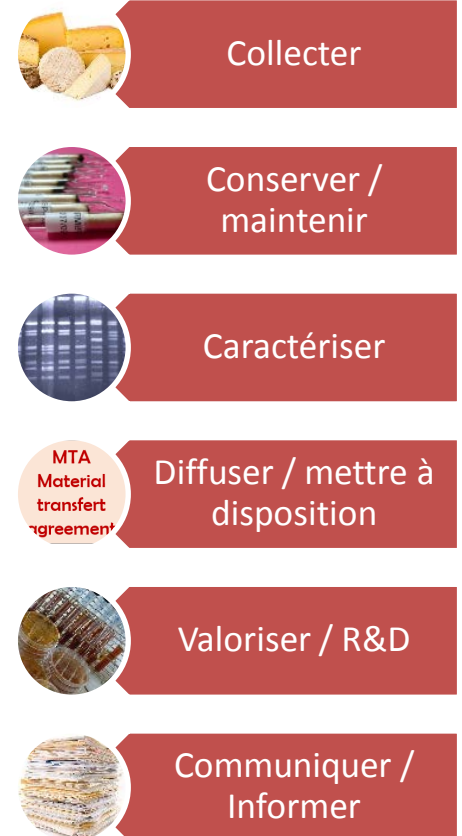
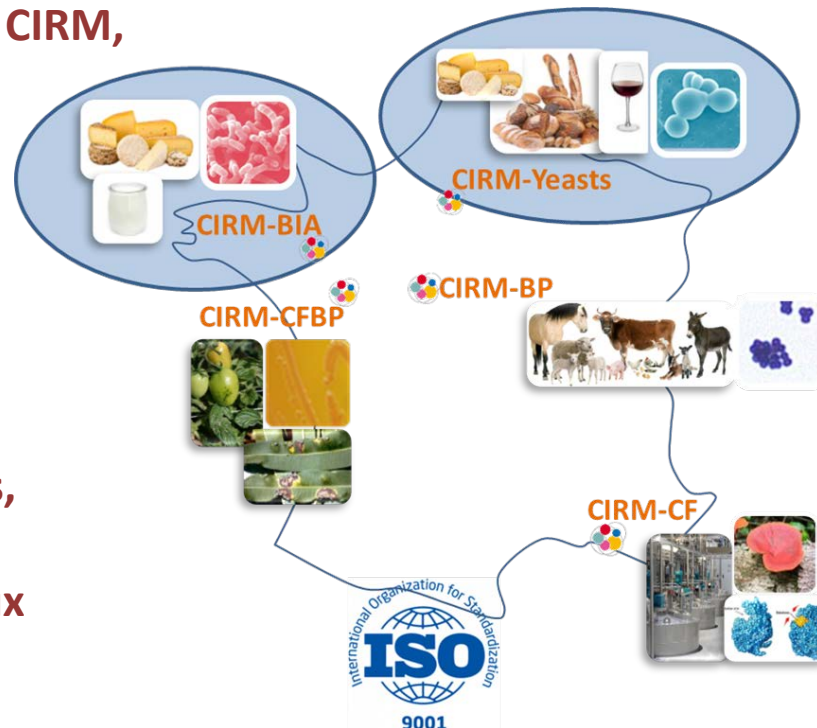
- Une infinité de fonctionnalités
- Des ressources dont la diversité tend à diminuer
- Un potentiel d'innovation intrinsèque
- Un levier de durabilité

Valeur patrimoniale

Valeur économique

 **Gestion appropriée des ressources microbiennes**

2004 : création du GIS **CIRM**, CRB dédié aux microorganismes de l'INRA constitué de 5 entités thématiques
22 000 souches :
champignons filamenteux, levures, bactéries alimentaires, pathogènes et bactéries associées aux plantes.

