



HAL
open science

Communautés microbiennes de légumes fermentés domestiques et artisanaux

Anne Thierry, Marie-Noëlle Madec, Anne-Sophie Bage, Cecile Grondin,
Angèle Thiriet, Victoria Chuat, Laurent Marché, Florence Valence

► To cite this version:

Anne Thierry, Marie-Noëlle Madec, Anne-Sophie Bage, Cecile Grondin, Angèle Thiriet, et al.. Communautés microbiennes de légumes fermentés domestiques et artisanaux. 23ème édition du colloque du Club des Bactéries Lactiques, UMR INRAE - Institut Agro STLO (Science et Technologie du Lait et de l'Œuf), Jun 2022, Rennes, France. hal-03694155

HAL Id: hal-03694155

<https://hal.inrae.fr/hal-03694155v1>

Submitted on 13 Jun 2022

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

➤ Communautés microbiennes de légumes fermentés domestiques et artisanaux

Club des Bactéries Lactiques – Juin 2022 – session 3

Anne Thierry, Marie-Noelle Madec, Anne-Sophie Bage, Victoria Chuat, Laurent Marché, Florence Valence



➤ Légumes fermentés ?



Peu consommés en Europe de l'Ouest, exceptée la **choucroute**, mais très nombreux légumes fermentés consommés en Europe centrale et Asie

Objectif 1^{er} = **préservation** les légumes comme source de **vitamines** en hiver, quand les légumes frais ne sont pas disponibles

Réémergence comme moyen de produire aliments de bonne qualité à l'échelle domestique, mais aussi artisanale et par des chefs

Généralement produits par **fermentation spontanée**, y compris pour les productions industrielles
→ Succession *Enterobacteriaceae* puis diverses espèces de bactéries lactiques

Projet participatif FLEGME : Fermentation des LEGuMEs

NB : aspects liés aux sciences et recherches participatives détaillés dans la présentation de Florence Valence 10 juin

Exemples de légumes produits par découpe, saumurage et fermentation à température ambiante

Name	Origin	Main ingredients
Sauerkraut/Choucrute	Germany, France, U.K., USA and Canada	Cabbage (juniper berries)
Tursu	Turkey	Cabbage, cucumber, carrot, beet,
Gundruk	India	Cabbage, mustard leaves, raddish and/or cauliflower
Sinki (raddish)	India, Nepal	Radish
Pao Cai	China	Cabbage (red pepper, scallion, ginger, garlic, anchovy)
Suan-Tsai, Suan Cai	China, Taiwan	Napa cabbage (North China) or green mustard (South and West China, Taiwan)
Jianshui	China	Cabbage or celery
Kimchi	Korea	Cabbage (red and black pepper, onions, mustard)
Dua muoi or dha muoi	Vietnam	Mustard or beet
Ca muoi	Vietnam	Eggplant

Ganzle, *Appl Microbiol Biotechnol*, 2022



➤ Dispositif expérimental FLEGME : 3 sourcings d'échantillons



2020

Sourcing 1

Collecte d'échantillons en **France** :
productions domestiques et artisanales



2021

Sourcing 3

Collecte d'échantillons en **Moldavie** :
productions domestiques et artisanales



Obj : Réaliser un **état des lieux** de la diversité des productions de légumes et communautés microbiennes associées, et évaluer leur sécurité microbiologique

Dénombrement
et isolement
souches

Metabarcoding

Analyses
physicochimique
et [NaCl]

Analyse
composés
d'intérêt

2021

Sourcing 2

Fabrication expérimentale de légumes fermentés selon un plan factoriel avec suivi en cinétique

Obj : Evaluer l'influence des facteurs découpe et sel sur la composition de deux légumes fermentés

➤ Sourcing 1

Collecte et caractérisation microbiologique de 75 échantillons de légumes fermentés domestiques et artisanaux en France



