

## Ferments et aliments : une longue histoire riche d'enseignements

Lortal S. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR Science et Technologie du Lait et de l'œuf – Inra, Agrocampus Ouest - Rennes

Correspondance : sylvie.lortal@rennes.inra.fr

### Résumé

Les aliments fermentés existent depuis des milliers d'années. L'optimisation et la diversification des procédés fermentaires, menées en diverses parties du monde, l'ont été sans que l'homme n'ait la moindre conscience de l'existence et du rôle des microorganismes dans ces transformations. L'enjeu était de sécuriser l'approvisionnement en nourriture en allongeant la durée de conservation des matières premières, d'en améliorer les goûts et les textures et parfois même de les rendre simplement comestibles alors qu'elles ne l'étaient originellement pas. C'est en 1865 seulement que Pasteur lève le voile sur les acteurs microscopiques de ces fermentations. Jusqu'en 1990 environ, les approches biochimiques et pasteurienne prévalent, et permettent de décrire divers aliments fermentés, ainsi que les techniques d'ensemencement traditionnelles, tout en étant limitées par la complexité des écosystèmes et des cascades métaboliques en présence. La deuxième grande révolution est celle des outils moléculaires à partir des années 1990 et plus récemment encore des « omics ». En faisant « parler » l'ADN et l'ARN présent dans les matrices, ainsi que le génome de nombreuses espèces fermentaires, ces outils permettent enfin d'entrer au cœur de ce dialogue, ancestral, entre microorganismes et aliments. Pour autant, de nouvelles questions se posent et constituent les challenges de demain pour la conception de ferments sûrs, sains et fonctionnels.

**Mots clés:** Aliments fermentés, ferment, bactéries lactiques, génomique

### Abstract: Ferments and foods: a long story rich in teachings

Fermented foods exist for millenaries. In numerous regions of the world, the process was optimized and diversified without any awareness of the existence of microorganisms. The purpose was by empirical know how to be able to store longer raw material in order to secure food availability, to improve taste and texture, and sometimes to render raw material simply edible. In 1865, Pasteur demonstrated that microorganisms were the key actors of these transformations. Until 1990, biochemistry and classical microbiology were used to describe the fermentative process. However the complexity of metabolic cascades involved makes any mechanistic explanation very hard to reach. From 1990 to now, revolutionary molecular tools have been applied to fermented foods and starters, in particular for dairy products. By exploring DNA and RNA present in these matrices, these new technologies allow to enter in the ancestral dialog between microorganisms and food, and to deeply know the starters that are now most often added to standardized process. Still new questions emerged as new challenges for scientists to be able to define more complex starters, healthy, safe, and with predictable functionalities.

**Keywords:** Fermented foods, starters, lactic bacteria, genomics

## Introduction

Le terme « Ferment » dans le Larousse répond à la définition suivante : « agent microbien produisant la fermentation d'une substance ». Ce ferment peut donc être soit naturellement présent dans la matière première soit ajouté. Le terme « levain » quant à lui, répond à deux définitions, l'une très proche de celle de ferment mais qui introduit une notion de sélection et d'ajout : « culture de micro-organismes sélectionnés que l'on introduit dans les produits à fermenter (pâte à pain, moût de brasserie, etc.) en vue de maîtriser la fermentation » ou une autre définition, plus circonscrite au pain dit au levain, « morceau de pâte en cours de fermentation incorporé à la pâte en cours de pétrissage pour en provoquer la levée par dégagement de gaz carbonique ». Le terme ferment est donc plus générique et plus large et a été retenu pour cet article.