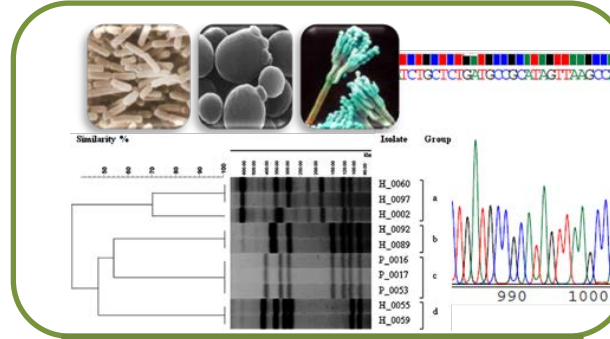


Contribution du CIRM à la recherche sur les aliments fermentés en 3 axes



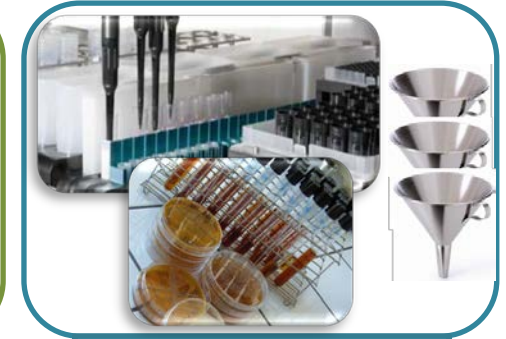
Caractérisation
d'écosystèmes
fermentaires

- Diversité microbienne
- Isolement, conservation et mise à disposition
- Collections de référence



Identification et
caractérisation des
souches d'intérêt

- Caractéristiques génotypiques
- Caractéristiques phénotypiques



Criblages

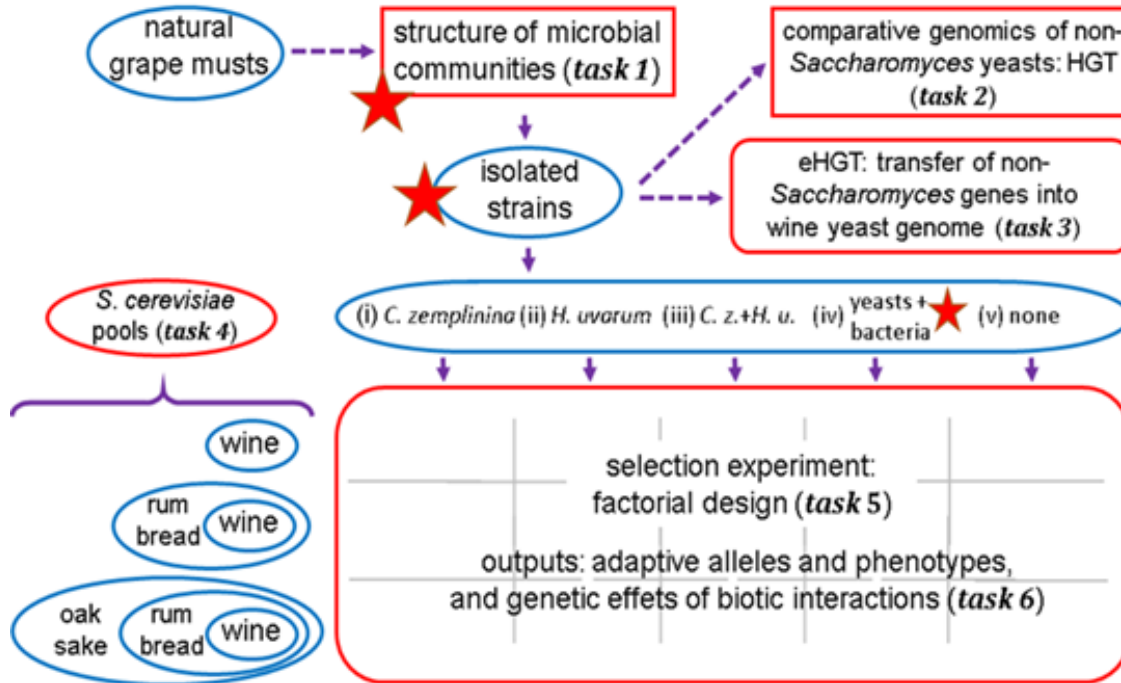
- Fonctionnalités d'intérêt
- Nouvelles utilisations

Caractérisation d'écosystèmes fermentaires :

Projet ANR Peakyeast (2015 – 2018) *“Moving the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* up its adaptive peak in grape must”*
(INRA-SPO, J-L. Legras)