➤ Sourcing 1 : échantillons collectés et analyses

Caractéristiques des 75 échantillons collectés

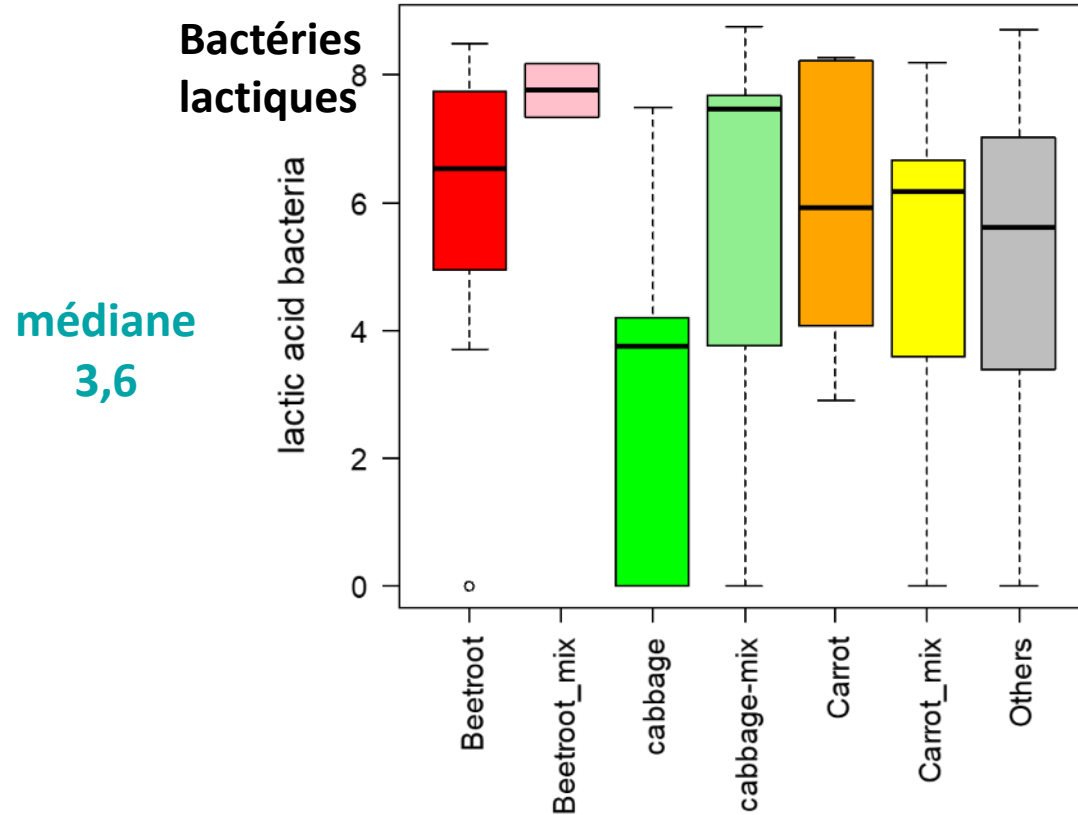
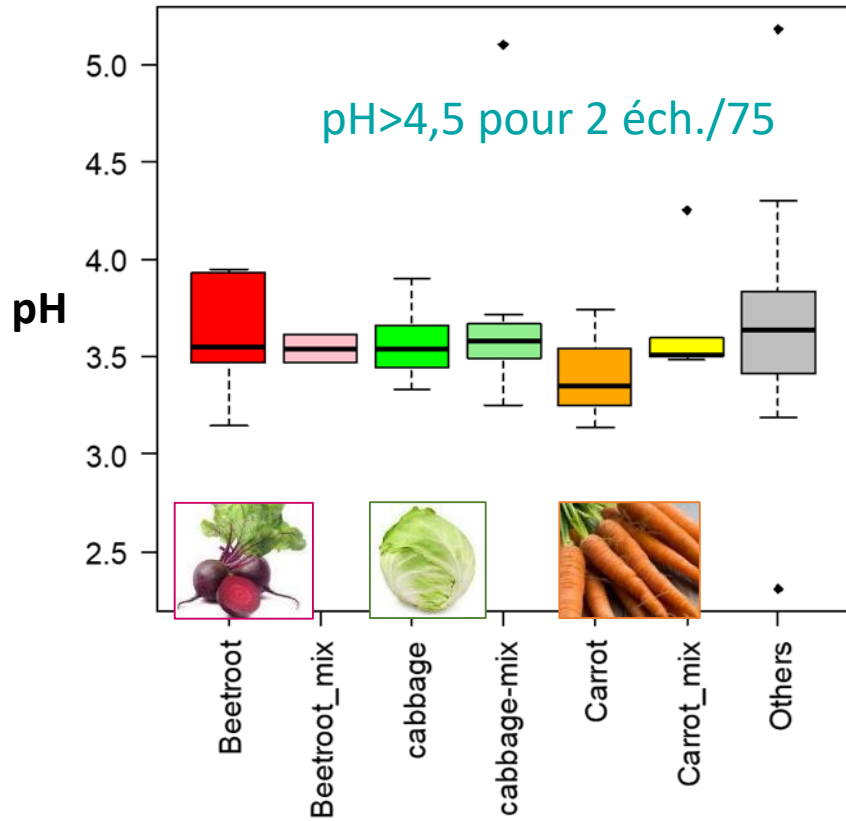
- ✓ **Une grande diversité d'échantillons collectés**
 - 23 types légumes, principaux = chou, carotte et betterave
 - Principalement issus de productions personnelles ou producteurs locaux en bio
- ✓ **Très majoritairement issus de fermentation spontanée** : 71 des 75 échantillons
(3 inoculés par backslopping et 1 par du kéfir)
- ✓ **Age (durée de conservation) très variable** : âge médian 6 mois; varie de 2 semaines à 4 ans
- ✓ **Teneur en sel** utilisée/préconisée : 1-2% ; teneur médiane mesurée : 1 %



