

Synthèses

Flores protectrices pour la conservation des aliments

M. Zagorec, S. Christieans, coord.



éditions
Quæ

Flores protectrices pour la conservation des aliments

Flores protectrices pour la conservation des aliments

Monique Zagorec, Souad Christieans,
coordinatrices

Éditions Quae
RD10, 78026 Versailles Cedex

Collection Synthèses

Organisations et sociétés paysannes

Une lecture par la réciprocité

Éric Sabourin

2012, 282 p.

Apprendre à innover dans un monde incertain

Concevoir les futurs de l'agriculture et de l'alimentation

Émilie Coudel, Hubert Devautour, Christophe-Toussaint Soulard, Guy Faure,

Bernard Hubert, coordinateurs

2012, 248 p.

Odorat et goût. De la neurobiologie des sens chimiques aux applications

Roland Salesse et Rémi Gervais, coordinateurs

2012, 550 p.

Comment l'herbe pousse. Développement végétatif, structures clonales
et spatiales des graminées

Michel Lafarge, Jean-Louis Durand

2011, 184 p.

Grands paysages pédologiques de France

Marcel Jamagne

2011, 624 p.

Production durable de biomasse. La lignocellulose des poacées

Denis Pouzet

2011, 216 p.

Éditions Quæ

RD 10, 78026 Versailles Cedex

© Éditions Quæ, 2013

ISBN : 978-2-7592-1921-6

ISSN : 1777-4624

Le code de la propriété intellectuelle interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique, et est sanctionné pénalement. Toute reproduction, même partielle, du présent ouvrage est interdite sans autorisation du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20 rue des Grands-Augustins, Paris 6^e.

Table des matières

Avant-propos	VII
Introduction.	
La biopréservation et les micro-organismes bioprotecteurs	1
<i>M. Zagorec, M.-C. Champomier-Vergès, S. Christeans</i>	
Chapitre 1. Critères de sélection des micro-organismes bioprotecteurs	7
<i>C. Denis, M.-C. Champomier-Vergès, M. Zagorec, R. Talon, V. Michel</i>	
Activités inhibitrices dans l'aliment	7
Production et faisabilité industrielle	8
Évaluation de l'innocuité des souches	10
Références bibliographiques	14
Chapitre 2. Mécanismes d'action	19
<i>S. Christeans, C. Delbès-Paus, C. Denis, M.-C. Montel, H. Prévost, M. Rivollier, V. Stahl</i>	
Introduction	19
Action en lien avec les bactéries	20
Action en lien avec les phages	34
Références bibliographiques	37
Chapitre 3. Applications dans la filière des produits laitiers et fromagers ..	45
<i>E. Jamet, F. Irlinger, C. Delbès-Paus, M.-C. Montel, S. Fraud</i>	
Les spécificités des produits de la filière	45
Les flores pathogènes rencontrées dans les produits laitiers et fromagers ...	46
Les principales flores d'altération rencontrées dans les produits laitiers et fromagers	49
Les applications de la biopréservation	54
Conclusion	62
Références bibliographiques	62

Chapitre 4. Applications dans la filière des produits carnés	69
<i>C. Feurer, S. Christieans, M. Rivollier, S. Leroy, R. Talon, M. Champomier-Vergès, M. Zagorec, M.-H. Desmonts</i>	
Les spécificités des produits de la filière	69
Les bactéries pathogènes dans les produits carnés	71
Les principales flores d'altération rencontrées dans les produits carnés	75
Les applications de la biopréservation	78
Références bibliographiques	85
Chapitre 5. Applications dans la filière des produits de la mer	91
<i>B. Le Fur, D. Wacogne, S. Lorre, M.F. Pilet, F. Leroi</i>	
La filière française des produits aquatiques en quelques chiffres	91
Les spécificités des produits de la filière	92
Les flores pathogènes des produits aquatiques	93
Les principales flores d'altération des produits aquatiques	96
Les applications de la biopréservation dans la filière	98
Conclusion	105
Références bibliographiques	105
Chapitre 6. Applications aux produits alimentaires d'origine végétale	111
<i>E. Hamon, C. Denis, M.H. Desmonts, V. Stahl</i>	
Introduction	111
Fruits et légumes crus	111
Produits d'origine végétale transformés fermentés	117
Produits d'origine végétale transformés non-fermentés	122
Conclusion et perspectives	129
Références bibliographiques	130
Chapitre 7. Vers une réglementation appropriée des flores protectrices ...	135
<i>H.E. Spinnler, M. Zagorec, S. Christieans</i>	
Introduction	135
Rappel des bases de la réglementation actuelle pour la dénomination des composants alimentaires	136
Comment les cultures protectrices pourraient être définies ?	139
Conclusion	141
Références	142
Liste des auteurs	145

