



**HAL**  
open science

## La fermentation de matières premières végétales

Florence Valence, Anne Thierry

► **To cite this version:**

Florence Valence, Anne Thierry. La fermentation de matières premières végétales. CTCPA: Journée produits végétaux fermentés non pasteurisés, Jun 2019, Nantes, France. hal-02166487

**HAL Id: hal-02166487**

**<https://hal.science/hal-02166487>**

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.



# La fermentation de matières premières végétales



Florence Valence & Anne Thierry  
CIRM-BIA, Inra Rennes





# Plan de la présentation

- 🍌 Fermentation : définitions
- 🍌 Rôles des micro-organismes : *rôles et fonctions, microorganismes impliqués (classification / physiologie / conditions de croissance)*
- 🍌 Les différents types de fermentations
- 🍌 Origine des micro-organismes *spontanée / backslopping / ensemencement*
- 🍌 Panorama des produits végétaux fermentés et espèces associées
- 🍌 Un exemple : la fermentation de jus de carotte



# Les aliments fermentés

Consommés depuis la nuit des temps...

Première traces archéologiques : 8 -10 000 ans avant JC

... et encore aujourd'hui :

50 à 400 g d'aliments et boissons fermentés consommés / jour /personne dans le monde

=> 5 à 40 % de la prise alimentaire selon les pays

*Les aliments végétaux fermentés dans l'histoire (M-C Frederic)*

*Aliments fermentés : panorama du WEB (L. Marché)*

Fermenter pour préserver/conserv

D'une très grande diversité en fonction des matières premières et des procédés mis en œuvre

*Panorama des aliments végétaux fermentés en France et dans le monde (Jean-Pierre GUYOT)*

Plus de 5000 aliments fermentés répertoriés de part le monde

Issus de matières premières très variées : viande, poisson, lait, céréales, légumineuses, fruits, légumes,



*Fermented Food and Beverages of the World,  
JP. Tamang & K, Kailasapathy*







# Fermentation : définitions

## L. Pasteur :

« toute fermentation d'une solution de sucre ou de matière organique résulte de l'activité métabolique d'un **micro-organisme** spécifique, et s'accompagne de la formation de produits caractéristiques (alcools, acides, cétones et gaz carbonique) »

## Larousse :

-  Transformation que subissent certaines matières organiques sous l'action d'enzymes sécrétées par des **micro-organismes**. (La fermentation des sucres sous l'influence des levures donne de l'alcool.)
-  Pourriture, décomposition enzymatique de la matière organique.

## Wikipedia

Processus métabolique convertissant généralement des glucides en acides, en gaz ou en alcools pour en extraire une partie de l'énergie chimique tout en ré-oxydant les coenzymes réduites par ces réactions... voie métabolique d'oxydoréduction ... Elle se caractérise par une dégradation partielle de la substance fermentescible et ne permet qu'une production d'énergie limitée. Elle a lieu chez des **levures et des bactéries**, ainsi que dans les cellules musculaires manquant d'oxygène, c'est-à-dire en **conditions anaérobies**.

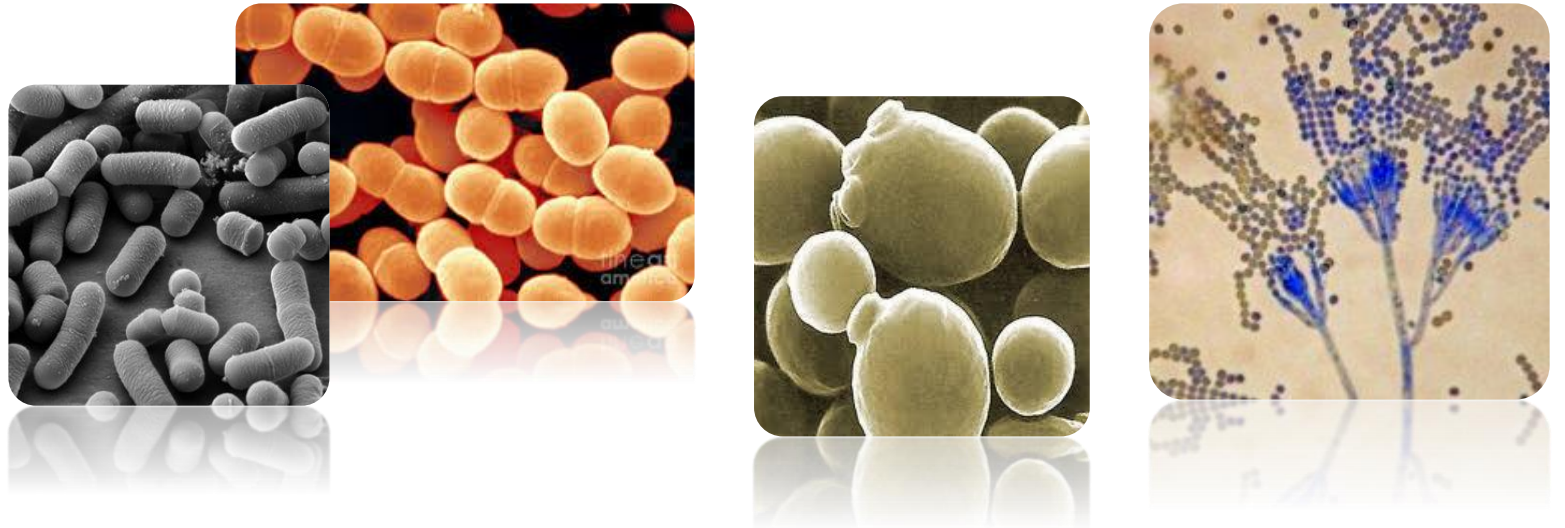


# Pas d'aliments fermentés sans micro-organismes

*Parce que « le rôle de l'infiniment petit est infiniment grand » (Louis Pasteur)*

La fermentation fait intervenir :

- Des communautés extrêmement diversifiées : des bactéries, des levures, des champignons filamenteux
- Plusieurs espèces microbiennes en mélange, jusqu'à :  $10^7$  à  $10^9$  UFC/g de produit