Dénombrements effectués

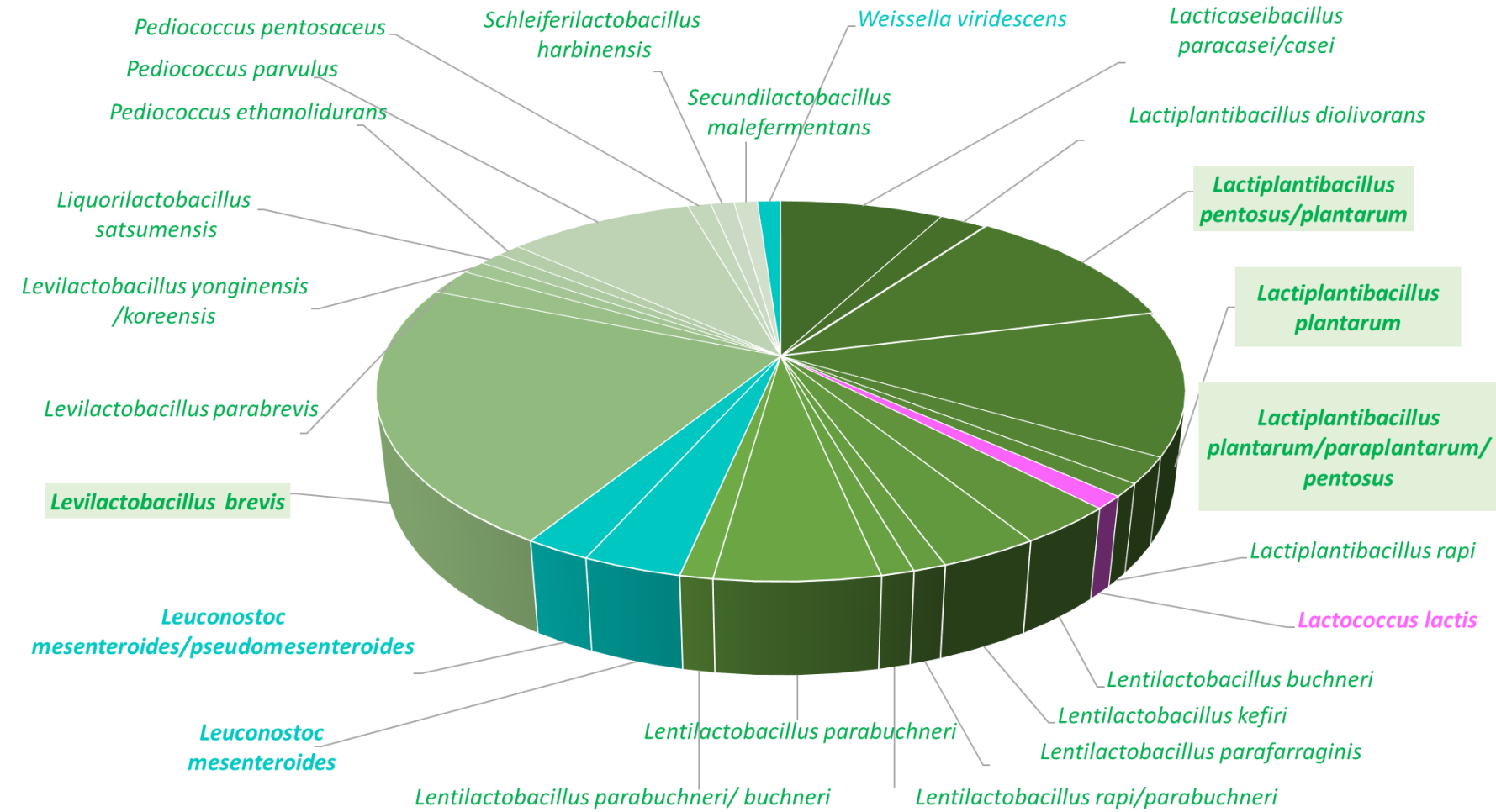
- ✓ Huit groupes microbiens dont bactéries lactiques (MRS) et entérobactéries (VRBG)
- ✓ **Bactéries pathogènes** : *Escherichia coli*, staphylocoques coagulase-positive, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* : **absence**

➤ Résultats : pH et dénombrements



- ✓ Pas de relation significative entre pH, nombre de BL et type de légume
- ✓ Relation significative entre nombre de BL et âge des échantillons : un nombre élevé (>7 log) de BL vivantes plus fréquemment observé dans échantillons de moins de 100 jours
- ✓ Entérobactéries détectées dans seulement 4 échantillons (2 à 7 log UFC)