CIRM-BIA et CIRM-Levures, Tache 1 : Caractérisation des communautés microbiennes des moûts de raisin (bactéries et levures) métagénomique et méthodes culturales (11 vignobles, 5 sauvignons blancs, 6 viogniers noirs – 2 saisons de vendange 2015 et 2016)



➔ Collections de référence de bactéries issues de moûts de raisin accessibles à l'ensemble de la communauté scientifique

➔ Ecologie du moût de raisin

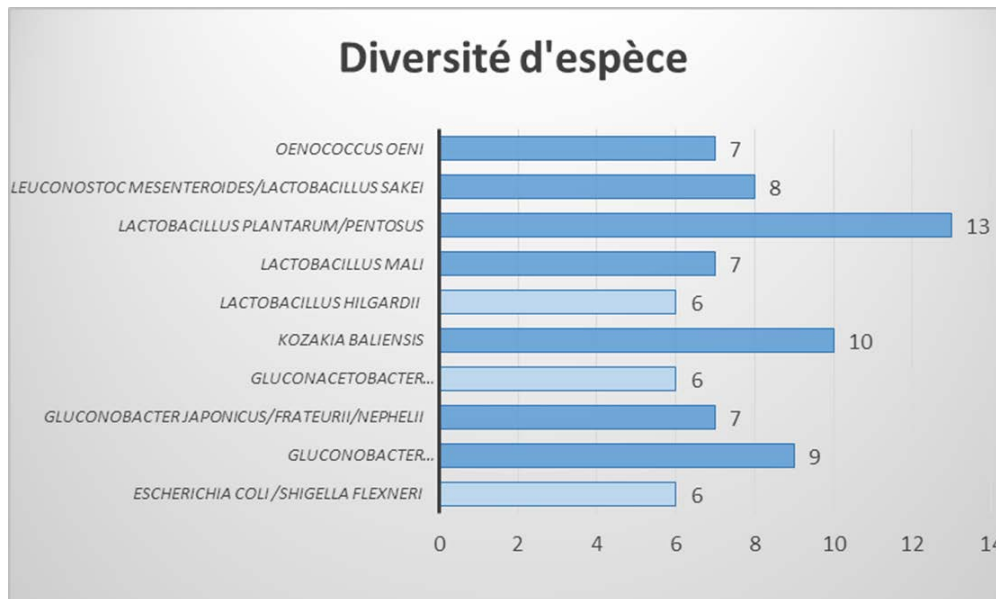


Caractérisation d'écosystèmes fermentaires : Projet ANR Peakeyeast



Résultats diversité bactérienne des mouts de raisin méthodes culturelles

- Optimisation des milieux de culture (33 milieux/conditions de culture testés)
- Mise au point d'une méthode de tri des isolats sur des critères micro et macroscopique pour éliminer les doublons



- Niveau de population moyen compris entre 10^5 et 10^8 UFC / litre de moût
- **Diversité +++ : 84 espèces identifiées**
- **Grande variabilité entre les échantillons** de 2015 et 2016 (seulement $\frac{1}{4}$ des espèces en commun) - 90% des espèces présentes dans un seul des 14 échantillons analysés
- Population d'acétobactéries > bactéries lactiques (AB>BL>Benv>Ent)
- Enterobactéries retrouvées dans 80% échantillons
- 7 espèces dominantes :
L. plantarum* (93%) > *K. baliensis* > *G. cerinus* > *L. mesenteroides* > *G. japonicus* , *O. oeni*, *L. mali

Caractérisation d'écosystèmes fermentaires :

➔ Constitution de collections de référence



🌈 Projet ANR Peakyeast

2 collections de référence dont les souches seront mises en collection ouverte

Bactéries : 1036 isolats collectés, appartenant à 84 espèces dont 40 espèces de bactéries lactiques et acétiques

Levures : 1049 isolats collectés appartenant à 42 espèces caractérisées en combinant MALDI-TOF et caractérisation moléculaire

🌈 Projet ANR Bakery

Diversité et interaction d'un écosystème agro-alimentaire blé/homme/levain à faible intran : vers une meilleure compréhension de la durabilité de la filière boulangère
"(SPO, d. Sicard)