# Pas d'aliments fermentés sans microorganismes

- Multiples transformations biochimiques de la matière 1<sup>ère</sup> sous l'action **d'enzymes microbiennes**
- Consommation des sucres, production d'acides organiques ( $\downarrow$  pH), d'alcools, hydrolyse partielle des protéines & des lipides, production de métabolites variés dont des composés d'arôme et d'intérêt nutritionnel → Sécurisation/conservation des matières premières (sans chaîne du froid, sans additif)
- Une transformation en profondeur de la matière 1<sup>ère</sup> :
  - **saveur, arôme, texture**
  - **aspect (couleur, ...)**
  - **qualités nutritionnelles**





# Les différentes flores microbiennes

- **La flore « utile », ou flore « positive »**, participe à la fermentation et à la maturation du produit fermenté, à l'origine de ses qualités organoleptiques et nutritionnelles
  - Naturellement présente dans l'aliment (matière première) ou provenant de l'atelier de transformation
    - ex : bactéries lactiques non levains ("NSLAB" pour *Non Starter Lactic Acid Bacteria*)
  - Ou ajoutée intentionnellement lors des procédés de fabrication (ferment ou levain)
- **La flore indésirable ou flore « négative »**
  - La flore d'altération → changements physiques et chimiques dans l'aliment : odeurs et saveurs désagréables, formation de « mucosités », accumulation de gaz, libération de liquide
  - La flore pathogène → en cas d'ingestion, peut causer une intoxication alimentaire





# Fonctionnalités de la flore positive



Acides gras volatils  
Précurseurs d'arômes  
...

**Lipolyse**



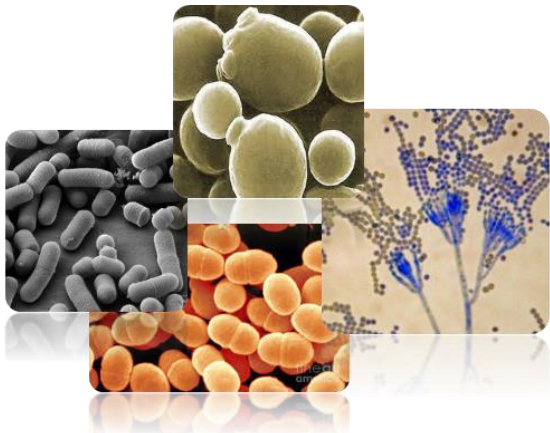
Aspect  
couleur



Propriétés  
aromatisantes

Acides organiques  
Ethanol  
↑ CO<sub>2</sub>  
...

**Protéolyse**



**Production de  
molécules  
spécifiques**



Bactériocines  
Peptides antifongiques  
Exo-polysaccharrides  
Vitamines  
...



Biopréservation

Propriétés  
probiotiques

Propriétés  
texturantes



## Ces propriétés dépendent :

- Du type de microorganisme
- De l'espèce
- De la souche (individu au sein de l'espèce)

# Aliments fermentés = aliments vivants



🌍 Analyse des données bibliographiques (400 articles sur une période de 50 ans)

🌍  **$10^5$  à  $10^7$  UFC** / ml ou g d'aliments en moyenne tout type d'aliments confondus

🌍 Aliments fermentés à base de végétaux : très majoritairement fermentations spontanées

- Céréales fermentées :  $10^5$  à  $10^7$  UFC g
- Légumineuse (Miso, Tempeh,...) :  $10^5$  à  $10^7$  UFC g
- Choucroute, Kimchii,...:  $10^3$  à  $10^8$  UFC g
- Pickles :  $10^7$  à  $10^9$  UFC g
- Komboucha :  $10^6$  à  $10^7$  UFC ml (bactéries),  $10^7$  UFC ml (levures)

## **Fermented Foods as a Dietary Source of Live Organisms**

*Shannon Rezac, Car Reen Kok, Melanie Heermann and Robert Hutkins\**

➔ *En moyenne 1 million de microorganismes vivants en présence dans les produits fermentés à base de végétaux.*



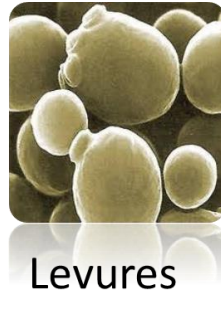


# Aliment fermenté = aliment santé ?

- Augmentation de la valeur nutritionnelle
  - production *in situ* de vitamines (B, K,...)
  - Production d'acides aminés essentiels
- Inactivation de facteurs antinutritionnels
- Amélioration de la digestibilité (exemple du yaourt et de l'intolérance au lactose)
- Ingestion de microorganismes vivants qui peuvent interagir avec le microbiote intestinal

Consommer des végétaux fermentés, quels bénéfices potentiels pour la santé ? (I. Auzeloux & S. Lortal)

# Classification et physiologie des microorganismes

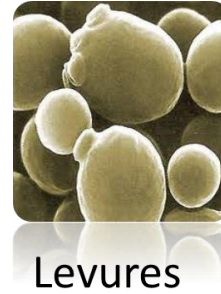


- > Micro-organisme **unicellulaire sans noyau** (procaryote)
- > Reproduction asexuée par division cellulaire
- > Taille moyenne : **0,5 à 5  $\mu\text{m}$**

- > Micro-organisme **unicellulaire avec noyau** (eucaryote)
- > Reproduction asexuée par bourgeonnement et sexuée
- > Taille moyenne : **5 à 20  $\mu\text{m}$**

- > Micro-organisme **pluricellulaire avec noyau** (eucaryote). Filaments +/- ramifiés (hyphes). L'ensemble des hyphes constitue le mycélium.
- > Reproduction asexuée : production de spores (conidies) disséminées dans l'environnement. Reproduction sexuée (survie en condition difficile) => Brassage génétique
- > Taille moyenne : **2 à 8  $\mu\text{m}$**