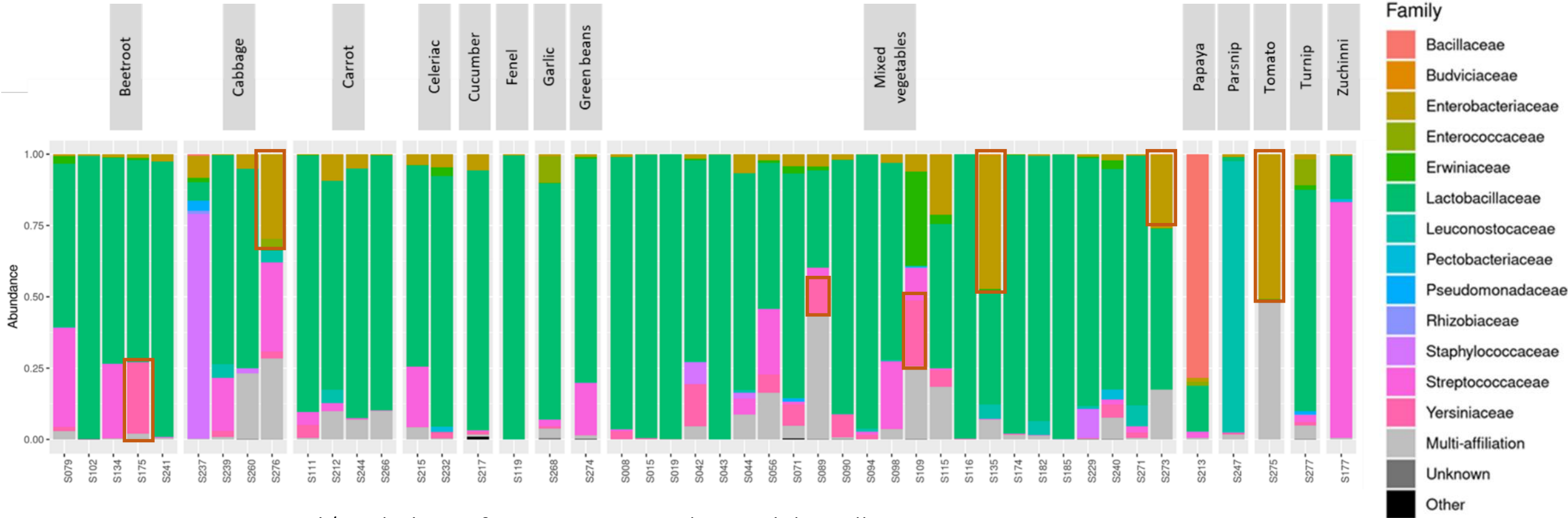
➤ Bactéries lactiques isolées



- Collecte de 90 bactéries lactiques 1 à 3 colonies prélevées de façon aléatoire sur MRS, isolées et identifiées par séquençage 16S
- 25 taxons sur les 90 isolats
- Principalement famille *Lactobacillaceae* dont :
 - 26 % groupe *Lactiplantibacillus plantarum*
 - 22 % *Levilactobacillus brevis*
- conservés au CIRM-BIA et disponibles pour la recherche

16S RNA gene (V3-V4 regions) – analyse via FROGS et assignation avec SILVA

➤ Résultats métabarcoding



- ADN en quantité/qualité satisfaisante pour 47 des 75 échantillons
- Communauté bactérienne dominée par *Lactobacillaceae* pour 40 des 47 échantillons
- *Streptococcaceae* dans 1/3 des échantillons (*Lactococcus*)
- *Enterobacteriaceae* ou *Yersiniaceae* dans plus de 2/3 des échantillons

Décalage concernant entérobactéries par 2 approches ➔ cinétiques bactériennes ?





Protial
La bonne formule

➤ Sourcing 2

Suivi en cinétique de fabrications
expérimentales de légumes fermentés



ctopa



INRAE
INRAE

Microbial communities of home-made fermented vegetables

9 Jun 2022



➤ Plan d'expérience 2³

2 légumes



x 2 *facteur découpe*



feuille

émincé

rondelle

râpée

Fermentation à 19°C

x 2 *facteur [sel]*



0,8%

1%

0,8%

1%

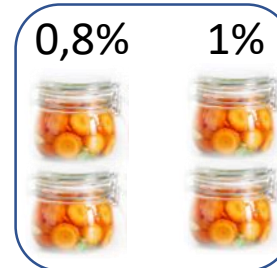
0,8%

1%

0,8%

1%

(% masse totale)



Conditions et suivi

- Suivi cinétique avec prélèvement en duplicata (2 bocaux différents)
- Suivi microbio par approche culturale et métabarcoding 16S

Facteur sel :