Trois temps d'importance très inégale existent dans l'histoire des aliments fermentés : une période intégralement empirique d'environ 10 000 ans, puis à partir des découvertes de Pasteur en 1865, environ 130 ans de caractérisation microbiologique et biochimique des aliments fermentés avec un développement industriel de leur production et un souci croissant d'hygiène et de sécurité alimentaire. Le troisième temps commence dans les années 1990. En seulement 25 ans, des approches moléculaires basées sur l'ADN et l'ARN des matrices, ou des souches isolées, ont apporté des avancées spectaculaires. Par leur puissance d'investigation inimaginable quelques années auparavant, ces approches changent notre regard sur ces produits et les savoir-faire associés, et nous amènent à regarder enfin l'ensemble de l'écosystème en présence et non chaque acteur séparément. Elles permettent d'optimiser la sélection et la production de ferments industriels, de revisiter les pratiques traditionnelles, et de faire avancer la réglementation. Elles génèrent toutefois de nouvelles questions complexes, et le lien entre ferment, flore endogène et qualités finales de l'aliment fermenté n'est toujours pas pleinement élucidé ; de même que ses potentiels effets santé.

### 1. Les aliments fermentés, origine et diversité

Toute matière première comestible pour l'homme, animale ou végétale, va se détériorer sous l'action des microorganismes ambiants. En effet, premières formes de vie sur terre, les bactéries ont des capacités métaboliques très élaborées et sont capables de dégrader les macromolécules les plus complexes en molécules plus simples, œuvrant ainsi à un recyclage universel. L'homme a donc été confronté très tôt à la compétition avec les microorganismes pour préserver les matières premières qu'il récoltait, issues de la cueillette ou de la chasse, et donc à la difficulté de sécuriser dans le temps ses aliments. Non seulement ceux-ci pouvaient être abimés et perdus, mais ils pouvaient aussi receler des germes dangereux. A l'aide de ces cinq sens, tout le génie de l'homme a été, par l'observation et via des procédés simples, de sélectionner, d'orienter les microorganismes en présence pour stabiliser l'aliment dans son évolution. Le savoir-faire empirique de fermentation développé, non seulement prolonge la durée de vie de la matière première, la protège au moins partiellement des germes indésirables, mais aussi diversifie les saveurs et l'aspect des produits finis ; tout cela eut lieu pendant 10 000 ans sans avoir la moindre idée de l'existence des microorganismes ainsi « domestiqués » à son profit. Aujourd'hui plus de 5000 aliments fermentés sont répertoriés dans le monde, et parmi eux des fleurons de créativité et de cultures locales (pain, fromages, salaisons, végétaux fermentés, vin, bière...) (Tamang et Kalaispathy, 2010 ; Salque *et al.*, 2012 ; Yang *et al.*, 2014). Selon ces auteurs, de 50 à 400 g d'aliments et boissons fermentées sont consommées par jour et par personne dans le monde, ce qui représente selon les pays de 5 à 40% de la prise alimentaire. Dans nos contrées, la prédominance des aliments fermentés laitiers est certaine (50 kg/an/personne si on considère fromages et laits fermentés soit environ  $10^{11}$  microorganismes ingérés/personne/j). Ce n'est pas nécessairement le cas dans le reste du monde (Asie) où prédominent dans la diète les végétaux fermentés. A peu près toutes les matières premières peuvent faire l'objet d'une fermentation et tout dépendra donc des spécificités locales des agro-ressources, de la culture et du climat. Un ouvrage grand public (Frederic,

2014) raconte l'histoire des aliments fermentés et son titre « ni cru, ni cuit » est une formule imagée très appropriée pour résumer la spécificité des aliments fermentés. Il est à souligner que ce procédé alimentaire réalisable avec des ustensiles très simples, et inventé des milliers d'années avant l'utilisation des énergies fossiles, est par essence « bio économe » (Figure 1). Les fermentations sont au cœur de nos régimes alimentaires, tant sur le plan socio-culturel que gustatif (Lortal, 2015) et parfois garants de la sécurité alimentaire de certains pays (Nout *et al.*, 1997 ; Motarjemi, 2002).