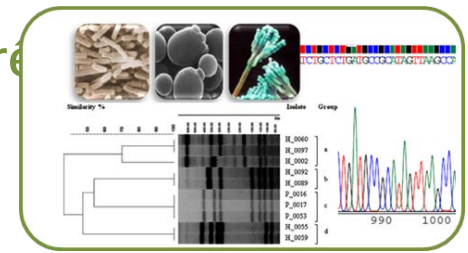
Tache 2 : Caractérisation de la diversité microbienne dans les échantillons de levain

Collection de bactéries lactiques isolées de levain de panification (bio)

majoritairement *L. sanfranciscensis* (grande diversité intra-spécifique) +
L. plantarum et *L. curvatus*

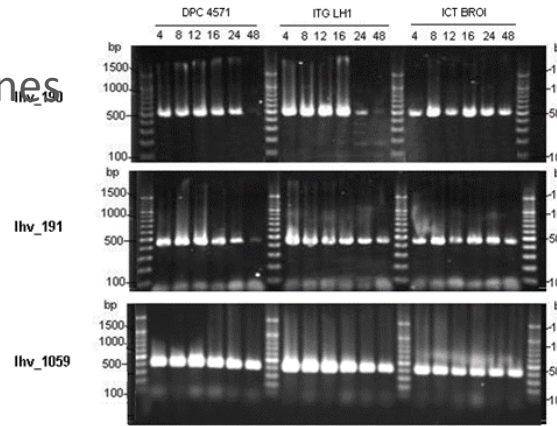
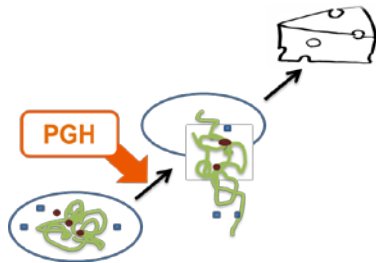
Identification et caractérisation des souches d'intérêt

Etude de la diversité moléculaire et phénotypique intra-spécifique de bactéries d'intérêt alimentaire



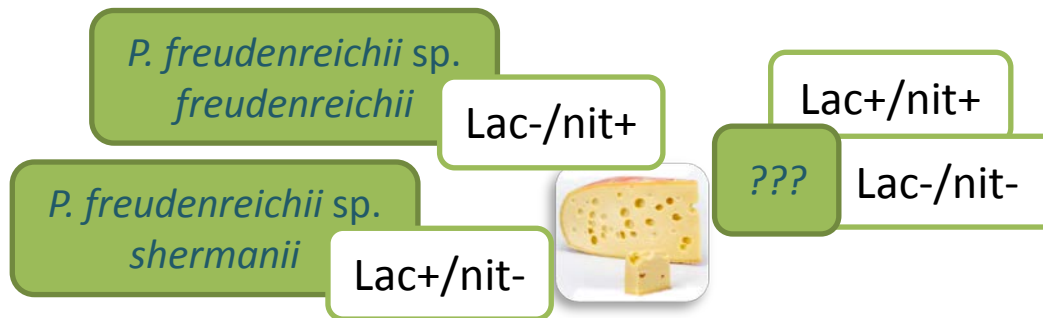
- Etude de la diversité moléculaire des autolysines (PGH) de *L. helveticus*

Thèse I. Ondrackova -



- 9 gènes PGH systématiquement présents et transcrits chez 24 souches de *L. helveticus*
- Différences de composition de leur paroi (polysaccharides)
- Discrimination des espèces *L. helveticus* et *L. gallinarum* basée sur les PGH

- Typage moléculaire de *P. freudenreichii* Thèse R. de Freitas -

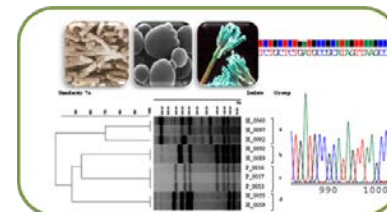


- Etude de 28 souches de *P. freudenreichii* dont 10 séquencées → Séparation de *P. freudenreichii* en deux sous-espèces : *ssp. freudenreichii* et *ssp. shermanii* non pertinente

Identification et caractérisation des souches d'intérêt

Séquençage de 580 génomes de bactéries lactiques

→ Diversité intra-spécifique



Partenariat industriel
+ Université de Toulouse III
+ ETH Zurich
580 souches de bactéries
lactiques dont 400 souches (25
espèces) pour le CIRM-BIA



Très grande diversité intra-
spécifique 15 génomes /
espèce en moyenne

Liberté totale
d'exploitation des
données de séquençage

- ➔ Recherche de nouvelles fonctionnalités
- ➔ Questions en lien avec la domestication des espèces
- ➔ Sélection ciblée / criblage
- ➔ ...

