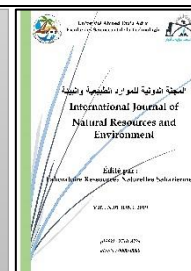




International Journal of Natural Resources and Environment

Journal home page: <https://ijnre.univ-adrar.dz>

ISSN 2710-8724



I
J
N
R
E

Valorisation des bactéries lactiques bioactives naturellement présentes dans les légumes fermentés

Yahia Bellil^{1,2} *, Wassila Chahrour Bellil^{1,2}, Taha Ahmed Benabbou^{3,4},
Zineb Benmechernene², Mebrouk Kihal²

¹Université de Saïda - moulay Tahar, Département de Biologie, Faculté des Sciences, BP. 138 Cité ENNASR 20000, Saïda, Algérie.

²Laboratoire de Microbiologie Appliquée, Département de Biologie, Faculté de sciences de la nature et de la vie, Université Oran 1 Ahmed BENBELLA, B.P. 16, Es-Sénia, 31100 Oran, Algérie.

³Département de Biologie, Faculté de sciences de la nature et de la vie, Université Hassiba Benbouali, Chlef, Algérie.

⁴Laboratoire de biologie des microorganismes et biotechnologie (LBMB), Université Oran1 Ahmed Benbella, B.P. 16, Es-Sénia, 31100, Oran, Algérie.

* Corresponding author: bellilyahia1@gmail.com (Y. Bellil)

Article details: Received: 07 February 2021, Revised: 03 March 2021, Accepted: 12 April 2021

Résumé:

Aujourd'hui les consommateurs ont tendance vers les aliments naturels, sains et fonctionnels, la plupart des fruits et des légumes que nous mangeons sont transformés, et décomposés rapidement, à cause des microorganismes et des enzymes, naturellement présents. Les fruits et les légumes sont très souvent transformés soit sous forme de jus, de confiture, etc. Dans la plupart des cas, des traitements de stabilisation sont appliqués comme le blanchiment, la pasteurisation ou le séchage. La fermentation lactique, est un procédé de conservation et de transformation des aliments utilisés depuis des millénaires. Au cours de ce procédé les sucres des aliments sont transformés par les bactéries lactiques en acide organique, avec production éventuelle d'alcool et de dioxyde de carbone. La production d'acides organiques crée un environnement stressant et inhibe la croissance d'autres microorganismes contaminants et pathogènes. Les travaux menés lors de ce travail avaient donc pour objectif d'isoler, caractériser et cribler les bactéries lactiques bioactives à partir des légumes fermentés (betterave, chou, concombre et haricot vert). De ce fait, 48 souches ont été isolées présentant phénotypiquement les caractéristiques des bactéries lactiques, ces dernières ont fait l'objet d'étude de leur pouvoir inhibiteur envers les pathogènes, c'est avec les molécules actives telle que les acides organiques ou les bactériocines produites ont montré un pouvoir inhibiteur remarquable. Ce travail a permis d'apporter une contribution à l'étude des fermentations lactiques et leur rôle majeur dans la conservation des aliments. Ces bactéries et leurs métabolites pourraient être valorisés dans le domaine agroalimentaire.

Mots clés : Bactéries lactiques, bactériocines, fermentation, les germes pathogènes, conservation.

Abstract:

Today's consumers tend towards natural, healthy, and functional foods, most of the fruits and vegetables we eat are processed and decomposed rapidly, due to the microorganisms and enzymes, naturally present. Fruits and vegetables are very often processed, whether in the form of juice, jam, cuts, etc. In most cases, stabilization treatments are applied such as bleaching, pasteurization or drying. Lactic fermentation is a process for preserving and processing food that has been used for millennia. During this process sugars in food are converted by lactic acid bacteria into organic acid, with the possible production of alcohol and carbon dioxide. The production of organic acids creates a stressful environment and inhibits the growth of other contaminating and pathogenic microorganisms. The work carried out during this work therefore aimed to isolate, characterize, and screen bioactive lactic acid bacteria from fermented vegetables (beetroot, cabbage, cucumber and green beans). As a result, 48 strains were isolated presenting phenotypically the characteristics of lactic acid bacteria, the latter were the subject of a study of their inhibitory power against pathogens, it is with active molecules such as organic acids or bacteriocins. produced showed remarkable inhibitory power. This work has made it possible to make a contribution to the study of lactic fermentations and their major role in food preservation. These bacteria and their metabolites could be used in the food industry.

Keywords: Lactic bacteria, bacteriocins, fermentation, pathogenic germs, preservation.