Avant-propos

La bioconservation, ou biopréservation, est une méthode de conservation des aliments faisant appel à des micro-organismes, appelés encore cultures protectrices, ou à leurs métabolites naturels. Ces termes sont généralement utilisés en opposition à l'ajout de conservateurs dits « chimiques » classiquement utilisés dans les industries agro-alimentaires. La biopréservation, comme toute autre méthode de conservation, doit permettre de maîtriser la croissance de flores pathogènes ou d'altération, tout en préservant les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit au cours de sa durée de vie.

Il existe différentes voies permettant la biopréservation des aliments. Ainsi, il est possible d'utiliser des micro-organismes, tels que les bactéries lactiques, dans des procédés ancestraux, comme la fermentation traditionnellement utilisée pour la fabrication de produits d'origine animale ou végétale. De nombreux produits traditionnels, par exemple les fromages, les saucissons secs ou la choucroute, ont bénéficié de cette pratique depuis des siècles. Dans ce type de procédé, le rôle conservateur des bactéries lactiques est principalement lié à leur compétitivité, qui leur permet de croître et dominer aux dépens des autres espèces, ainsi qu'à leur capacité à produire des molécules antagonistes, telles que des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène ou différentes substances de nature peptidique. Certaines de ces substances – issues du métabolisme bactérien – peuvent également être directement ajoutées pour maîtriser le développement de flores indésirables. Parmi elles, on trouve de petits peptides appelés bactériocines. Dans la large gamme des bactériocines connues et caractérisées, seule la nisine (E234) fait l'objet d'une autorisation d'utilisation limitée à certaines catégories de denrées alimentaires, telles que les produits fromagers (directive CE 95/2). Comme autre voie de biopréservation, on peut mentionner l'emploi de bactériophages, virus capables d'infecter des bactéries. Dans ce cas, la biopréservation réside dans la spécificité du virus à infecter et à lyser une espèce bactérienne donnée. Outre les micro-organismes et leurs métabolites, la biopréservation peut faire appel à d'autres composés, comme la lactoperoxydase, une enzyme naturellement présente dans le lait, ou à des extraits végétaux (de romarin, thym, thé vert ou de pépins de raisin, huiles essentielles). Depuis presque vingt ans, la potentialité des cultures protectrices ne concerne plus seulement les produits fermentés, mais devient également prometteuse pour différentes denrées transformées ou fraîches. En effet, en raison de la diversification des produits et procédés, de l'évolution des modes de consommation et des nouvelles règles et normes sanitaires, la biopréservation représente une méthode alternative et innovante. Ce caractère innovant explique l'affichage, à l'échelle internationale, de la thématique biopréservation dans les programmes de la plupart des grands instituts de recherche en

agroalimentaire. Cependant, en Europe, malgré l'intérêt suscité par les cultures protectrices en tant que moyens d'optimisation et de sécurisation des aliments, qu'ils soient fermentés ou non, les applications industrielles restent limitées. Cette limitation est due au frein réglementaire représenté par l'absence d'une définition claire du statut légal des flores protectrices, à une insuffisance de connaissances scientifiques concernant l'impact de ces flores sur l'évolution de l'écologie microbienne des aliments et des mécanismes impliqués, et à un manque de recul sur la réelle efficacité des flores protectrices dans ces aliments.