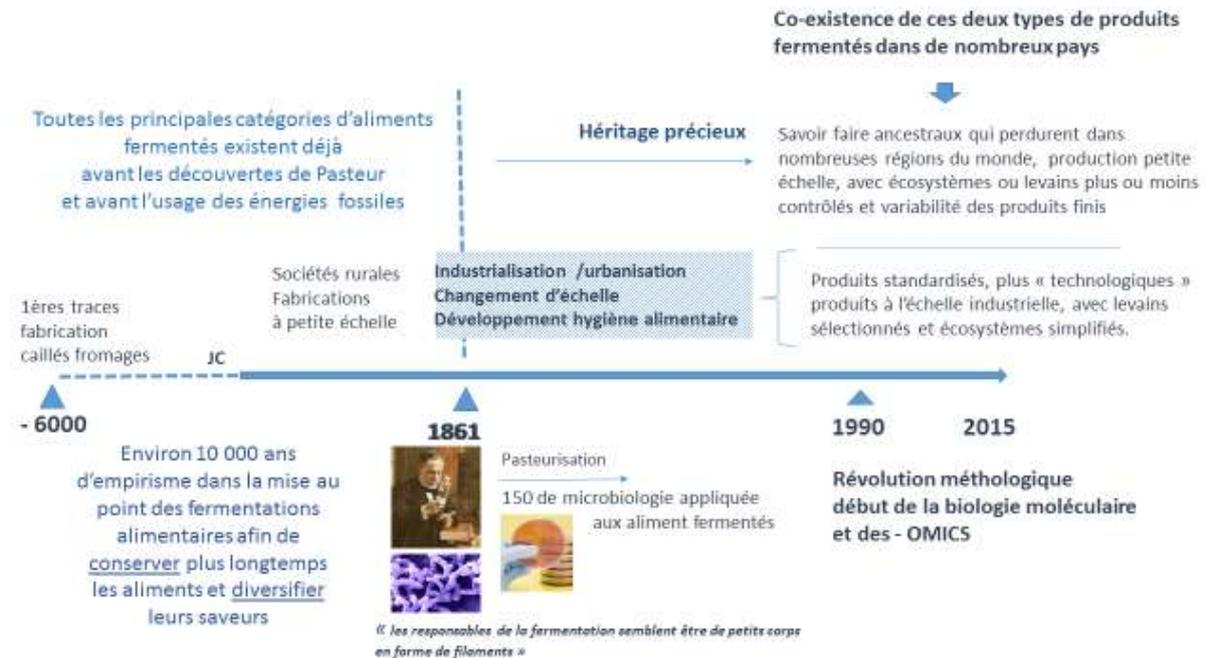


Figure 1 : Origine ancestrale et évolution des aliments fermentés

## 2. La découverte des ferments microbiens et de leur rôle dans la transformation/préservation des aliments fermentés

C'est Lavoisier qui au début du XVIII<sup>ème</sup> siècle identifia les phénomènes biochimiques lors de la fermentation alcoolique en établissant que le sucre se décompose en alcool et en CO<sub>2</sub> mais sans explication mécanistique. L'hypothèse que la fermentation du vin était due à une substance vivante contenue dans le mout aurait été émise par un certain Adamo Fabbroni dès 1787. Toutefois, c'est Pasteur qui démontra vers 1865 l'existence des microorganismes et leur implication dans la fermentation à partir de ses travaux sur la fermentation butyrique. Dès lors, il étudiera de nombreuses fermentations, et s'impliquera auprès des fabricants de vinaigre, ou de vin pour stabiliser leurs produits et éviter les défauts de fabrication, alors fréquents. Un chauffage modéré, appliqué au vin, au lait, à la bière etc... et qui portera son nom, la pasteurisation, est une étape clé dans ce début de sécurisation des procédés fermentaires tant pour l'irrégularité que pour les aspects sanitaires (élimination des germes pathogènes). Les travaux de Pasteur démontrant aussi l'implication des microorganismes dans les pathologies humaines, une certaine phobie du « microbe » commença à voir le jour, dont sont issus tous les développements et approches hygiénistes du siècle suivant, qui eut naturellement des répercussions sur les procédés alimentaires. Parallèlement, l'essor de la démographie et l'urbanisation du 19<sup>ème</sup> siècle appellent à un changement d'échelle des procédés fermentaires, et à un contrôle accru pour produire des aliments sûrs, en quantité, sans défaut et avec le moins de variabilité possible. Les procédés fermentaires artisanaux, faits à l'échelle de la maison ou du village, à partir de la microflore endogène des matrices ou de celles des ustensiles et des pratiques, sont par nature assez incompatibles avec ces nouvelles nécessités. Des versions industrialisées de ces produits verront ainsi