1. Introduction

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie. Elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques. Ces bactéries assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité alimentaire [1] (Melini et al., 2019). Cette sécurité est favorisée grâce à la production d'acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu.

Le consommateur est à la recherche de nouveaux aliments et boissons à haute valeur nutritionnelle, faciles et rapides à consommer. Pour répondre à ces attentes, la fermentation lactique de végétaux, plus précisément de fruits et légumes est en pleine voie d'expansion, bien que très ancienne [3] (Alegria et al., 2103). Les effets bénéfiques sur la santé des aliments fermentés sont de plus en plus étudiés ; une partie de ces effets résulte de l'action des microorganismes responsables de la fermentation sur notre organisme, l'autre partie résulte des métabolites produits pendant la fermentation [2] (Bautista-Gallego et al., 2020).

Les bactéries lactiques ont plusieurs rôles dans la production de produits fermentés. Tout d'abord, les bactéries lactiques (BL) vont permettre de changer la saveur de l'aliment et sa texture. Ces changements sont dus notamment à l'acide lactique produit au cours de la croissance. D'autre part, les BL produisent des peptides et des molécules comme l'acétoïne, l'acétaldéhyde, le diacétyl ou l'éthanol qui sont importants pour la flaveur des aliments [3, 4] (Alegria et al., 2013 ; Morandi et al., 2013).

Les produits végétaux fermentés ont des caractéristiques communes d'acidité élevée et de pH bas qui les rendent généralement sûrs et microbiologiquement stables tout au long de leur durée de conservation. Les fruits et légumes fermentés conservent un record exceptionnel de salubrité qui, avec leurs précieux attributs nutritionnels et organoleptiques, en font des aliments du passé et du futur [1] (Melini et al., 2019).

Des travaux récents ont mis en évidence les bienfaits de la fermentation lactique des légumes tel que l'augmentation de la durée de stockage [2] (Bautista-Gallego et al., 2020), la dégradation et ou la conversion des substances antinutritionnels [5] (Breidt et al., 2013), la biodisponibilité de vitamines et des minéraux [6] (Gest, 2004), l'amélioration de la digestibilité [7] (Björkroth et al., 2006) et l'augmentation des capacités antioxydantes [8] (Adams et Marteau, 1995).

Dans cette optique s'articule notre étude dont l'objectif est l'isolement, le screening des souches lactiques bioactives à partir des légumes fraîches fermentés.

2. Matériels et méthodes

2.1. Echantillonnage

Dans cette étude quatre légumes frais ont été choisis (Chou, betteraves, concombre, haricot vert), après préparation les légumes rincés et découpés ont été mis dans des bocaux en verre hermétiquement fermés avec de la saumure à 2% (Figure 1). La fermentation est influencée par la température à laquelle on place les pots. Au départ, il est important d'avoir une température supérieure à 15°C et inférieure à 25°C pour que la fermentation démarre rapidement, la température optimale se situant, selon les légumes, entre 18°C et 22°C, pendant 40 à 60 jours.

2.2. Isolement, purification et identification des souches

Quarante-huit isolats ont été isolés à partir des différents échantillons des légumes fermentés sur trois milieux de culture (MRS, M17, Rogoza) destinés à l'isolement des bactéries lactiques à partir des aliments. Afin de purifier les souches, des repiquages successifs sont effectués sur les bouillons (MRS). L'identification phénotypique des souches a été basée sur les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques.

2.3. Screening des souches lactiques bioactives

Les souches isolées ont été testées pour leur capacité à inhiber les bactéries pathogènes :

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27653
- *Enterobacter cloacae* ATCC 13047
- *Enterococcus gilvus* LMG 13600
- *Staphylococcus intermedius* CECT 1205.

2.4. Méthode de double couche (Spot Agar Test)

Selon Bellil et al. (2014) [9], pour mettre en évidence les zones d'inhibition, les souches lactiques ont été ensemencées par touche à la surface d'un milieu MRS solide à partir d'une culture de 24h, les boîtes sont séchées sous la température ambiante pendant 2h. Après 24 h d'incubation. Une couche de gélose nutritive molle (0,7%) contenant 0,1 ml d'une culture en milieu liquide de 18h d'une souche indicatrice (pathogène), est coulée au-dessus de la première couche de gélose. La lecture des boîtes s'effectue après 24h d'incubation à 37°C, les souches présentant une zone transparente sont considérées comme productrices de substances antimicrobiennes. La taille des zones d'inhibition produites a été mesurée en mm.