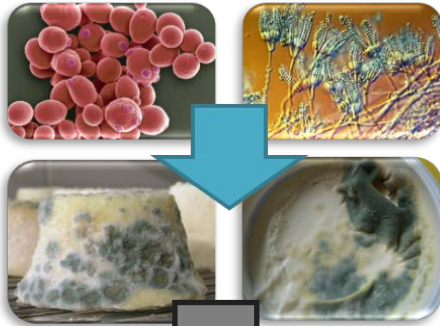
Genre	espèce	Nombre de souches
<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>	15
<i>Lactobacillus</i>	<i>amylovorus</i>	4
<i>Lactobacillus</i>	<i>brevis</i>	17
<i>Lactobacillus</i>	<i>buchneri</i>	10
<i>Lactobacillus</i>	<i>crispatus</i>	5
<i>Lactobacillus</i>	<i>curvatus</i>	5
<i>Lactobacillus</i>	<i>delbrueckii</i>	39
<i>Lactobacillus</i>	<i>fermentum</i>	19
<i>Lactobacillus</i>	<i>helveticus</i>	21
<i>Lactobacillus</i>	<i>hilgardii</i>	3
<i>Lactobacillus</i>	<i>johnsonii</i>	12
<i>Lactobacillus</i>	<i>paracasei</i>	20
<i>Lactobacillus</i>	<i>pentosus</i>	20
<i>Lactobacillus</i>	<i>plantarum</i>	20
<i>Lactobacillus</i>	<i>reuteri</i>	10
<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	20
<i>Lactococcus</i>	<i>lactis</i>	41
<i>Leuconostoc</i>	<i>citreum</i>	15
<i>Leuconostoc</i>	<i>mesenteroide</i>	18
<i>Pediococcus</i>	<i>acidilactici</i>	2
<i>Pediococcus</i>	<i>parvulus</i>	5
<i>Pediococcus</i>	<i>pentosaceus</i>	4
<i>Propionibacteriu</i>	<i>freudenreichi</i>	20
<i>Streptococcus</i>	<i>thermophilus</i>	46
<i>Weisella</i>	<i>confusa</i>	1

Criblages de fonctionnalités d'intérêt :

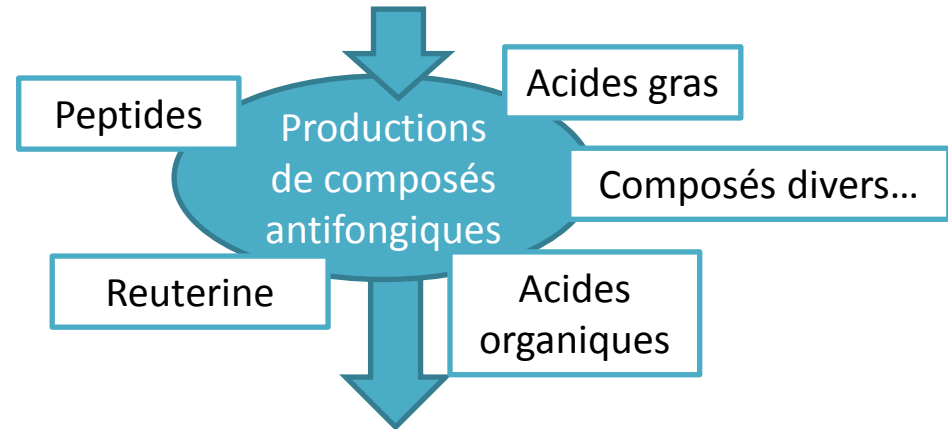
Projet Profil : *développement de solutions alternatives aux composés chimiques pour lutter contre les contaminations fongiques des produits laitiers*



Levures et champignons filamenteux



Bactéries lactiques et propionique
Champignons filamenteux



Activité antifongique
Multifactorielle
Substrat dépendante
Espèces et souches dépendante

Thèse Lucille Garnier

Projet Profil : Démarche



1) Caractérisation de la diversité des contaminants fongiques :

Sur des échantillons d'ambiance d'usines de transformation laitière et des produits contaminés → Collection de référence de contaminants fongiques 175 souches, choix des cibles pertinentes

2) MAP méthode de Criblage *in vitro* haut débit d'ingrédients laitiers antifongiques

710 souches...