# Conditions optimales de croissance



- Température : possible de 4° à 40°C (hors extremophiles), optimum selon les catégories
- pH : croissance possible de pH 2.8 à pH = 8.
- Pression osmotique : variable (globalement assez tolérantes aux variations de concentrations ioniques)
- O<sub>2</sub> : variable selon les espèces
  - O<sub>2</sub>: bactéries aérobies strictes
  - Pas d'O<sub>2</sub> : bactéries anaérobies
  - +/- O<sub>2</sub> : bactéries aérobies facultatives

- Température : possible de 0 à 55°C, optimum 12 à 40°C
- pH : croissance possible de pH 3 à 8 (optimum entre 4 et 6,5)
- Pression osmotique : peuvent pousser et fermenter jusqu'à des concentrations en sucre de l'ordre de 3M
- Tolérance alcoolique : jusqu'à 20% d'alcool
- O<sub>2</sub> : Aérobiose : glycolyse classique, Anaérobiose : fermentation alcoolique

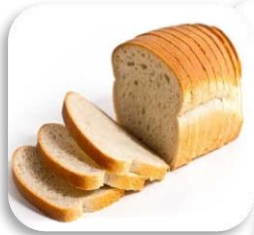
- Température : possible de 4 à 30°C, optimum entre 18 et 28°C.
- pH : croissance possible de pH 3 à 8 (optimum entre 4 et 6,5)
- Pression osmotique : peuvent pousser et fermenter jusqu'à des concentrations en sucre de l'ordre de 3M
- Tolérance alcoolique : jusqu'à 20% d'alcool
- O<sub>2</sub> : Gamme très variable mais pas de croissance en absence totale d'O<sub>2</sub>



# Conditions de croissance en fonction de l'Aw



Viandes, fruits, légumes, lait,...



Jambon, Pain, fromages à PP,...



Saucisson sec, fruits au sirop,...



Confitures, saumures,...



Fruits secs



Biscuits

Aw=1

0,9

Majorité des levures et moisissures  
 $0,85 > 0,99$

*S. aureus*  
 $0,99 > 0,85$

Bactéries d'intérêt alimentaire  
 $0,90 > 0,99$

Entérobactéries  
 $0,95 > 0,99$

0,8

0,7

Moisissures et levures xérophiles  
 $0,62 > 0,75$

0,6

Pas de croissance mais les spores survivent

Aw=0





# Conditions optimales de croissance



La technologie (procédé de transformation mis en œuvre : chauffage, découpe, brassage, quantité de sel, de sucre,...) va orienter le produit fini en favorisant le développement de certaines espèces par rapport à d'autres

## Trouver les “bonnes” conditions pour :

- 🍌 favoriser la flore positive / flore pathogène et d'altération
- 🍌 favoriser la/les espèce(s) conférant sa spécificité du produit (gout, texture, arômes,...)



# Trois grands types de fermentations...

Saccharose  
Fructose, Stachyose

Lactose => Glucose => pyruvate => **Acide lactique**

Acétique

Lactique

Propionique



Saccharose => ... => **Ethanol** => **Acide acétique**



Saccharose => Glucose => pyruvate => **Ethanol + CO<sub>2</sub>**

Alcoolique



Malolactique

**Maltose** => Glucose => Pyruvate => **Ethanol + CO<sub>2</sub>**

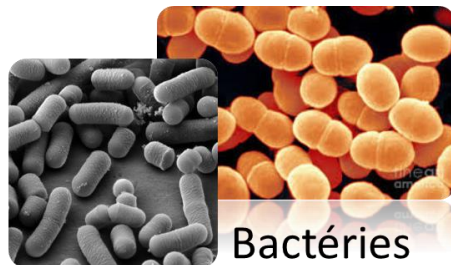
# ... qui impliquent des microorganismes différents

Lactique

Propionique

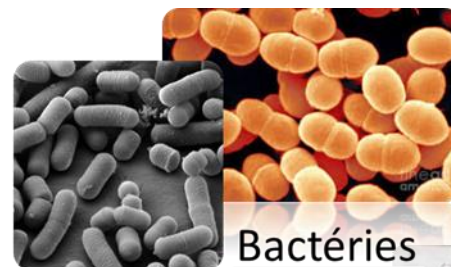
Acétique

*Acetobacter aceti*



Bactéries

*Lactococcus lactis*  
*Streptococcus thermophilus*  
*Lactobacillus plantarum*  
*Lactobacillus delbrueckii*  
*Propionibacterium freudenreichii*