le jour, et l'ajout de ferment sélectionné deviendra rapidement incontournable. Dans une large partie du monde, Afrique, Inde, et une partie de l'Asie, les pratiques artisanales demeurent. Au sein même de notre pays cohabitent des aliments fermentés hautement industriels et standardisés qui s'exportent dans le monde entier, et toute une gamme de produits fermentés artisanaux réalisés à petite échelle, et qui entrent dans des circuits plus courts de distribution. La plupart, cependant, même artisanaux, font aujourd'hui appel à des ensemencements, soit en ajoutant un échantillon d'un batch précédent (technique dite du « backslopping ») soit en ajoutant des ferments commerciaux. Cette technique de backslopping a été insuffisamment explorée à ce jour et recèle pourtant des informations clés sur les bonnes pratiques d'entretien d'un ferment artisanal à petite échelle (Holzapfel, 1997 ; Holzapfel, 2002 ; Dalmasso *et al.*, 2009 ; Wrangen *et al.*, 2011).

### 3. La sélection de ferments pour un procédé et une qualité finale du produit mieux maîtrisés.

Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, les pratiques d'isolement de souches, et de caractérisation de leurs propriétés biochimiques sont déjà courantes. La taxonomie est en plein essor et la plupart des espèces impliquées dans les fermentations sont déjà décrites (Lactobacilles, Lactocoques initialement appelés *Streptococcus lactis*, *Propionibacterium*, et bien sûr un grand nombre de levures). Des milieux de croissance gélosés spécifiques sont mis au point permettant des numérations relativement sélectives des différents groupes microbiens impliqués dans les fermentations ainsi que des pathogènes alimentaires. Dans de nombreux pays, les aliments fermentés sont explorés et en quelques décennies (de 1900 à 1975), les grands phénomènes d'acidification, de protéolyse, de lipolyse, d'évolution de la texture et des arômes sont décrits (Lawrence *et al.*, 1975), sans que les liens entre espèces et phénomènes biochimiques soient toujours clairement établis. Tandis qu'en Asie ce sont les végétaux fermentés tels que le Kimchi qui feront l'objet d'études intensives (Jung *et al.*, 2013), les recherches en France et notamment à l'Inra se focalisent principalement sur les fermentations laitières et à une moindre échelle sur les salaisons (Leroy *et al.*, 2006 ; Talon *et al.*, 2015), les levains de vinification (Dequin, ce document) et de panification (Vogel *et al.*, 2002 ; de Vuyst *et al.*, 2005 ; Ramsayer et Sicard, 2015). Cette revue se focalisera donc principalement sur ce fer de lance que représentent depuis les années 30 les recherches effectuées pour caractériser les ferments pour l'industrie laitière.