512 bactéries
198 champignons



... cultivés sur deux substrats laitiers...

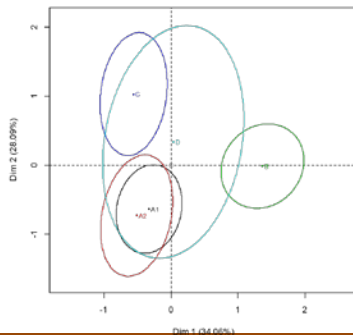
- **LH**: 10%-poudre de lait "Low complémenté en MG laitière
- **UF**: perméat d'ultrat filtrate de lait 4 fois concentré

...testés contre 4 cibles fongiques représentatives de la diversité des contaminants fongiques des produits laitiers

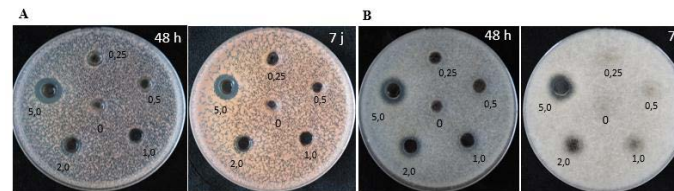
- *Mucor racemosus*
- *Penicillium commune*
- *Galactomyces geotrichum*
- *Yarrowia lipolytica*

...en duplicat
~12 000 cultures
1 600 cult/sem

3) Challenge test, test d'usage et analyse sensorielle



4) Identification des composés antifongiques et mécanismes d'action



Antifungal activity of peptide pepa4c177 on *Rhodotorula mucilaginosa* (A) and 937 *Mucor racemosus* (B) grown on PDA 1% agar (final concentration: 1.104 spores or 938 cells/mL) at 25 °C for 7 days. Five concentrations were tested 0,25 ; 0,5 ; 1,0 ; 2,0 and 5 939 mg/mL. Central wells were filled with sterile water as negative control

Projet Profil : criblage du potentiel antifongiques de microorganismes d'intérêt alimentaire ... en résumé



- **710** souches testées : **512** bactéries and **198** champignons
- Plus de **12 000** cultures (souches isolées ou en association)
- **7** partenaires industriels impliqués dans le projet de recherche
- **3 ingrédients laitiers AF dérivés de** : *L. rhamnosus*, *P. jensenii* et *M. lanceolatus*
- Scale up sur 3 produits reels : fromage type raclette, fromage frais et crème fraiche
- **1 peptides antifongique** identifié, un début d'élucidation des mécanismes d'action en jeu dans l'activité antifongique