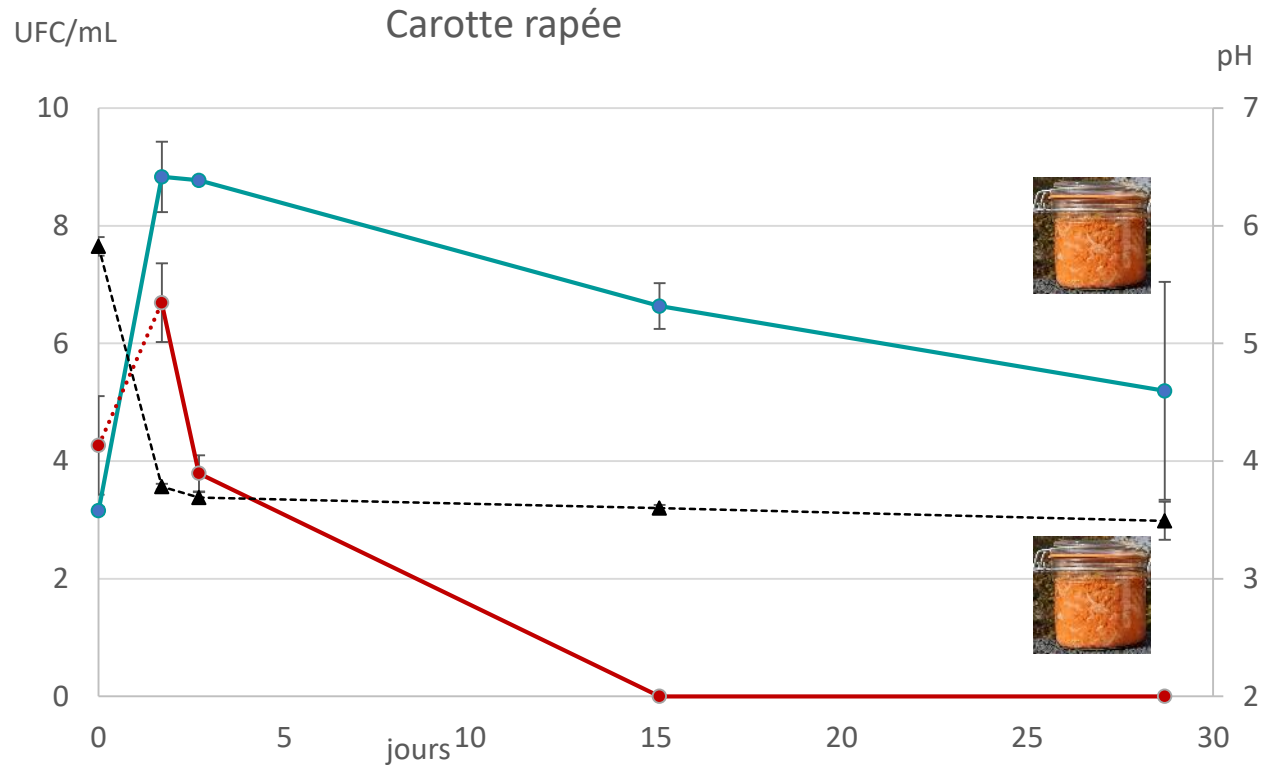
pas d'effet significatif de la concentration en sel

→ 4 bocaux par point

➤ Cinétique fermentation, exemple carotte râpée

Nombre de bactéries lactiques, entérobactéries et pH

! nombre maximal entérobactéries pas forcément observé

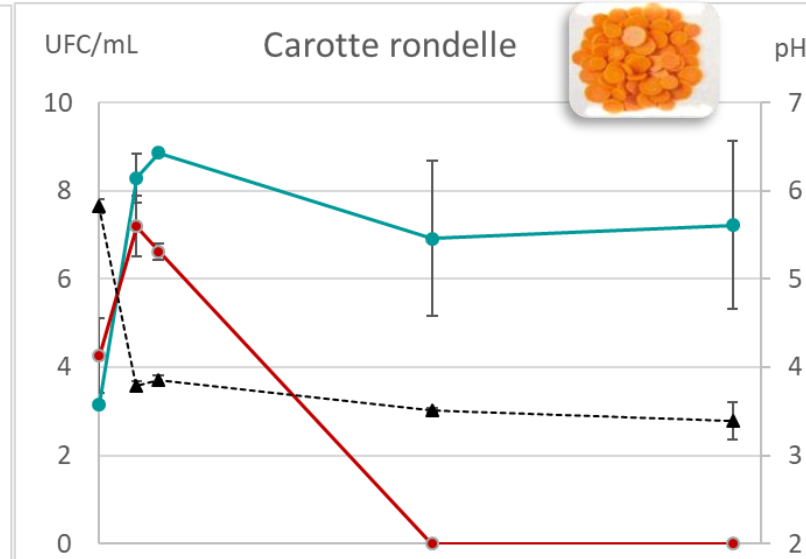
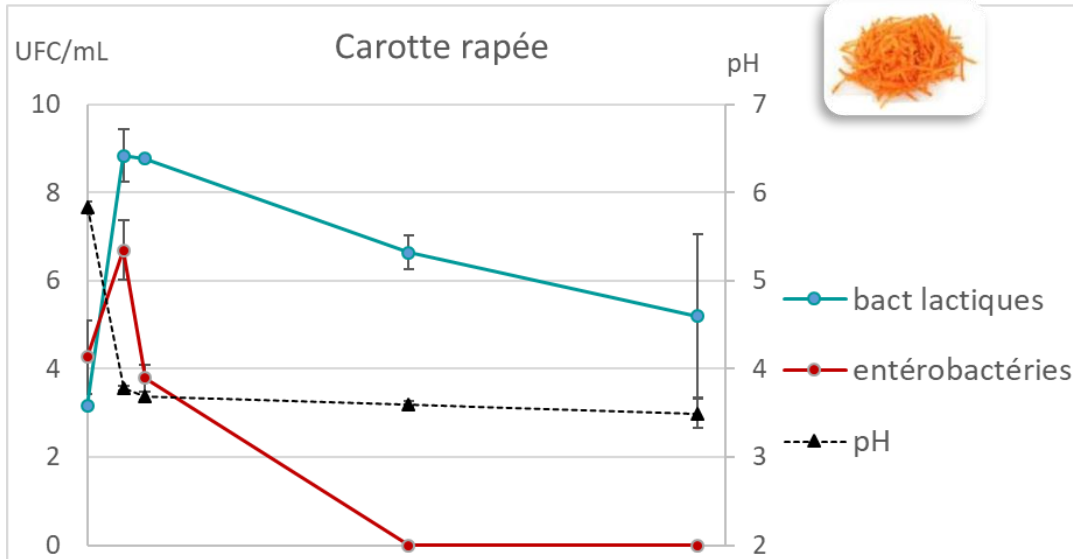