Vers les années 1930, la composition des ferments lactiques est encore un assemblage indéfini. Cependant, en Europe, USA et Océanie, l'industrie laitière commence son essor pour répondre à la demande croissante de produits laitiers et aspire à des ferments qui garantissent la première étape clé du procédé fermentaire : l'acidification. Une capacité acidifiante rapide des souches est donc la première cible des fabricants de ferments. La possibilité d'ensemencer une souche unique pour cette acidification, au lieu de ferments artisanaux composés de plusieurs souches en proportion plus ou moins définie, est proposée par des chercheurs de Nouvelle Zélande qui souhaitent standardiser, et limiter les défauts dans la production du Cheddar (Whitehead *et al.*, 1934 ; O'Toole, 2004). Bien que fructueuse au départ, cette démarche de souche unique de bactérie lactique comme ferment se heurte bientôt à des accidents de fabrication avec interruption brutale de l'acidification et lyse du ferment. Il est démontré peu de temps après que des bactériophages sont présents et responsables de ces accidents (Whitehead *et al.*, 1935, 1936). Les auteurs eux-mêmes soulignent que l'utilisation d'une souche pure a favorisé cette émergence (Mullan, 2005). Ce constat a généré des recherches intenses sur les phages et les souches résistantes aux phages (Lawrence *et al.*, 1976 ; Limsowtin *et al.*, 1994) et également des stratégies de rotation ou d'assemblage de souches présentant des résistances complémentaires. Ce choix stratégique de la Nouvelle Zélande vers des ferments simplifiés a fortement influencé l'ensemble des pays industrialisés. Un autre développement important de cette période porte sur la production industrielle du ferment, préservant sa viabilité et des propriétés stables et reproductibles. Les ferments furent d'abord congelés, à différentes températures avec des pertes importantes de viabilité, puis toute une optimisation pour les concentrer a été réalisée (ensemencement direct). La lyophilisation

s'est révélée une alternative intéressante pour le transport et la commercialisation des ferments, et les recherches ont optimisé les milieux de culture pour la production de ferments lyophilisés (Champagne *et al.*, 1981). Toutefois, un certain nombre de souches d'espèces clés de bactéries lactiques se sont révélées très sensibles à la congélation ou la lyophilisation ce qui représente une limite majeure quand elles possèdent des propriétés intéressantes (Fonseca *et al.*, 2001 ; Bozoglu *et al.*, 1987). De ce fait, les recherches se sont tournées plus récemment vers le séchage par atomisation qui semble prometteur (Peighambardoust *et al.*, 2011).

Le phénotypage intensif des propriétés technologiques occupera une grande partie des chercheurs pendant des décennies (Lawrence *et al.*, 1975) mais le caractère souche dépendant de la protéolyse, lipolyse, production d'arômes ou résistance aux phages demeurera souvent au stade du constat. A partir des années 1980, la biologie moléculaire révolutionne les approches. Elle permet d'identifier l'espèce à laquelle une souche appartient par des amplifications spécifiques. Les plasmides, éléments génétiques mobiles des génomes, sont caractérisés, tracés et les fonctionnalités qu'ils peuvent porter identifiées (protéase, catabolisme du lactose). Le lien phénotype technologique d'intérêt et gènes est établi dans quelques cas, avec une caractérisation des enzymes impliquées (peptidases, estérases, lactate déshydrogénase ...) ce qui permet d'optimiser les sélections de ferments. Des outils de clonage et de mutation de gènes clés seront développés sur les espèces ferments les plus utilisées, telles que *L. lactis*, permettant de créer des mutants négatifs et des surexpressions à même de valider les fonctions. Toutes les souches ne sont toutefois pas transformables aisément. Une avancée majeure pour les ferments est la possibilité d'établir une sorte de carte d'identité des souches via leur génome (PFGE, RAPD, puis plus récemment MLST) et donc non seulement de les reconnaître dans un procédé, de comparer leur proximité phylogénétique mais aussi de suivre, après isolement sur boîte, leur dynamique dans le temps et leur implantation dans les aliments. De nombreuses propriétés d'intérêt sont mises en relation avec ces typages génomiques, mais le lien génotype-phénotype se révèle beaucoup plus complexe qu'escompté. La souche dépendance d'un phénotype au sein d'une espèce peut être extrêmement étendue sans que l'on parvienne souvent à comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents (Valence et Thierry, 2015). Les criblages des ferments effectués souvent en tubes génèrent des résultats intéressants sur le plan académique mais difficiles à transposer en matrice alimentaire réelle pour « prédire » l'activité d'un ferment.