Dans ce contexte, sous l'égide de l'Association coordination technique de l'industrie agroalimentaire (Actia), un consortium d'experts de la biopréservation, issus d'établissements de recherche/enseignement publics et privés, s'est constitué en 2009 pour la mise en place d'un « réseau mixte technologique » (RMT) autour de la thématique des flores protectrices¹. La pertinence de ce réseau, reconnu et agréé par le ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Pêche, repose sur la collaboration entre trois filières agroalimentaires : les produits carnés, les produits fromagers et les produits de la mer, connus pour leur nature périssable et leur implication dans de nombreux cas de toxi-infections alimentaires. La mission principale du RMT est d'apporter des éléments de réponse sur la maîtrise du procédé de biopréservation permettant une meilleure gestion de la qualité et du risque sanitaire des produits. Son premier objectif a été la rédaction de cet ouvrage, qui a pour but de recenser l'état de l'art scientifique et technique des travaux menés à l'échelle internationale, afin d'établir un bilan des connaissances à acquérir et des freins à lever.

Dans cet ouvrage, un bilan des connaissances actuelles sur la biopréservation a été réalisé à partir de publications scientifiques internationales. Il est focalisé principalement sur l'utilisation de micro-organismes susceptibles d'améliorer la conservation de différents aliments. Après une introduction aux notions de biopréservation, les critères de sélection, notamment l'innocuité des souches potentiellement bioprotectrices, critères importants pour la sélection de micro-organismes protecteurs, ainsi que les différents mécanismes d'inhibition connus et étudiés *in vitro*, sont développés. Ensuite, trois chapitres sont consacrés aux applications des cultures protectrices dans trois filières : les produits fromagers, les produits carnés, et les produits de la mer. Enfin, des exemples d'utilisation de la biopréservation dans d'autres filières alimentaires sont abordés. Dans chacun de ces chapitres, qui décrivent des applications existantes, les principales bactéries pathogènes et d'altération rencontrées dans les produits concernés sont présentées, ainsi que des exemples d'applications spécifiques de chacune de ces filières.

Le recensement bibliographique permet donc de proposer une synthèse des méthodes d'application de flores protectrices (au stade modèle, pilote et/ou industriel) pour limiter le développement de bactéries indésirables. Il fournit également des données utiles (telles que le taux d'inoculation, les souches potentiellement utilisables, etc.) à leur mise en œuvre et souligne les axes scientifiques qu'il serait nécessaire de privilégier pour une utilisation optimale et raisonnée des flores protectrices.

1. RMT 09 « Les flores protectrices pour la conservation des aliments : utilisation, efficacité et interactions dans l'écosystème microbien » - Acronyme : FLOREPRO.

Enfin, il fait le constat des points critiques, notamment de l'absence actuelle d'une définition claire du statut légal des cultures protectrices dans les aliments. Ce point est abordé dans le dernier chapitre.

Au-delà de ces études, des agents bioprotecteurs déjà commercialisés sur le marché mondial ont été répertoriés.

La biopréservation et les micro-organismes bioprotecteurs

M. ZAGOREC, M.-C. CHAMPOMIER-VERGÈS, S. CHRISTIEANS

Les matières premières constituant les aliments sont inévitablement contaminées par des micro-organismes qui vont, au cours des étapes de transformation et de stockage, pouvoir se développer à des degrés divers dans les aliments. La croissance des micro-organismes peut engendrer – ou non – une modification notable de la matière première : le développement de certaines espèces peut être souhaité, comme celui des ferments dans les produits fermentés, ou au contraire redouté, comme celui des bactéries d'altération qui peuvent agir sur la couleur, la texture, la saveur ou l'odeur de l'aliment. Enfin, pour certaines espèces pathogènes pour le consommateur, un développement, même restreint et qui n'aurait pas d'incidence sur l'aspect ou les qualités organoleptiques des produits, est à proscrire. Garantir une bonne conservation des aliments revient donc, pour une bonne part, à maîtriser le développement microbien en ralentissant ou inhibant la croissance de flores indésirables, au profit d'espèces bénéfiques. L'application de règles d'hygiène strictes va limiter la contamination des aliments et différents procédés de conservation vont limiter le développement microbien.