Grosses variations entre bocaux :

7,9 log bact lactiques, pH 3,20 [lactate] 5,9 g/L

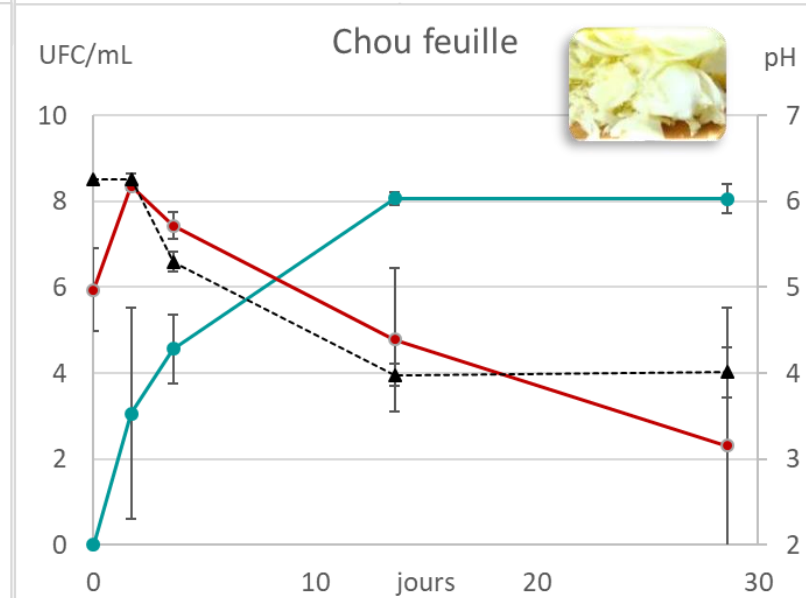
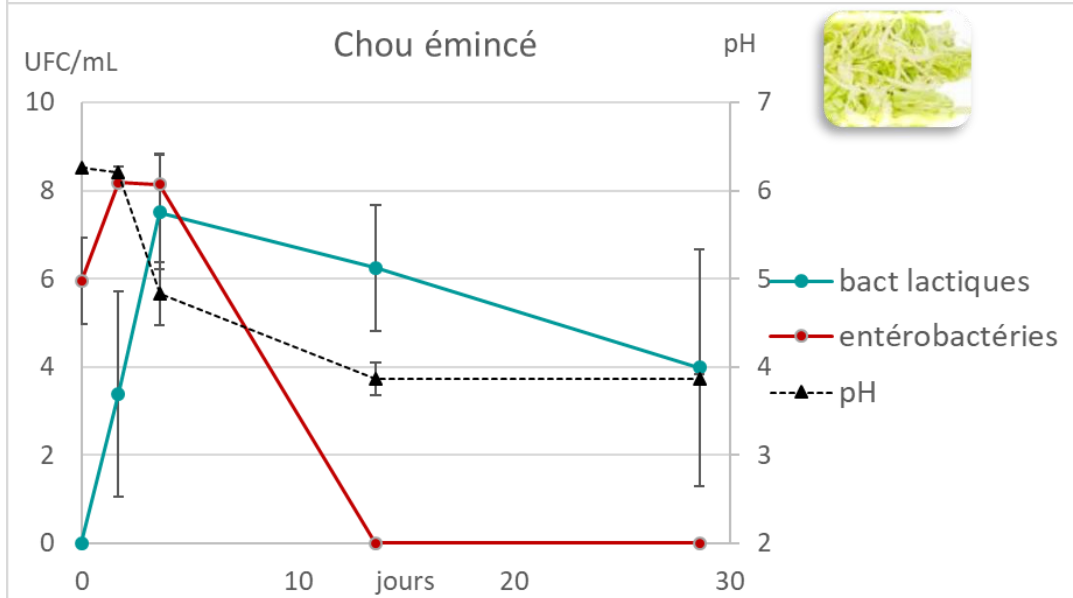
4,9 log bact lactiques, pH 3,58 [lactate] 4,1 g/L