L'autolyse spontanée de certains ferments lactiques (Lortal et Chapot-chartier, 1995), libérant dans la matrice des enzymes clés pour l'affinage, enzymes qui peuvent demeurer actives (Gagnaire *et al.*, 1998) introduit un facteur de complexité supplémentaire dans le choix d'un ferment. En effet, il s'agit donc d'intégrer dans sa sélection non seulement ce qui se passe au moment de sa croissance mais aussi au moment de sa « décroissance » dans la matrice. Concernant la production d'arôme, un goulot d'étranglement majeur est levé dans cette période et le catabolisme des acides aminés devient un nouveau critère de sélection (Yvon et Rijnen, 2001). Améliorer certaines propriétés des souches de ferment via la génétique devient parallèlement un axe de recherche intensif via la surexpression de certains gènes (activité peptidasique par exemple), qui se heurtera au bout de quelques années au refus par l'Europe, et par une large part de la société civile, des microorganismes OGM directement dans l'alimentation.

Une étape clé dans l'histoire des ferments a été sans nul doute le séquençage du génome entier de *Lactococcus lactis* (Bolotin *et al.*, 2001). Aujourd'hui la plupart des espèces d'intérêt alimentaire a au moins une souche séquencée et parfois plusieurs de la même espèce (accès au pangenome). Grâce à la chute du coût de séquençage, les connaissances génomiques explosent, et via l'ADN plusieurs avancées majeures sont réalisées concernant les ferments : démonstration d'échanges ou de pertes de gènes chez les acteurs microbiens associés aux fermentations (Cheeseman *et al.*, 2014 ; Rossi *et al.*, 2014) découverte des traces génomiques d'une forme de « domestication » des espèces utilisées comme ferments et adaptation à la matrice (Couvigny *et al.*, 2015 ; Papadimitriou *et al.*, 2015), présence de gènes de résistance aux antibiotiques (Rossi *et al.*, 2014). L'utilisation de la génomique

comparative (Borneman *et al.*, 2013), du pangenome, devient un outil clé dans la sélection de ferments (Garrigues *et al.*, 2013 ; Branco dos Santos *et al.*, 2013).

Ainsi, le cahier des charges sur la sélection de ferments, pour les bactéries lactiques, s'alourdit au fil du temps : acidification, résistance au procédé de production (lyophilisation le plus souvent), croissance et implantation et survie ou non dans la matrice, propriétés technologiques d'intérêt « garanties », et aussi sur le plan sanitaire, vérification de l'absence de gènes non souhaités (production d'amines biogènes, de résistance aux antibiotiques, ...). Le concept « QPS » (Qualified presumption of safety) apparaît dans les années 2000 (Talon *et al.*, 2015). La capacité à inhiber la croissance des pathogènes est aussi intensément explorée *in vitro* et quelquefois vérifiée *in situ*, notamment en ce qui concerne l'inhibition de *Listeria*. L'interprofession laitière a commencé récemment à établir une liste d'espèces utilisables comme ferments avec une historique d'application (Bourdichon *et al.*, 2012), liste fermée donc puisqu'elle exclurait de fait toutes les espèces qui n'y figureraient pas, ce qui répond à une demande de l'EFSA mais n'est pas sans poser question pour l'avenir. Plus récemment encore, du fait des attentes croissantes de naturalité des consommateurs, on recherche chez les souches de ferments lactiques des propriétés susceptibles de remplacer certains conservateurs, comme par exemple des propriétés anti-fongiques (Valence et Thierry, 2015). Enfin, une extension du domaine d'application des ferments non plus pour fermenter mais pour protéger de manière naturelle la surface des matières premières ou des matrices alimentaires voit le jour dans les années 2000 sous l'appellation de bio préservation (Zagorec *et al.*, 2015)