Ces procédés sont de nature physique :

- la conservation au froid, qui ralentit considérablement, voire stoppe la multiplication cellulaire. Certaines espèces bactériennes sont cependant capables de croître lentement à basse température, comme notamment *Listeria monocytogenes*. La congélation abolit la croissance bactérienne et est même bactéricide pour certaines espèces. Dans ces deux cas, les micro-organismes ne vont pas se développer, mais certains pourront reprendre leur croissance si la température atteint un seuil qui le leur permet (cas de rupture de la chaîne du froid) ;
- la stérilisation par montée de température va généralement être létale pour la flore microbienne, et l'aliment sera ainsi stérile. Une contamination ultérieure du produit peut avoir des conséquences importantes, car tout nouvel organisme contaminant ne rencontrera aucune flore compétitive et pourra ainsi facilement s'implanter ;
- les radiations ionisantes ou les hautes pressions vont détruire la flore bactérienne à des degrés divers, suivant les niveaux utilisés ;
- la dessiccation, comme le séchage employé dans différents produits de salaison, ou conséquence de procédés d'égouttage, va diminuer la disponibilité en eau, ce qui aura pour conséquence de limiter le développement microbien ;

– la fumaison est une action physique qui, dans certains cas, va également engendrer une montée de température qui peut en soi être bactéricide, mais va surtout générer des molécules létales pour plusieurs micro-organismes.

D'autres procédés de conservation sont dus à l'action de molécules et sont donc de nature chimique, comme l'emploi de divers composés à effet bactéricide ou bactériostatique ; ces agents ont donc un rôle de conservateur. Pour exemple, il s'agit :

- d'acides organiques, comme l'acide lactique (additif E270) et l'acide acétique (E260), qui exercent un double rôle antibactérien. Ces acides entraînent une baisse de pH à laquelle sont sensibles de nombreux micro-organismes, et leurs formules salines (lactate de sodium, de potassium, de calcium ; additifs E325, E326 et E327) ont un effet bactériostatique ;
- de sels, tels que le chlorure de sodium et les nitrites et nitrates de sodium et potassium (E249, E250, E251, E252) ;
- du peroxyde d'hydrogène ;
- de bactériocines, tels que des lantibiotiques avec la nisine (E234), seule bactériocine autorisée comme additif alimentaire ;
- d'épices, d'extraits naturels de plantes ou d'huiles essentielles, qui contiennent des substances elles aussi bactéricides ou bactériostatiques, en plus de leurs propriétés gustatives.

Enfin, certains procédés visent à ralentir ou à inhiber le développement bactérien en jouant sur l'atmosphère gazeuse lors de la conservation. L'utilisation de l'emballage sous vide, outre une barrière physique empêchant les contaminations, va priver les micro-organismes d'oxygène et ainsi stopper le développement de bactéries aérobies strictes. Différentes atmosphères protectrices peuvent également être utilisées, soit appauvries en oxygène et qui auront un effet inhibiteur similaire à celui de l'emballage sous vide, soit au contraire enrichies en oxygène et qui auront un effet toxique sur certaines espèces bactériennes, tout en contribuant à la couleur de l'aliment (cas des viandes rouges, par exemple).

Ces différents procédés utilisés de nos jours sont liés à des pratiques maîtrisées et dont on connaît, pour la plupart, les mécanismes d'action contribuant à la bonne conservation des aliments. Ils résultent ou ressemblent souvent à des pratiques ancestrales et empiriques. Le salage, le saumurage, le fumage sont des pratiques très anciennes, qui finalement correspondent à l'ajout ou à la génération de molécules bactéricides ou bactériostatiques, ou qui modifient la disponibilité en eau. Le séchage modifie également la disponibilité en eau. Les conservations dans l'huile privent les micro-organismes d'oxygène. Enfin, la conservation au froid était déjà attestée dans l'antiquité par l'utilisation de glaciers et le stockage de la neige. Si de nos jours, l'utilisation d'épices ou du fumage est surtout associée pour le consommateur au goût des aliments, ces méthodes contribuent grandement à leur salubrité. La fermentation est un autre exemple de procédé de conservation perçu par le consommateur plus pour sa contribution aux qualités organoleptiques des aliments que pour son implication dans la qualité sanitaire des produits. En effet, la fermentation vise à prolonger la durée de vie de certains aliments ou boissons, tout en modifiant les propriétés organoleptiques de la matière initiale (chair transformée en saucisson sec, lait en fromage, choux en choucroute, ou encore jus de raisin en vin). Si l'on ne considère que l'aspect sanitaire de la fermentation, on note alors