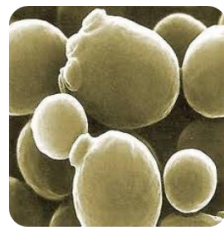
Bactéries



*Saccharomyces cerevisiae*

Alcoolique

Malolactique



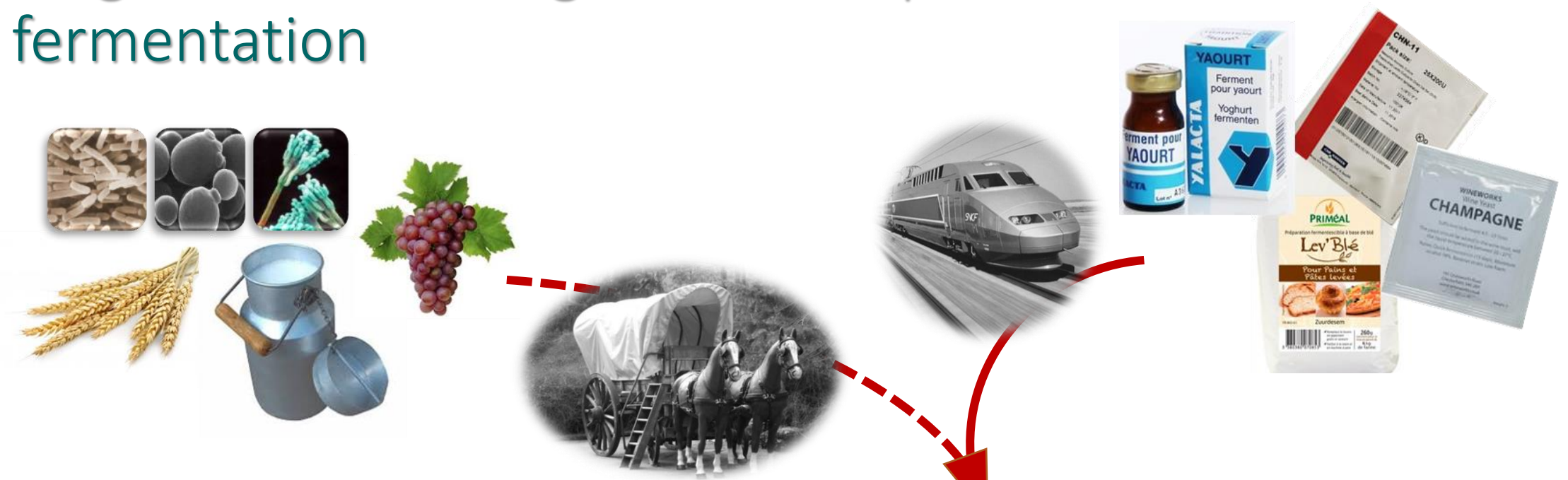
Levures



Bactéries

*Oenococcus oenos*

# Origine des microorganismes responsables de la fermentation



• Initialement fermentations dite « spontanées » par les microorganismes « utiles » présents dans l'aliment brut et/ou issu de l'environnement de transformation

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



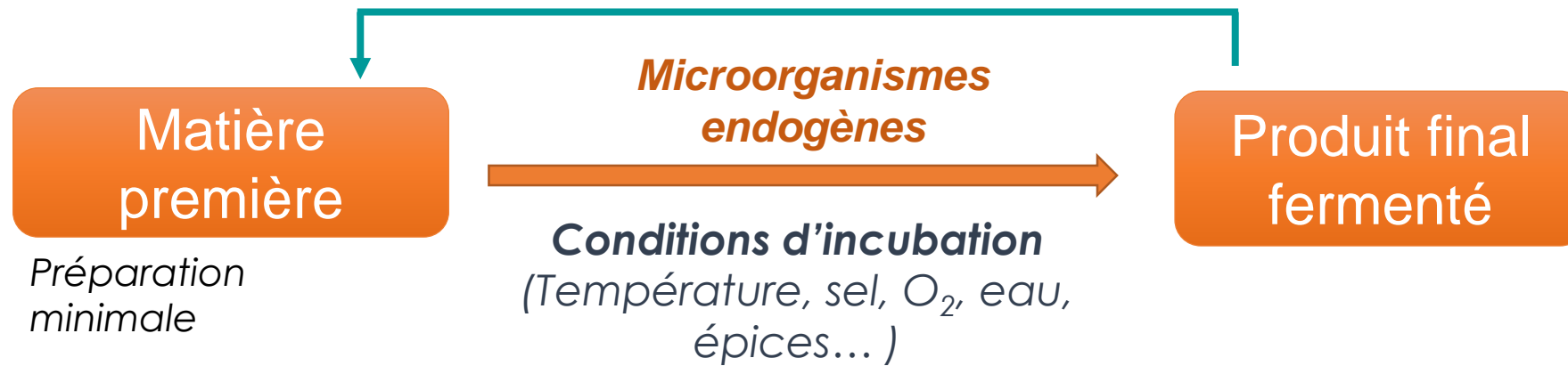


# Fermentation spontanée



## Temps !!!!

Backslopping



Variabilité de la flore endogène  
donc de l'écosystème  
fermentaire



- Qualité finale difficile à prédire plus difficilement maitrisable, améliorée par les méthodes de « backslopping »
- Diversité des produits

**Schéma encore actuel pour une grande part des produits traditionnels fermentés dont les légumes fermentés**

# “L'effet Pasteur”

MÉMOIRE SUR LA FERMENTATION ACÉTIQUE,

PAR M. L. PASTEUR,

MEMBRE DE L'ACADÉMIE,

MEMBRE DES SOCIÉTÉS SCIENTIFIQUES À L'ÉTRANGER.

LU PAR EXTRAIT À L'ACADÉMIE DES SCIENCES DANS SA SÉANCE DU 12 FÉVRIER 1856.

PREMIÈRE PARTIE.

HISTORIQUE.

§ 1. — L'acide acétique provient de l'oxydation de l'alcool par l'oxygène de l'air.

Le vin, la bière, le cidre, en général tous les liquides alcooliques fermentés s'altèrent au contact de l'air, surtout pendant l'été. C'est un fait bien connu et depuis les temps les plus reculés.

Quelle est la nature du phénomène considéré sous un point de vue purement chimique? La science a été longtemps à s'en rendre compte avec précision. Quoiqu'il en soit l'alcool qui devienne acide s'oxyde, on ne l'ignore pas. Quoiqu'il en soit l'air puisse favoriser cette transformation, on ne l'ignore pas davantage. Mais on était loin de savoir comment l'air intervient. Dans le *Dictionnaire de Chimie de Berzelius*, dont la seconde édition a paru en 1778, ouvrage aussi remarquable par le fond que par la forme, mais malheureusement encore enveloppé dans les obscurités du phlogistique, on trouve cette phrase: « Bocher, dans sa *Physique savante*, a fait digérer du vin, pour le convertir en vinaigre, dans une bouteille scellée hermétiquement. A la vérité, ce vin a été plus longtemps qu'à l'ordinaire, s'acidifier qu'une à cause de l'air, à se convertir en vinaigre, mais ce vinaigre était aussi beaucoup plus fort. » Ainsi, en 1758, l'un des plus habiles chimistes admet encore que le vin peut se convertir en vinaigre très-fort sans le concours de l'air.