➤ Cinétique de fermentation des 2 légumes



démarrage + rapide
pour découpe râpée

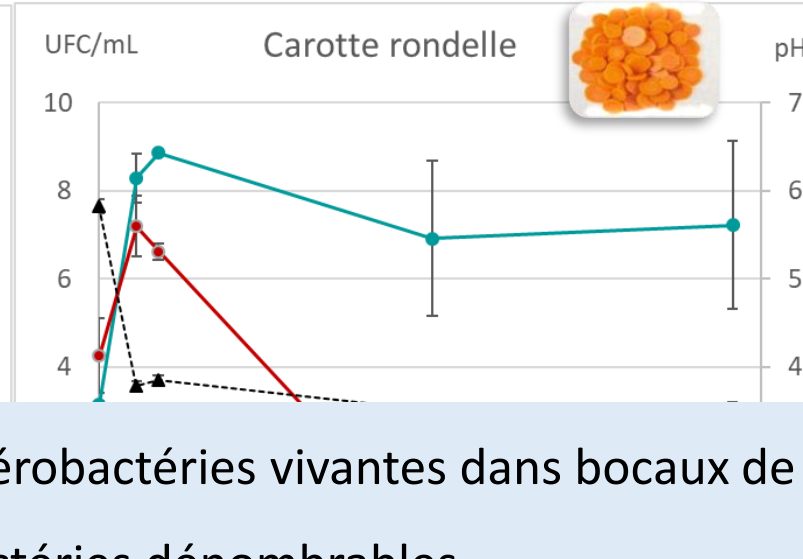
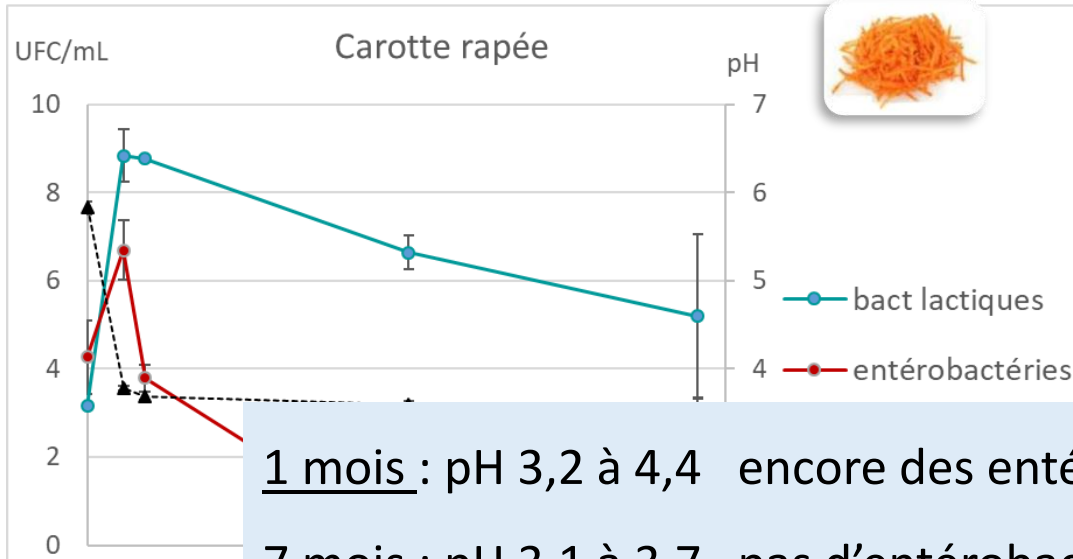
à 40 h pour les 2 découpes :
bact. lactiques > 7,7 log
pH < 3,9