Bien que Metchnikoff ait soulevé l'hypothèse dès le début du siècle (1906) des vertus potentielles pour la santé de la consommation de bactéries lactiques via les yoghourts, c'est seulement dans les années 1970 que démarreront significativement les recherches sur les souches probiotiques, à effet bénéfique sur l'homme, qui accompagnent tout le mouvement des aliments fonctionnels. Ainsi des « ferments lactiques probiotiques » voient le jour et sont ajoutés aux produits ou vendus concentrés en gélules, en parapharmacie. Toutefois, la difficulté réglementaire en Europe sur le chemin des allégations santé des aliments limitent les revendications possibles, ce qui n'est pas le cas dans d'autres pays (USA) où la présence de ferments probiotiques est revendiquée sur de très nombreux aliments. Le mode d'ingestion du probiotique n'est pas anodin et il semble que la matrice alimentaire laitière constitue un vecteur protecteur (Jan, communication personnelle). Toujours en termes de santé de l'homme, l'aptitude des espèces ferments à augmenter la valeur nutritionnelle d'une matrice par leurs métabolites ou leurs enzymes a été étudiée de manière dispersée dans la littérature: production de vitamines *in situ*, de peptides bioactifs, fourniture d'acides aminés essentiels, augmentation de la digestibilité par consommation du lactose ou pré-hydrolyse des protéines (diminution de l'allergénicité pour les protéines végétales), dégradation des phytates et donc amélioration de la biodisponibilité des minéraux toujours chez les végétaux, et enfin dégradation des mycotoxines (Savoie *et al.*, 2015) et n'est pas encore, à ma connaissance, incluse dans la sélection des ferments.

Pour conclure, les connaissances ont réellement explosé sur les ferments entre 1950 et 2000, mais il existe un très grand déséquilibre d'investissement recherche entre certaines espèces (notamment *Lactococcus lactis* ou certaines souches probiotiques pour les lactiques ou encore la levure modèle *S. cerevisiae*) versus toutes les autres espèces d'intérêt alimentaire. En termes de qualités organoleptiques des produits finis, et même si les ferments sont de plus en plus pointus et pertinents, il apparaît aussi que la présence d'une grande biodiversité de microorganismes d'origine endogène enrichit les qualités du produit fini (Demarigny *et al.*, 1997 ; Montel *et al.*, 2014 ; Delbes *et al.*, 2015) et que donc le ferment, même multiple, ne peut à lui seul encore remplacer cela. Par ailleurs, la question de son implantation réelle par rapport aux flores apportées par la matrice pose toujours question, notamment pour les espèces de surface (Georges *et al.*, 2008).

A l'issue de cette période toutefois, la biodiversité des souches apparaît plus que jamais comme une source d'innovation et de différenciation des produits. Prenant la mesure de cette richesse, l'Inra constituera en 2004 un Centre de Ressources Biologiques dédié aux microorganismes d'intérêt

alimentaire, tant bactéries que levures, afin de la préserver dans des normes de qualité élevées et de l'explorer, pour comprendre les bases moléculaires de la biodiversité phénotypique et pour mieux prédire les applications potentielles (Valence et Thierry, 2015).

#### 4. Les procédés fermentaires revisités par les -omics et les nouvelles questions générées pour les ferments

Comme pour le reste des avancées méthodologiques les -omics ont été rapidement appliqués aux fermentations laitières. L'inventaire des espèces bactériennes d'un fromage avait jusque-là été réalisé exclusivement par leur culture sur des milieux plus ou moins spécifiques. Dans les années 2000, l'extraction d'ADN puis d'ARN microbien à partir de fromage a permis l'accès direct à l'empreinte génétique laissée par les bactéries indépendamment de toute étape de culture. Ainsi, ces méthodes basées sur la composition en base d'un fragment de l'ADNr 16S (Ogier *et al.*, 2004 ; Parayre *et al.*, 2007) ont révélé (i) la richesse bactérienne insoupçonnée du lait cru et la dynamique des principales espèces dans certains fromages AOC (Duthoit *et al.*, 2003 ; Duthoit *et al.*, 2005 ; Delbes *et al.*, 2007 ; Montel *et al.*, 2014), (ii) la richesse des ustensiles traditionnels comme les cuves en bois participant à l'inoculation du lait (Licitra *et al.*, 2007 ; Lortal *et al.*, 2009 ; Didienne *et al.*, 2012), (iii) la persistance et l'implantation de flore non levain en fin d'affinage (Falentin *et al.*, 2010), (iv) l'effet anti-listeria des espèces bactériennes du lait cru (Saubusse *et al.*, 2007). Les principaux inconvénients de ces méthodes sont (i) le manque d'exhaustivité car la compétition engendrée par la PCR ne permet de distinguer que les flores dominantes et (ii) la constitution d'une base de données d'espèces pures permettant l'identification uniquement par comparaison de profil.