Review
Diversity and Control of Spoilage Fungi in Dairy Products: An Update

Lucille Garnier^{1,2}, Florence Valence² and Jérôme Mounier^{1,*}



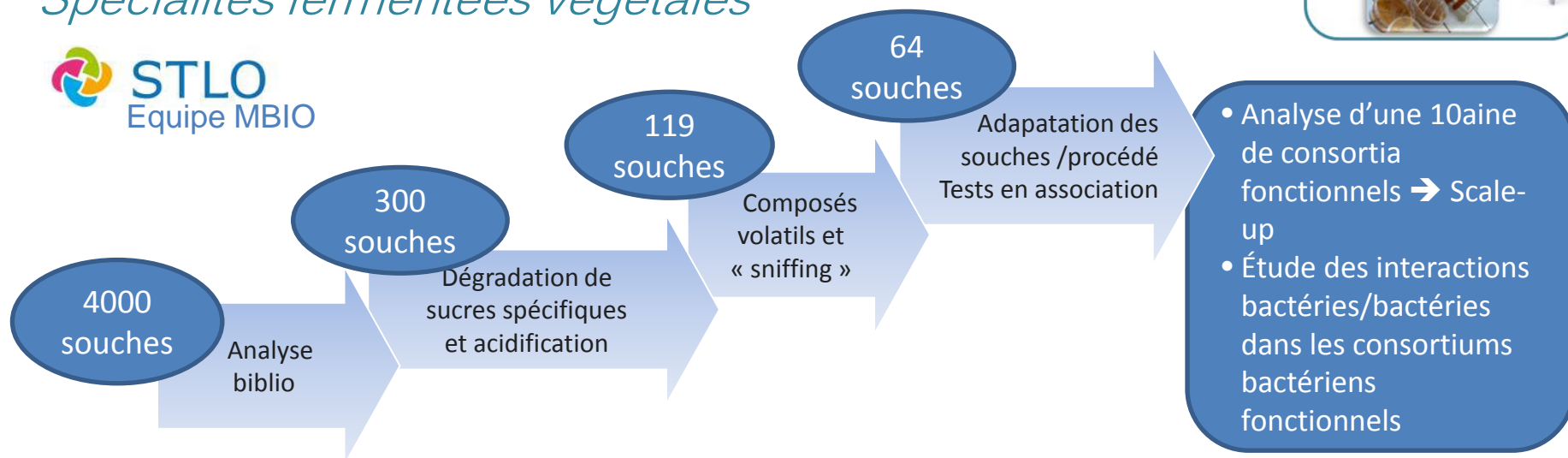
J. Dairy Sci. 101:1–6
<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13518>
© American Dairy Science Association[®], 2018.

Technical note: High-throughput method for antifungal activity screening in a cheese-mimicking model

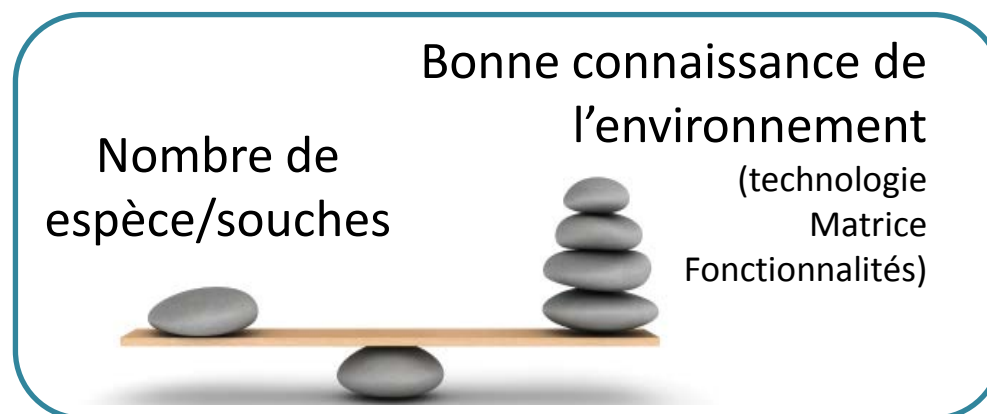
Lucille Garnier,[†] Marcia Leyva Salas,[†] Nicolas Pinon,[†] Norman Wiernasz,^{*} Audrey Pawtowski,^{*} Emmanuel Coton,^{*} Jérôme Mounier,^{*} and Florence Valence^{†1}
^{*}Université de Brest, EA 3882, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, ESIAB, Technopôle Brest-Iroise, 29280 Plouzané, France
[†]STLO, Agrocampus Ouest, INRA, 35000 Rennes, France

Criblages de fonctionnalités d'intérêt :