L'abbé Kuster fit une expérience pour démontrer expérimentalement l'absorption de l'air pendant la fermentation acétée. Elle consistait à faire un trou à la douve

*Année scientifique de l'École Normale supérieure. Tome 1.* 15



## Louis Pasteur

Démonstration du rôle des microorganismes dans les fermentations et notamment les fermentations acétiques et alcooliques

## Fin du 19ème

Industrialisation et urbanisation  
Changement d'échelle  
↑↑ hygiène alimentaire

**Culture et isolement des microorganismes → L'invisible devient visible !**

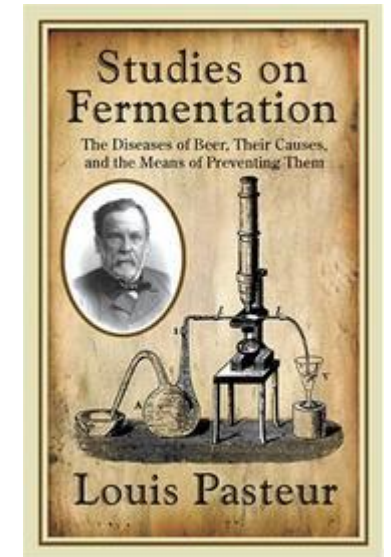
Donne des noms

Crée des collections

Caractérise des propriétés des souches

Sélectionne

**Assemble les souches en ferments pour produire de manière maîtrisée**



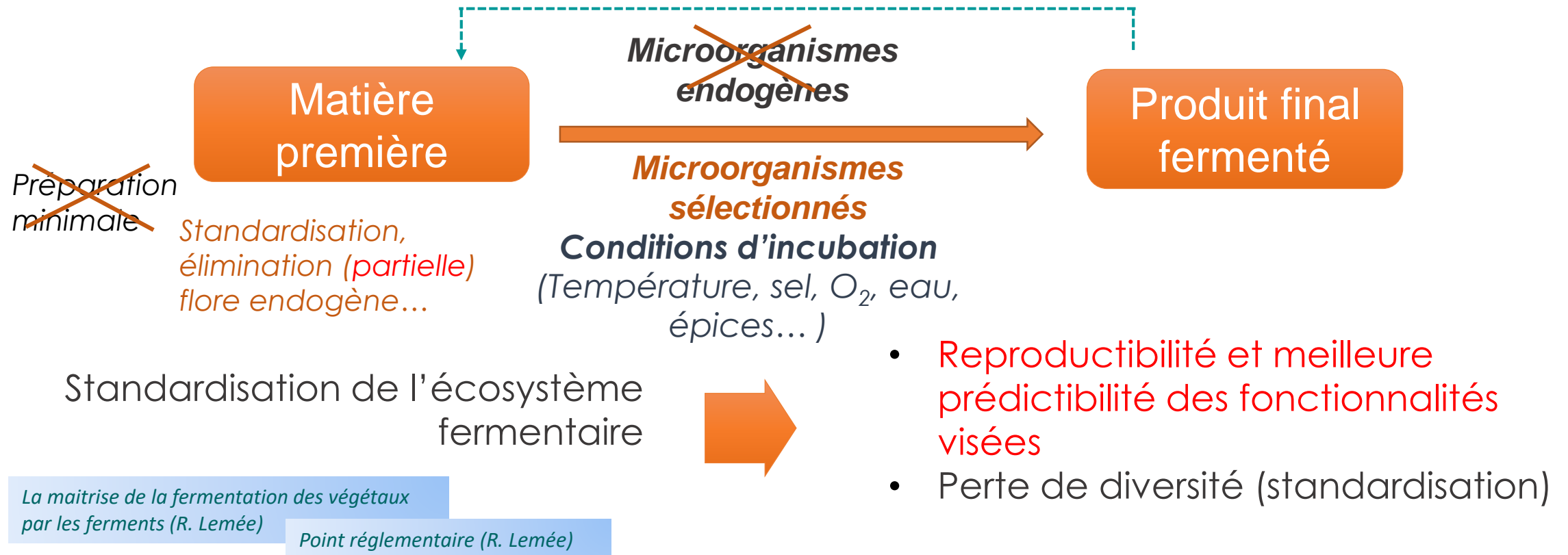


# Le recours aux "ferments"



↓↓↓ Temps

Backslopping



# Une large gamme de matières premières végétales sont fermentées !

- Le vin
- La bière, le cidre
- Le pain
- La choucroute, le kimchi
- Les olives
- Les pickles
- Les légumes (lacto)fermentés
- Le kombucha
- Le kéfir de fruit
- Le jus de fruit/légumes fermentés
- Les céréales
- L'ensilage
- ...



*Témoignage sur la fabrication de la choucroute (Anne et Julien Prieur)*

*Un exemple de boisson fermentée: le kéfir de fruit (Marjolaine Nantillet)*

*Boisson de fruits fermentés : maîtriser la fermentation lactiques pour préserver les qualités nutritionnelles (Fabienne Remize)*

# Mise en évidence des espèces présentes dans les fermentations végétales

## Méthodes culture-dépendantes...

Mise en œuvre de milieux de cultures sélectionnés => micro-organismes vivants présents dans l'aliment fermenté (Culture - isolement – identification/caractérisation)

- Biais lié au choix des milieux de culture
- On ne met en évidence que les microorganismes cultivables



Accès aux pop. dominantes

Plus difficile pop. sous-dominantes

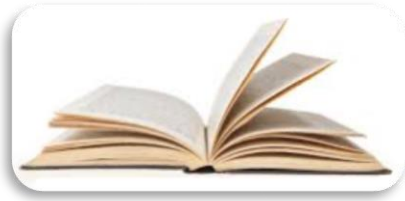
## Méthodes culture-indépendantes

Mise en évidence reposant sur les acides nucléiques des microorganismes (ADN ou ARN)  
Extraction des acides nucléiques – séquençage – interrogation de banque de données de séquence – attribution d'une identité)

- ADN : Tous les microorganismes, cultivables ou non (morts)
- ARN : Espèces métaboliquement actives au moment de l'analyse



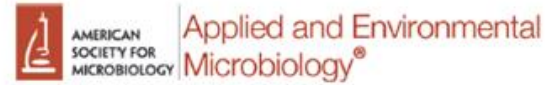
# Espèces présentes dans les fermentations végétales