2.5. Méthode indirecte de diffusion (Well diffusion assay)

Des boîtes de Petri contenant 12 ml de la gélose MRS ont été recouvertes de 8 ml molle de MH (Mueller Hinton) ensemencé de la souche indicatrice ajustée à 0.5 McFarland. Après solidification, des puits de 4 mm ont été creusés dans la gélose (à travers la couche supérieure) à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Les boîtes ont été séchées à température ambiante pendant 10 min avant que les puits soient remplis d'extrait de culture. Après la diffusion de l'extrait de culture dans la gélose (1 à 2 heures à température ambiante), les boîtes ont été incubées pendant 18 heures à 30°C, puis ont été examinées pour la présence des zones d'inhibition autour des puits, exprimée en mm.

3. Résultats et Discussions

3.1. L'identification des souches

Quarante-huit souches ont été isolées à partir de six échantillons (06) de légumes fermentés sur trois milieux MRS, M17 et Rogosa. Après ensemencement sur les milieux gélosés, les colonies des bactéries lactiques apparaissent au bout de deux jours d'incubation à 30°C.

Les souches ont été phénotypiquement identifiées avec l'apparition des critères de bactéries lactiques et appartenant à plusieurs genres dont (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*).



Fig. 1. Les légumes fermentés étudiés.

3.2. L'activité antagoniste des souches

Les résultats montrés dans la Figure 2 (a, b, c, d, e, f) révèlent que douze souches ont un pouvoir inhibiteur remarquable envers les bactéries indicatrices choisies affirmé par l'apparition des zones d'inhibition (Tableau 1) allant jusqu'à 30mm contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27653 et contre *Enterobacter cloacae* ATCC 13047. Tandis qu'avec *Enterococcus gilvus* LMG 13600 affiche une zone d'inhibition de 28mm, et à l'encontre avec *Staphylococcus intermedius* CECT 1205 affiche 15mm de diamètre d'inhibition. Cela s'explique par le pouvoir inhibiteur exercé par l'un des molécules produites par ces souches actives tel que les acides organiques, le dioxyde de carbone et les bactériocines [10, 11, 12] (Colelho et al., 2011 ; Castellano et al., 2017 ; Delpech et al., 2017).

Aujourd'hui les chercheurs sont concentrés sur l'application de différents types de fermentation surtout lactique dans l'amélioration de la qualité de légumes et des fruits frais ou transformés [2] (Bautista-Gallego et al., 2020) ; et d'autre part, le contrôle de croissance la flore d'altération des légumes qui provoquent des dégâts majeurs [13, 14] (Trias et al., 2008 ; Park et al., 2014).

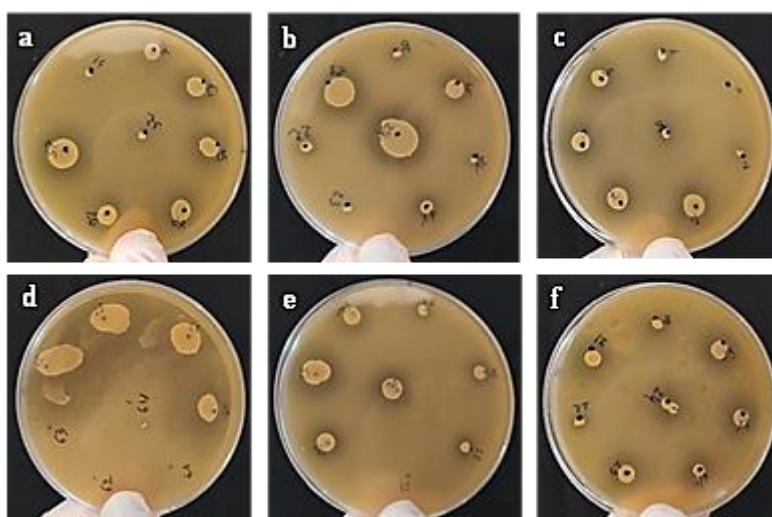


Fig.2. Activité inhibitrice des souches lactiques envers : (a) et (b) *P. aeruginosa* ; (c) *E. cloacae* ; (d) *E. gilvus* ; (e) et (f) *S. intermedius*.

Tableau 1. Spectre d'activité antimicrobienne des souches lactiques envers les souches indicatrices.