qu'initialement réalisée par la flore naturelle présente dans la viande, le lait ou les végétaux, la fermentation conduit à la génération d'acides lactique et/ou acétique, entraînant une baisse de pH qui va mener à la coagulation des protéines et contribuer à modifier la disponibilité de l'eau. Certaines des bactéries fermentaires vont en outre produire du peroxyde d'hydrogène ou des bactériocines. L'ensemble de ces éléments va donc avoir un effet antagoniste sur le développement de nombreux micro-organismes. S'il existe encore de nombreux produits fermentés grâce à la flore naturelle, l'ajout de ferments pour garantir une meilleure reproductibilité de la qualité des produits finis s'est largement développé au cours du xx^e siècle, surtout pour les aliments produits à grande échelle, mais aussi au niveau artisanal.

Au cours des 30 dernières années, une prise en compte de la globalité des effets conjugués des différentes méthodes de conservation a conduit à l'émergence du concept de la technologie de barrière (Leistner, 2000, pour une synthèse). Il s'agit d'appliquer un ensemble de procédés qui vont chacun contribuer à inhiber le développement des flores indésirables. Conjointement, la communauté scientifique a étudié l'impact des différentes composantes intervenant dans l'effet barrière et a pointé l'importance de la flore résidente, c'est-à-dire de la composante biologique naturelle des écosystèmes des produits alimentaires. Ainsi, l'effet bénéfique de certaines souches ou espèces bactériennes a été révélé : une corrélation, entre la présence de ces espèces « positives » et la réduction du développement de flores pathogènes ou d'altération, a été observée. De nombreuses études ont cherché à décrire et comprendre les mécanismes impliqués qui se sont révélés être multiples et, pour certains, relativement complexes. Les résultats les plus aboutis ont principalement concerné les bactériocines : la faculté largement répandue chez les bactéries, notamment les bactéries lactiques, à produire ces composés inhibiteurs, en a fait des modèles d'études. Ainsi, de nombreuses bactériocines et leurs mécanismes de production ont été décrits. Toutefois, d'autres facteurs impliqués dans l'effet barrière des bactéries « positives », plus divers et plus complexes, ont été décrits, mais leur compréhension n'est encore que parcellaire. Parallèlement, l'idée d'utiliser ce processus naturel, afin de maîtriser la conservation des aliments, a vu le jour. Le terme anglais de *biopreservation* a ainsi été décrit par Stiles en 1996 : « Biopreservation refers to extended storage life and enhanced safety of foods using the natural microflora and (or) their antibacterial products » ; c'est-à-dire : la biopréservation (bioconservation) fait référence à une prolongation de la durée de vie et une meilleure qualité sanitaire des aliments par l'utilisation de la microflore naturelle (ou) de ses métabolites antibactériens. Le fait de sélectionner, à partir de cette microflore, des souches efficaces dans le but de les rajouter aux aliments, a conduit à la notion de cultures protectrices. Les termes de cultures protectrices ou bioprotectrices – et de bioprotection – en ont découlé.

La biopréservation est donc l'une des composantes de la technologie de barrière. Son but est d'utiliser une flore « positive » sans danger pour le consommateur et sans incidence sur les qualités sensorielles des produits, afin d'en améliorer la qualité sanitaire. L'extrême diversité des aliments (d'origine animale, végétale, etc.) et de leurs procédés de fabrication engendre un grand nombre de déclinaisons possibles de l'utilisation de flores protectrices. En effet, la nature des substrats et des espèces