*Des données très variables selon le type d'aliment considéré*

- Une **très grande diversité des écosystèmes** selon la nature de la matière première (bactéries seules ou associées à des levures ou à des champignons)
- **Prédominance des bactéries lactiques** et plus particulièrement lactobacilles hétérofermentaires (associées pour certaines spécialités fermentées à des bactéries acétiques)
- Au sein des bactéries lactiques des genres-espèces : *Lactobacillus* (*L. plantarum*), *Pediococcus*, *Leuconostoc*,... presque systématiquement présents → **espèces ubiquitaire "nomades"**

# Un exemple d'étude sur une fermentation végétale : la fermentation de jus de carotte



FOOD MICROBIOLOGY



## Carrot Juice Fermentations as Man-Made Microbial Ecosystems Dominated by Lactic Acid Bacteria

Sander Wuyts,<sup>a,b</sup> Wannes Van Beeck,<sup>a</sup> Eline F. M. Oerlemans,<sup>a</sup> Stijn Wittouck,<sup>a</sup> Ingmar J. J. Claes,<sup>a</sup> Ilke De Boeck,<sup>a</sup> Stefan Weckx,<sup>b</sup> Bart Lievens,<sup>c</sup> Luc De Vuyst,<sup>b</sup> Sarah Lebeer<sup>a</sup>

- 🍌 Projet participatif
- 🍌 Fermentation de jus de carotte (culture BIO ou conventionnelle, achetées en grande surface ou issues du potager “familial”)
- 🍌 Fermentations spontanées (pas de ferments)
- 🍌 3 fermentations réalisées en laboratoire + 38 fermentations “maison” réalisées par des particuliers



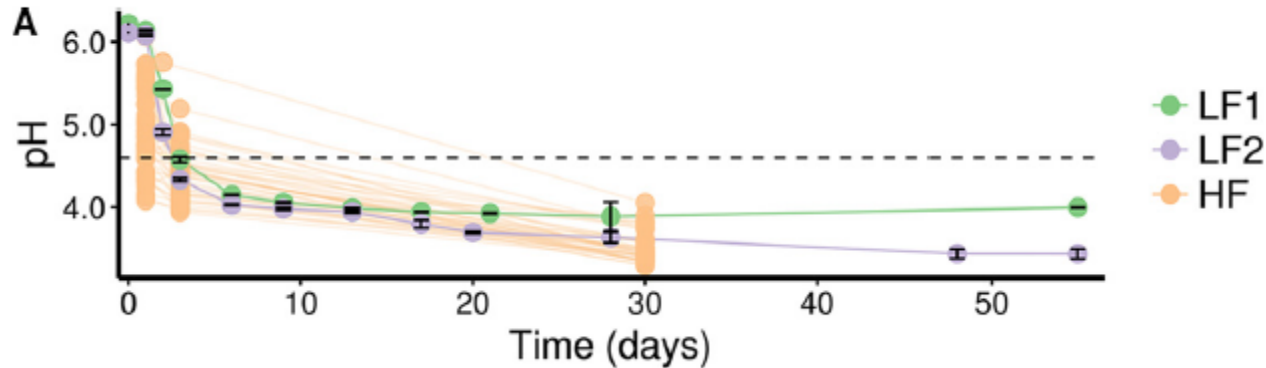
Cirm



# Carrot Juice Fermentations as Man-Made Microbial Ecosystems Dominated by Lactic Acid Bacteria

Sander Wuyts,<sup>a,b</sup> Wannes Van Beeck,<sup>a</sup> Eline F. M. Oerlemans,<sup>a</sup> Stijn Wittouck,<sup>a</sup> Ingmar J. J. Claes,<sup>a</sup> Ilke De Boeck,<sup>a</sup> Stefan Weckx,<sup>b</sup> Bart Lievens,<sup>c</sup> Luc De Vuyst,<sup>b</sup> Sarah Lebeer<sup>a</sup>

## Résultats physicochimie



• Baisse rapide du pH :  $\text{pH} < 4,6$  en 3j (3/4 des échantillons)

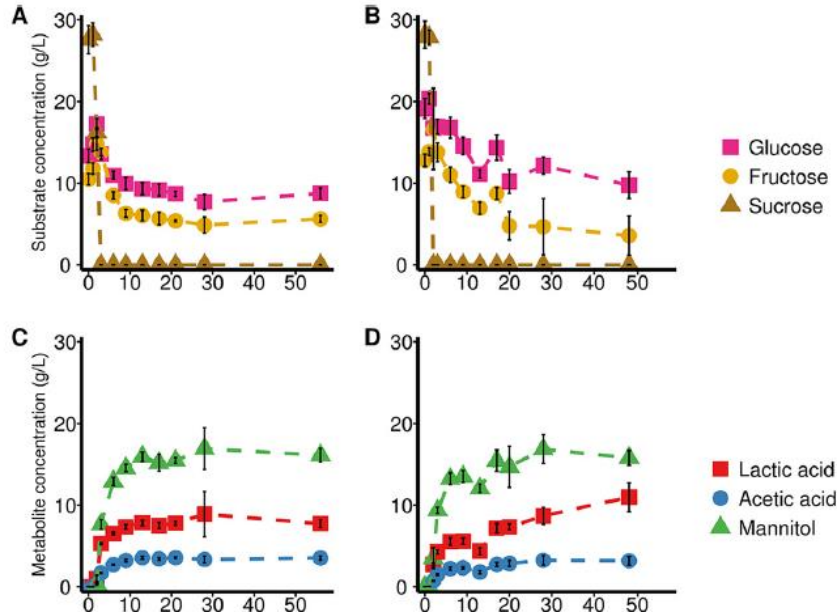
• À 30j : pH compris entre 3,4 et 4,1

• Sucres consommés en 2j

• Principaux métabolites produits

- Lactates (9 à 11g) => métabolisme bactéries lactiques

- Mannitol (~17g) et acétate => métabolisme bactéries lactiques hétéro-fermentaires