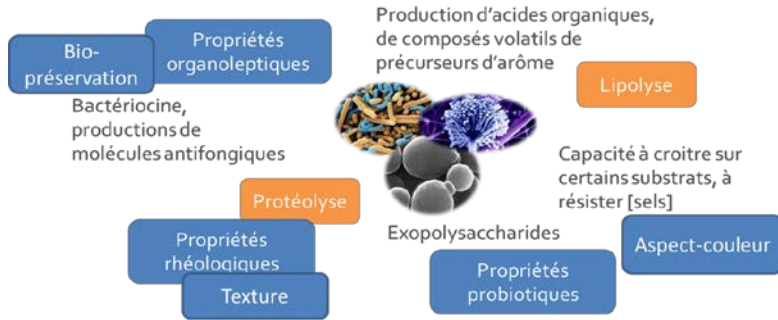
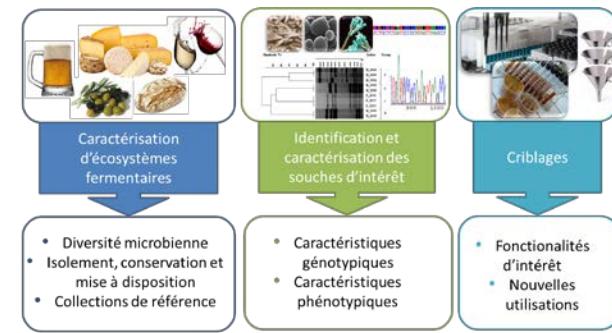
Identification de Bactéries d'Intérêt pour la fabrication de Spécialités fermentées végétales



Pertinence du criblage



Le CIRM : plateforme collective et transversale, levier d'innovation au service des aliments fermentés



Recherche de (nouvelles) fonctionnalités
 → grande diversité d'espèce mais aussi grande diversité intra-spécifique

Outils dédiés au criblage haut débit



Standard de conservation (2 méthodes de conservation, double de sureté sur un site séparé)



Intégré au réseau des CRB européens
 → Mise en œuvre de l'APA



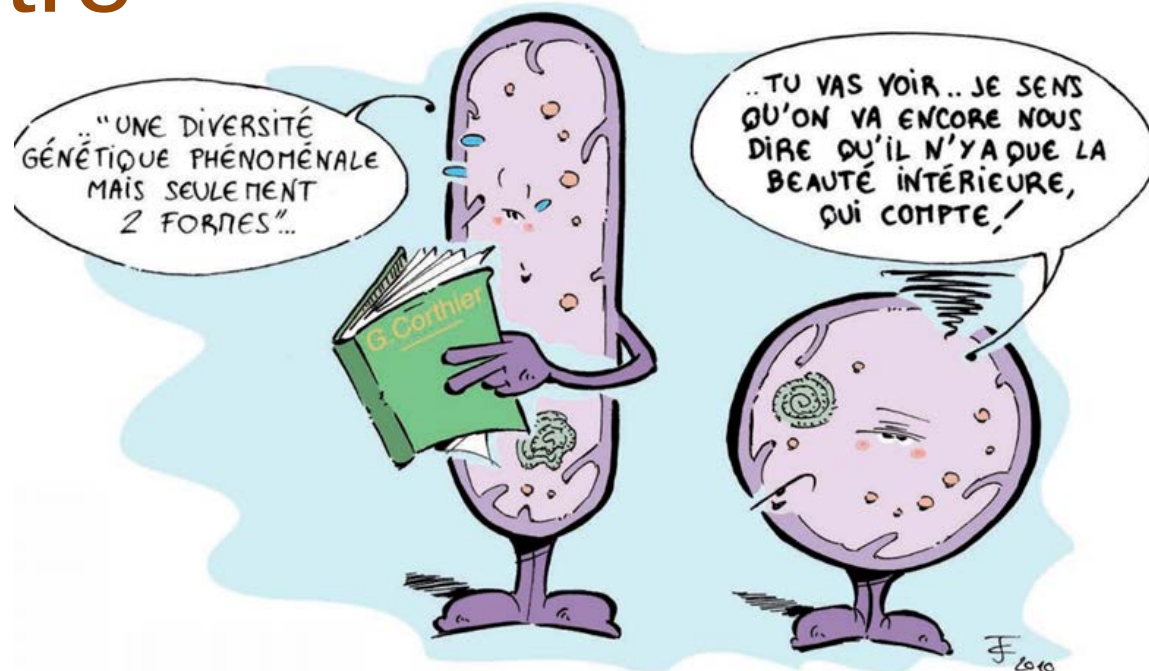
Des collections « thématiques »



Base de données dédiées et sécurisées regroupant l'ensemble des données afférentes aux souches



Merci de votre attention...



...et merci à mes collègues du CIRM-BIA :
Victoria, Marie-Noëlle, Anne-Sophie,
Bénédicte, Sophie et Anne