bactériennes composant les écosystèmes alimentaires est variée et les cibles visées, ainsi que la nature des flores potentiellement positives, vont en dépendre. De plus, les différents procédés de transformation de la matière première et de l'élaboration de l'aliment vont exercer une pression de sélection sur le développement des différentes espèces microbiennes présentes. Enfin, la possibilité de l'addition de cultures protectrices va dépendre de la nature des produits (frais, fermentés, hachés...). On comprend donc que si le concept de biopréservation est bien défini, ses applications sont diverses et doivent être envisagées de manière adaptée à chaque aliment. Par ailleurs, force est de constater qu'en dépit de nombreux travaux scientifiques portant sur les cultures protectrices, il n'existe que très peu d'applications dans le domaine agroalimentaire. C'est pourquoi cet ouvrage recense les principales connaissances disponibles à ce jour, en traitant séparément les différentes filières alimentaires (produits laitiers, carnés, végétaux et produits de la mer) et leurs spécificités. Les différents mécanismes par lesquels les flores protectrices agissent sur la qualité sanitaire des aliments sont également recensés, ainsi que les critères requis pour la sélection de cultures protectrices. Ce recensement, que nous espérons exhaustif, et cette approche permettront au lecteur de mesurer l'étendue des connaissances dans ce domaine et de constater que le degré de développement atteint varie selon les filières et les types de produits.

L'un des objectifs de cet ouvrage, et du RMT Florepro dont il est issu, est de comprendre les raisons de la difficulté à mettre en œuvre l'utilisation de cultures protectrices pour la biopréservation des aliments de différentes filières, et ainsi d'identifier les thèmes de recherches nécessaires à la mise en application des cultures protectrices.

L'analyse de la bibliographie référencée dans cet ouvrage donne des pistes intéressantes. Une grande majorité des études que nous avons recensées, quel que soit l'aliment concerné, traite de l'utilisation des cultures protectrices pour lutter contre des flores pathogènes, beaucoup moins d'articles étant consacrés à la lutte contre les flores d'altération. Parmi les flores pathogènes ciblées, *Listeria monocytogenes* a été la plus étudiée, suivie d'*Escherichia coli*, puis des salmonelles et des staphylocoques (*Staphylococcus aureus* essentiellement). En comparaison, assez peu d'articles traitent d'autres pathogènes, tels que *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Yersinia* ou *Campylobacter*. Il n'existe donc pas de lien très clair entre la masse de données scientifiques pour utiliser une flore protectrice contre un pathogène et le nombre de cas de toxi-infections qu'il cause, mais plutôt avec la gravité des cas engendrés. Il existe, en revanche, un lien temporel entre l'émergence des études scientifiques et la détection d'épidémies. En effet, de nombreuses études ont été consacrées à *L. monocytogenes* à la suite d'épidémies recensées dans les années 1990. Cependant, l'importance de ces études perdure encore, alors que le nombre de cas de listérioses a, depuis, grandement diminué. De même, on observe un intérêt grandissant pour *E. coli*, suite à l'émergence de ce pathogène dans les produits carnés, puis dans d'autres filières. En revanche, les salmonelles, bien que responsables d'un plus grand nombre de cas, ont fait l'objet de moins d'études. Le cas des *Campylobacter* est intéressant : en effet, considéré depuis peu comme l'agent pathogène le plus fréquemment responsable de zoonoses en Europe, les études de biopréservation ciblant *Campylobacter* sont encore peu nombreuses, et moins fréquentes que celles

portant sur la virulence de la bactérie. Ceci traduit certainement le décalage existant entre le lancement d'études visant à lutter contre un pathogène et la détection de son émergence, alors qu'au contraire on remarque une persistance à étudier un pathogène alors que des pistes aptes à diminuer son impact ont été identifiées. De même, on n'observe pas de corrélation nette entre l'énergie mise dans les recherches (nombre d'articles, types de recherches) et les règles sanitaires mises en place (incidence avérée et tolérée). Une meilleure connexion entre la mise en évidence d'un problème sanitaire, les obligations légales le concernant et l'approche scientifique destinée à contribuer à le juguler serait certainement souhaitable.