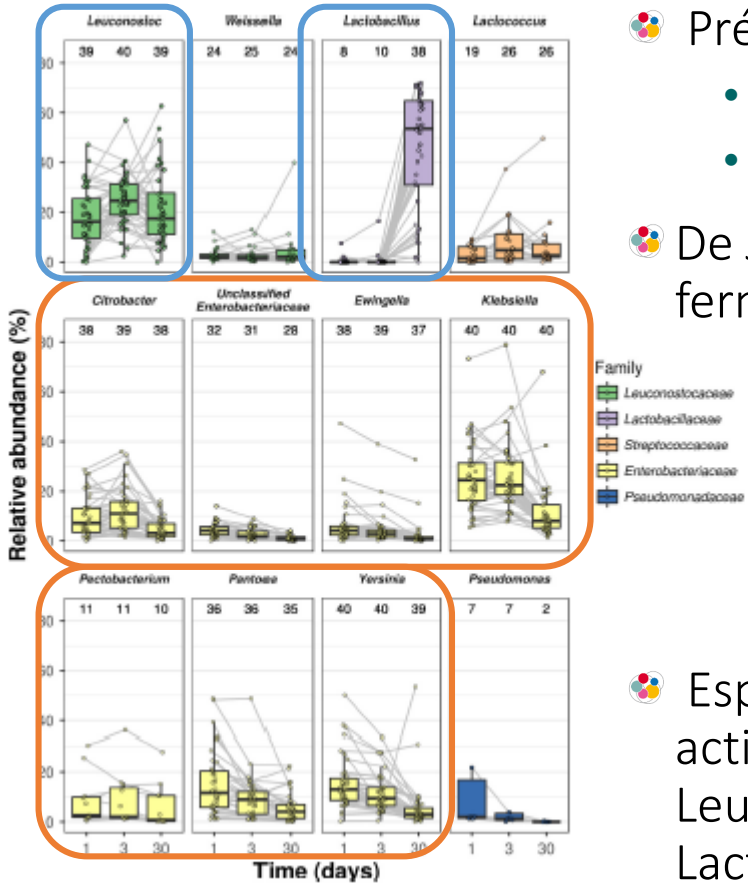




# Carrot Juice Fermentations as Man-Made Microbial Ecosystems Dominated by Lactic Acid Bacteria

Sander Wuyts,<sup>a,b</sup> Wannes Van Beeck,<sup>a</sup> Eline F. M. Oerlemans,<sup>a</sup> Stijn Wittouck,<sup>a</sup> Ingmar J. J. Claes,<sup>a</sup> Ilke De Boeck,<sup>a</sup> Stefan Weckx,<sup>b</sup> Bart Lievens,<sup>c</sup> Luc De Vuyst,<sup>b</sup> Sarah Lebeer<sup>a</sup>