démarrage +/- lent

à 40 h :
0 à 5,8 log bact lactiques
pH > 6,1
> 8,2 log entérobactéries

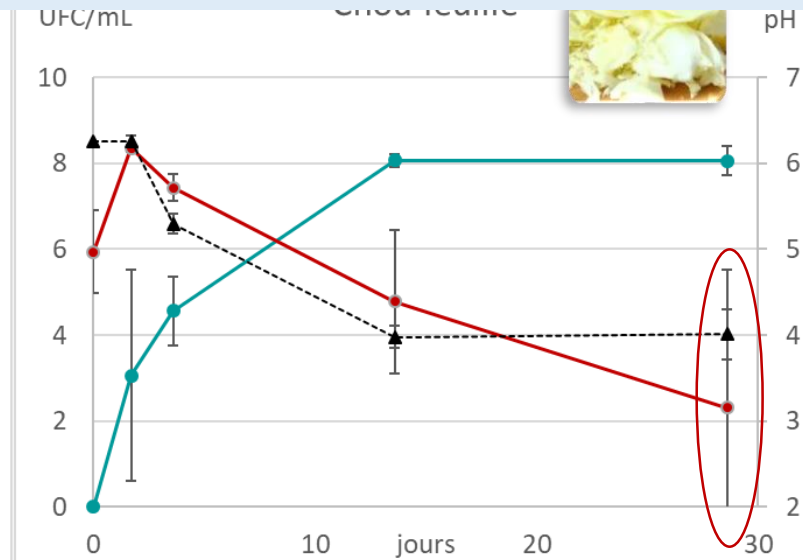
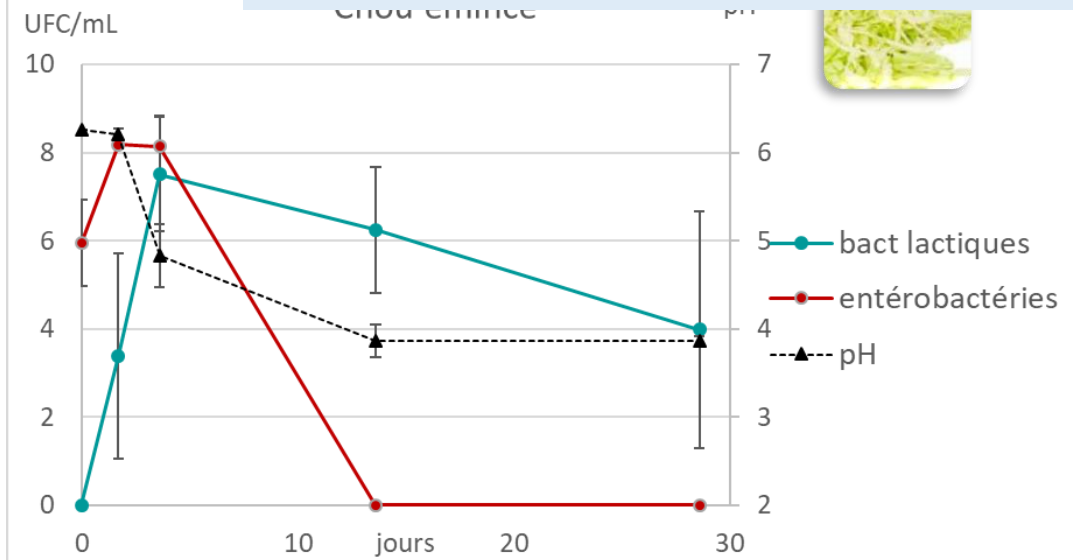
➤ Cinétique de fermentation des 2 légumes



démarrage + rapide
pour découpe râpée

à 40 h pour les 2 découpes :
bact. lactiques > 7,7 log

1 mois : pH 3,2 à 4,4 encore des entérobactéries vivantes dans bocaux de chou feuille
7 mois : pH 3,1 à 3,7 pas d'entérobactéries dénombrables



démarrage +/- lent

à 40 h :
0 à 5,8 log bact lactiques
pH > 6,1
> 8,2 log entérobactéries

➤ Comparaison des deux sourcings et conclusions

	Sourcing 1 : 75 légumes	Sourcing 2 : suivi cinétique 2 légumes
pH	3,6	3,7 (1 mois) 3,5 (7 mois)
Bactéries lactiques	dominantes	Dominantes <u>après</u> 2 J (carotte) ou 5-10 J (chou)
identification isolats	25 taxons/90 isolats	16 taxons/58 isolats
	89% <i>Lactobacillaceae</i>	66% <i>Leuconostoc</i>
Entérobactéries	dans 5% produits (2 à 7 log)	dans 100% éch avant 4 J (3,7 à 8,9 log) dans 13% éch à 1 mois (2,5 à 6,8 log) non détectées à 7 mois

- ✓ **Compétition** entre **bactéries lactiques** et **entérobactéries** en début de fermentation
- ✓ **Sourcing 2** : forte variabilité d'un bocal à l'autre pour le même légume dans les mêmes conditions
→ résultats de métabarcoding en attente pour éclairer la nature des différences entre bocaux :
simple décalage de cinétique ou communautés différentes ?

➤ Comparaison des deux sourcings et conclusions

	Sourcing 1 75 légumes	Sourcing 2 : suivi cinétique 2 légumes
pH	3,6	3,7 (1 mois) 3,5 (7 mois)
Bactéries lactiques	dominantes	Dominantes <u>après</u> 2 J (carotte) ou 5-10 J (chou)
identification isolats	25 taxons/90 isolats	16 taxons/58 isolats
	89% <i>Lactobacillaceae</i>	66% <i>Leuconostoc</i>
Entérobactéries	dans 5% produits (2 à 7 log)	dans 100% éch avant 4 J (3,7 à 8,9 log) dans 13% éch à 1 mois (2,5 à 6,8 log) non détectées à 7 mois
Levures fréquence	dans 48% de produits	dans 54% échantillons
	max 7,8 log	max 7,9 log

- ✓ **Compétition** entre **bactéries lactiques** et **entérobactéries** en début de fermentation
- ✓ **Sourcing 2** : forte variabilité d'un bocal à l'autre pour le même légume dans les mêmes conditions
→ résultats de métabarcoding en attente pour éclairer la nature des différences entre bocaux :
simple décalage de cinétique ou communautés différentes ?
- ✓ Présence de **levures** dans la moitié des échantillons, parfois à niveaux élevés → **rôles potentiels** ?

Merci à toute l'équipe projet

Olivier Picard
Master2 2020

Liza Bégriche
Master2 2021



Marie-Noelle Madec
Victoria Chuat
Anne-Sophie Bage
Florence Valence



Laurent Marché

*aux partenaires et aux citoyens
qui nous ont confié leurs échantillons
et à vous pour votre attention !*