Le faible nombre d'études s'intéressant à la lutte contre les flores d'altération est également à noter. Alors que les pertes économiques causées par le retrait de produits altérés sont lourdes, peu d'efforts ont été consacrés à la lutte contre l'altération en vue d'une meilleure conservation des aliments, et éventuellement l'augmentation de leur durée de vie microbiologique par le biais de la biopréservation. La sensibilisation récente au développement durable, incluant la lutte contre les pertes pour améliorer la durabilité de l'alimentation, est peut-être l'explication d'un attrait récent des cultures protectrices vis-à-vis de l'altération microbienne des aliments. De plus, la lutte efficace contre les flores d'altération par le biais de cultures protectrices pourrait être plus facile à atteindre dans la mesure où, dans bien des cas, une simple diminution du seuil de la population altérante, sans forcément atteindre un niveau zéro, devrait contribuer à améliorer ou à garantir la qualité des aliments, du moins jusqu'à leur date limite de consommation (DLC).

Un fait marquant de l'analyse bibliographique est l'observation que les recherches menées sur l'utilisation de la biopréservation concernent toutes les filières, avec des avancées plus ou moins similaires pour chacune d'entre elles. Par exemple, il n'y a finalement pas plus de développement de cultures protectrices dans la filière des produits laitiers fermentés, qui a bénéficié de nombreuses études de microbiologie fondamentale et appliquée depuis plusieurs décennies, que dans la filière des produits de la mer, pourtant bien plus diverse et dont les études de microbiologie sont réalisées par une communauté de chercheurs moins vaste. De même, les études concernent aussi bien des produits fermentés que des aliments frais ou plus ou moins transformés. Ceci tend à montrer que la communauté scientifique s'est mobilisée sur tous les fronts.

On peut cependant regretter la quasi inexistence de recherches menées sur les écosystèmes microbiens dans leur ensemble. La grande majorité des études ne cible qu'une espèce bactérienne (voire une souche). Or, la biopréservation devrait être considérée de manière globale : en effet, il est nécessaire d'estimer si la lutte efficace contre une flore microbienne ciblée ne contribue pas à en favoriser une autre, tout aussi néfaste. Les méthodes en « -omique » (génomique, protéomique, transcriptomique) ont tout d'abord bénéficié aux produits laitiers, en raison d'une forte communauté de chercheurs dans ce domaine. Ensuite, pour toutes les autres filières (produits carnés, de la mer, végétaux), ces approches ont également été mises en place, ce qui explique certainement la mention – faite plus haut – de l'essor des recherches en microbiologie dans toutes les filières, sans retard apparent de l'une ou de l'autre. Le développement des nouvelles technologies de séquençage en masse permet depuis plusieurs années l'étude d'écosystèmes microbiens complexes. Mais

pour l'instant, ce sont surtout les scientifiques s'intéressant aux microbiotes humains (tractus digestif) ou environnementaux (sols) qui se sont emparés de ces méthodes. Il serait souhaitable que les industries alimentaires bénéficient également de ces technologies, en particulier pour l'étude de la biopréservation.

► Références bibliographiques

LEISTNER L., 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *Int. J. Food Microbiol.*, 55, 181-186.

STILES M.E., 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 331-345.

Critères de sélection des micro-organismes bioprotecteurs

C. DENIS, M.-C. CHAMPOMIER-VERGÈS,
M. ZAGOREC, R. TALON, V. MICHEL

Si les cultures protectrices sont attendues pour leur effet positif sur l'hygiène des produits, elles doivent avant tout, comme tous les autres ferments, satisfaire aux critères habituellement requis pour une utilisation industrielle de cultures microbiologiques. Ces cultures doivent notamment résister aux procédés de fabrication des aliments mis en œuvre et s'implanter dans l'aliment. Elles doivent en outre présenter les propriétés suivantes :

- aptitude à inhiber les flores indésirables dans l'aliment ;
- aptitude à la production industrielle ;
- innocuité.