Code de la souche	Sources	Souche indicatrice	Diamètre d'inhibition (mm)
11	Betteraves		13
96	Chou		27
97	Chou	<i>P. aeruginosa</i>	28
98	Chou		28
99	Chou		30
100	Chou		13
44	Betteraves		10
60	Betteraves		15
72	Concombre	<i>S. intermedius</i>	12
74	Concombre		10
77	Concombre		15
41	Concombre		12
57	Concombre		25
58	Concombre		27
59	Concombre	<i>E. gilvus</i>	23
60	Concombre		26
61	Concombre		25
64	Concombre		29
95	Chou		30
96	Chou		30
97	Chou	<i>E. cloacae</i>	26
98	Chou		22
99	Chou		30
100	Chou		30

4. Conclusion

Les bactéries lactiques sont les microorganismes les plus dominants retrouvés au cours de la fermentation des aliments, leurs principales fonctions comprennent la production d'acides organiques, d'alcool, et des composés aromatiques ainsi que d'autre effet tel que l'inhibition des levures, et des microorganismes pathogènes, l'amélioration de la qualité nutritionnelle. Ce sont des micro-organismes de catégorie alimentaire qui jouent un rôle essentiel dans la fermentation des matières premières notamment végétales d'où on s'est intéressée.

Remerciements

Les auteurs remercier l'équipe du laboratoire pédagogique du département de biologie, faculté des sciences, université de Saïda pour leurs aides et les informations qu'ils m'ont généreusement apporté.

Références

- [1]. Melini, F, Melini, V, Luziatelli, F, Grazia Ficca, A, Ruzzi, M. (2019) Health-Promoting Components in Fermented Foods: An Up-to-Date Systematic Review, *Nutrients*; 11(5): 1189. doi: 10.3390/nu11051189
- [2]. Bautista-Gallego J, Medina E, Sánchez B, Benítez-Cabello A, Arroyo-López FN. (2020) Role of lactic acid bacteria in fermented vegetables. *Grasasaceites*, 71(2): 358.
- [3]. Alegría, Á., Delgado, S., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2013). Identification, typing, and functional characterization of *Leuconostoc* spp. strains from traditional, starter-free cheeses. *Dairy Science & Technology*, 93(6): 657-673.
- [4]. Morandi, S., Cremonesi, P., Silveti, T. & Brasca, M. (2013). Technological characterisation, antibiotic susceptibility and antimicrobial activity of wild-type *Leuconostoc* strains isolated from north Italian traditional cheeses. *J Dairy Research*, 80: 457–466.
- [5]. [5] Breidt F, Mcfeeters RF, Lee C. (2013) Fermented Vegetables. *Food Microbiol Fundam Front*, 27603:841–55. doi:10.1128/9781555818463.ch33.
- [6]. Gest H. (2004) The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni van Leeuwenhoek, Fellows of The Royal Society. *Notes Rec R Soc*, 58:187–201. doi:10.1098/rsnr.2004.0055.
- [7]. Björkroth, J, et W Holzapfel. (2006) Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. 3e. The Prokaryotes.
- [8]. Adams, M.R, et P Marteau. (1995) «On the safety of lactic acid bacteria from food» *Int J Food Microbiol*, 27: 263-264.
- [9]. Bellil, Y., Benmechernene, Z., Chahrour, W., Naoui, N. & Kihal, M. (2014). Selection and evaluation of anti-listerial activity of *Leuconostoc mesenteroides* wild strains isolated from Algerian raw dromedary milk. *J Food Process & Tech*, 5: 398.
- [10]. Coelho, M., Silva, C., Ribeiro, S., Dapkevicius, M., and Rosa, H. (2014). Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*, 191: 53–59.
- [11]. Castellano, P., Pérez Ibarreche, M., Blanco Massani, M., Fontana, C. & Graciela M. Vignolo. (2017). Strategies for Pathogen Biocontrol Using Lactic Acid Bacteria and Their Metabolites: A Focus on Meat Ecosystems and Industrial environments, *Microorganisms*, 5: 38.
- [12]. Delpech, P., Rifa, E., Ball, G., Nidelet, S., Dubois, E., Gagne, G., Montel, M-C., Delbes, C. & Bornes, S. (2017). New Insights into the Anti-pathogenic Potential of *Lactococcus garvieae* against *Staphylococcus aureus* Based on RNA Sequencing Profiling. *Front in Microbiol*, *Frontiers Media*, 8: 359.
- [13]. Trias, R., Badosa, E., Montesinos, E., & Bañeras, L. (2008). Bioprotective *Leuconostoc* strains against *Listeria monocytogenes* in fresh fruits and vegetables. *Inter J Food Microbiol*, 127(1): 91-98.
- [14]. Park, K.Y., Jeong, J.K., Lee, Y.E. & Daily, J.W. (2014). Health benefits of kimchi (Korean fermented vegetables) as a probiotic food. *J Med Food*, 17: 6-20.