## Résultats microbiologie

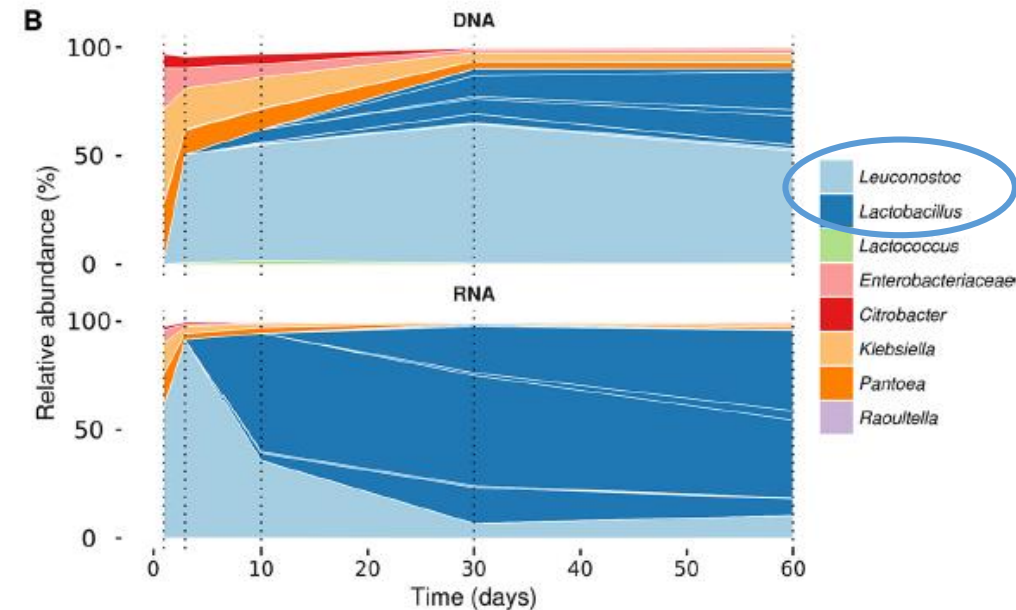


• Présence d'entérobactéries à J0,

- =>  $10^6$  UFC à J3
- => **absents à J13**

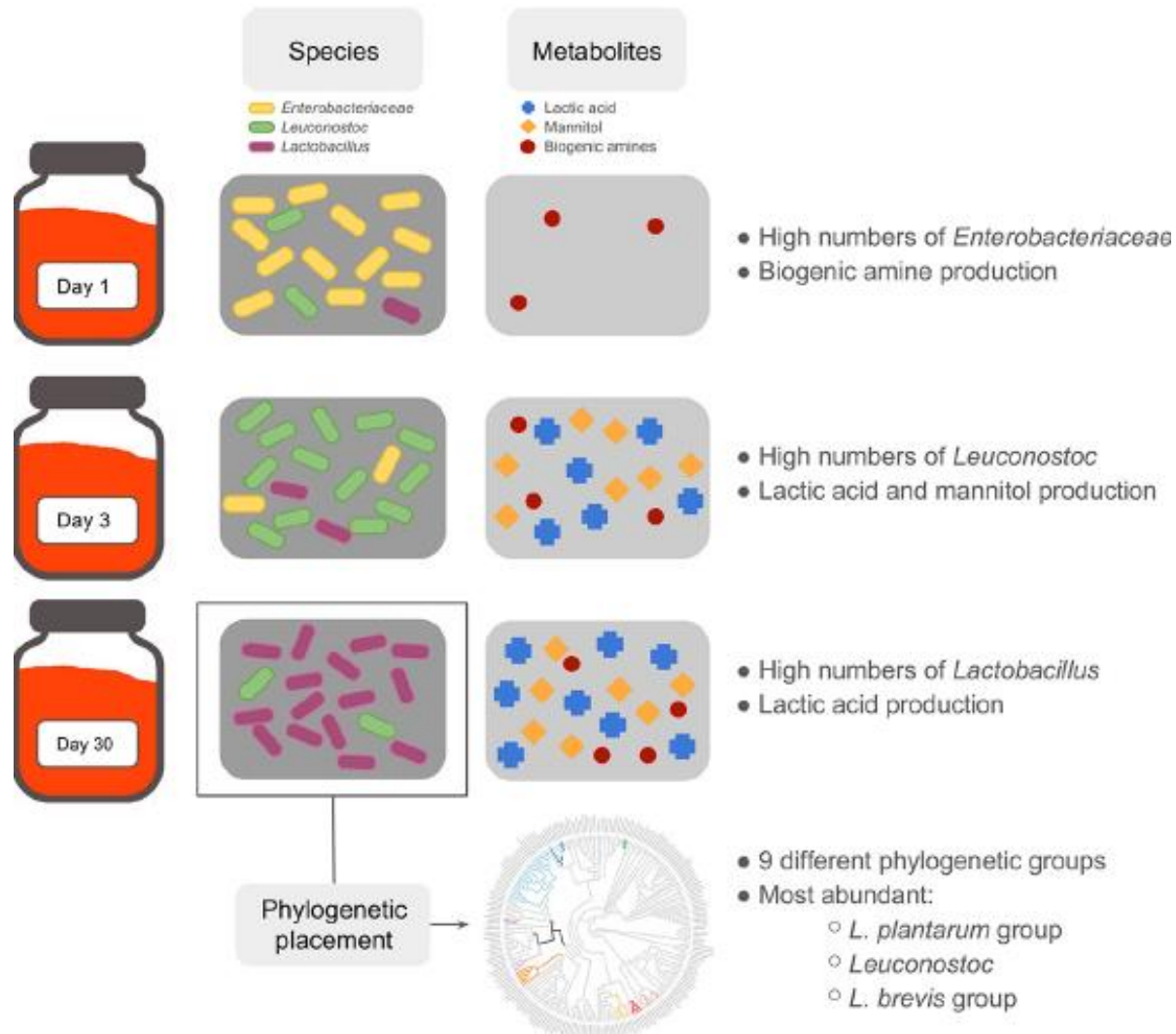
• De J0 à J30 croissance des bactéries lactiques qui sont ultra-majoritaires en fin de fermentation (d'abord le genre *Leuconostoc* puis le genre *Lactobacillus*)

• Espèces les plus métaboliquement actives appartiennent aux genres *Leuconostoc* (J3 à J10) puis au genre *Lactobacillus* (J30 et plus)



# Carrot Juice Fermentations as Man-Made Microbial Ecosystems Dominated by Lactic Acid Bacteria

Sander Wuyts,<sup>a,b</sup> Wannes Van Beeck,<sup>a</sup> Eline F. M. Oerlemans,<sup>a</sup> Stijn Wittouck,<sup>a</sup> Ingmar J. J. Claes,<sup>a</sup> Ilke De Boeck,<sup>a</sup> Stefan Weckx,<sup>b</sup> Bart Lievens,<sup>c</sup> Luc De Vuyst,<sup>b</sup> Sarah Lebeer<sup>a</sup>



# Résultats microbiologie

- Une succession de genres bactériens
  - J1 : présence d'entéro-bactéries => production amines biogènes (cadavérine 100mg/l, pas d'histamine)
  - J1-J3 développement des *Leuconostoc* : production d'acide lactique et de mannitol
  - J3-J30 les lactobacilles prennent le pas progressivement sur les leuconostoc : production d'acide lactique supplémentaire
- Parmi les espèces de lactobacilles majoritaires :
  - *L. plantarum*
  - Groupe *Leuconostoc* (*pseudomesenteroides* & *mesenteroides*)
  - *Lactobacillus brevis*
  - *Lactobacillus coryniformis*
  - *Lactobacillus sakei* & *casei*



## Carrot Juice Fermentations as Man-Made Microbial Ecosystems Dominated by Lactic Acid Bacteria

Sander Wuyts,<sup>a,b</sup> Wannes Van Beeck,<sup>a</sup> Eline F. M. Oerlemans,<sup>a</sup> Stijn Wittouck,<sup>a</sup> Ingmar J. J. Claes,<sup>a</sup> Ilke De Boeck,<sup>a</sup> Stefan Weckx,<sup>b</sup> Bart Lievens,<sup>c</sup> Luc De Vuyst,<sup>b</sup> Sarah Lebeer<sup>a</sup>

## En résumé...

- 🍷 Fermentations spontanées (sans addition de levain) dominées par **une très grande diversité de bactéries lactiques**
- 🍷 2 espèces de bactéries lactiques qui dominent très largement l'écosystème : *Lactobacillus plantarum* et *Leuconostoc pseudomesenteroides*
- 🍷 Très grande homogénéité des résultats sur les 36 fermentations domestiques => **un procédé robuste et répétable**
- 🍷 A étudier plus en détail : Est-ce que l'ajout de ferment pourrait limiter le nombre d'entérobactéries entre J0 et J3 ?



# Pour conclure/en résumé/ à retenir

- 🌈 **Pas d'aliments fermentés sans microorganismes** (aliment fermentés = aliments vivants, de l'ordre de  $10^7$  UFC/g)
- 🌈 Diversification, arômes, texture, santé (probiotique et micronutriments)
- 🌈 Très grande diversité des écosystèmes
- 🌈 Abondance des données bibliographiques variables selon les types de végétaux fermentés
- 🌈 Des espèces prédominantes dans les écosystèmes végétaux : Lactobacilles (*L. plantarum*), *Leuconostoc*,... => espèces ubiquitaires "nomades"
- 🌈 **Tout un monde à explorer !!! Mieux connaître pour mieux utiliser**

Présentation du projet FLEGME (S. Leherissey & M-P. Cassagne)





**Merci de votre attention !**