► Activités inhibitrices dans l'aliment

La plupart des cultures protectrices ont essentiellement été sélectionnées pour leur activité inhibitrice par production de bactériocines, celles-ci étant généralement dirigées contre des bactéries pathogènes. L'approche classique consistait à cribler en milieu de laboratoire des souches, le plus souvent de bactéries lactiques, isolées d'environnements naturels ou de produits fermentés, contre des souches cibles pathogènes indésirables dans les produits. Dans un second temps, ces souches étaient testées dans les aliments. Si la littérature décrit de nombreux exemples de telles propriétés, l'application au niveau industriel de ces souches prometteuses en laboratoire s'est souvent heurtée à des difficultés. Par exemple, des souches de bactéries lactiques inhibitrices, en milieu gélosé, de bactéries pathogènes ou altérantes des produits carnés, se sont révélées inefficaces contre les mêmes souches, ou incapables de se développer *in carnis* (Jones *et al.*, 2008, 2009). En effet, certains types de bactériocines ne sont pas adaptés à un usage dans les produits fermentés, car ils sont sensibles à certains ingrédients et/ou procédés. Par exemple, des enzymes protéolytiques peuvent dégrader les bactériocines et celles-ci peuvent, en outre, être adsorbées sur des protéines ou des particules de gras diminuant leur effet inhibiteur (Vignolo et Fadda, 2007). La nisine, seule bactériocine à ce jour dont l'addition est autorisée dans les produits

alimentaires, est très efficace dans les produits laitiers, mais s'est avérée inactive dans les produits carnés. Dans ce dernier cas, la présence de glutathion dans la viande rouge semble modifier la conformation de la nisine en intervenant sur sa structure, diminuant ainsi son efficacité (Stergiou *et al.*, 2006).

En conditions de laboratoire, Verluyten *et al.* (2004) ont montré que le poivre, le romarin, la noix de muscade et l'ail diminuent la production de bactériocine par *Lactobacillus curvatus*, alors que le paprika l'augmente. Le poivre noir a, par ailleurs, un effet positif sur l'activité inhibitrice de la sakacine K vis-à-vis de *Listeria monocytogenes*, aussi bien *in vitro* que dans des saucisses (Hugas *et al.*, 2002).

Des études portant sur la souche *Lactobacillus sakei* CTC494, à effet anti-listeria, ont montré que cette souche pouvait être compétitive dans différents types de saucisses fermentées, même en présence des ferments commerciaux (Ravyts *et al.*, 2008). En revanche, le niveau de l'effet anti-listeria variait en fonction de la formulation des produits (saucisses de type belge, salami italien ou Cacciatore). Une autre étude portant sur cette même souche, productrice de sakacine K, a montré que dans un milieu modèle mimant la viande, l'effet anti-listeria était bien dû à la bactériocine, et non à une compétition nutritionnelle (Leroy *et al.*, 2005b). Par ailleurs, cette souche n'a pas montré d'effet inhibiteur sur *Staphylococcus carnosus*, une espèce régulièrement utilisée comme ferment, en association avec les lactobacilles, et contribuant à la saveur des produits de salaison (Leroy *et al.*, 2005a).

Des études de modélisation ont été réalisées, afin de prédire la production et l'efficacité de bactériocines dans les conditions de production alimentaire. Les effets combinés de la température, du pH et de la concentration en NaCl, ont ainsi été modélisés pour la production de bactériocine par *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198, dans un modèle de fromage de type Kasserli (Poirazi *et al.*, 2007).

Une synthèse des possibilités d'application de bactéries productrices de bactériocines dans les aliments a été publiée en 2007 par De Vuyst et Leroy.

► Production et faisabilité industrielle

Production de biomasse

L'utilisation de ferments, quelles que soient les applications attendues (fermentation, biopréservation), implique de disposer de cultures fraîches, congelées ou lyophilisées contenant un grand nombre de micro-organismes viables. Un des critères de sélection des ferments porte donc sur leur aptitude à la production. D'un point de vue économique, l'idéal est de pouvoir produire un maximum de biomasse en un minimum de temps, et si possible dans des conditions de culture (milieux notamment) qui ne soient pas trop coûteuses (Chamba *et al.*, 1994). Le milieu ne doit pas constituer un facteur limitant, aussi le plus souvent les cultures sont réalisées en fermenteur, dans des conditions maîtrisées et contrôlées (composition et pH du milieu, température, aération...). Dans des conditions optimales de culture, les bactéries sélectionnées doivent présenter un taux de croissance important et fournir