Ces méthodes appliquées à partir de l'ARN extrait de matrices laitières (Ulve *et al.*, 2008 ; Monnet *et al.*, 2008) ont permis de suivre l'activité métabolique du génome entier d'une souche industrielle de *L. lactis* au cours de la croissance sur fromage modèle, révélant des conditions de stress modérées et la réponse physiologique apportée (Crétenet *et al.*, 2011). Elles ont aussi permis de montrer que les espèces lactiques thermophiles qui étaient non viables par numération au cours de l'affinage d'un Emmental étaient encore métaboliquement actives au sein de la matrice (Falentin *et al.*, 2012) ce qui change le regard sur la contribution du ferment lactique qui demeure au-delà de sa lyse potentielle.

Grâce au séquençage haut débit, qui permet une description exhaustive et sans *a priori*, un réel changement de paradigme est en cours (Cocolin et Ercoloni, 2012 ; Champomier-Verges et Zagorec, 2015 ; Almeida *et al.*, 2014). Le pyroséquencage (454) d'un fragment variable de l'ADNr 16S suivi de l'alignement des séquences obtenues sur les bases de données de séquences curées telles le Ribosome Database Project (Wang *et al.*, 2007) permet théoriquement d'identifier toutes les espèces dont la séquence 16S est présente dans les bases de données. Si l'assignation au niveau du genre est assurée, l'assignation à l'espèce est encore rarement atteinte du fait de la proximité de séquence des régions du 16S. Ces méthodes ont été appliquées, à notre connaissance, pour la première fois en 2011 sur un kéfir de lait révélant la présence de *Lactobacillaceae* dans le lait et de *Streptococcaceae* dans les grains (Dobson *et al.*, 2011). Ce lait fermenté a été ensuite étudié de nombreuses fois révélant des particularités régionales : participation des *Acinobacter* à l'acidification de kéfir tibétain (Gao *et al.*, 2013), abondance d'une grande diversité d'espèces du genre *Lactobacillus* dans le kéfir turc (Nalbantoglu *et al.*, 2014). Enfin, le séquençage 454 a mis en lumière l'impact du procédé et du type de lait (vache/chèvre/brebis sur la richesse bactérienne (Quigley *et al.*, 2012 ; Quigley *et al.*, 2013). Il a aussi été montré que la fabrication de la mozzarella avec son étape de filage à chaud sélectionne les bactéries thermophiles (Ercolini *et al.*, 2012) et que l'ajout de présure d'origine animale est une source de bactéries lactiques dans les fromages italiens (Cruciata *et al.*, 2014). Enfin, Wolfe *et al.* (2014) ont proposé une approche « méta » sur une centaine de fromages appartenant à différentes familles technologiques et ont hissé le fromage au rang de modèle écologique. Ils ont notamment démontré que le sel sélectionne des populations bactériennes halophiles apparentées à celle de l'eau de mer.

Les avancées techniques récentes du séquençage (Illumina, Ion torrent) doivent maintenant permettre grâce à leur très haut débit l'accès au méta génome complet. Ce séquençage, non limité au 16S, donne une image des fonctionnalités (gènes) de l'écosystème et donc de leur rôle dans la matrice fromagère. Ces mêmes méthodes adaptées à l'ARN pourront donner une image dynamique et fonctionnelle des écosystèmes bactériens. Elles ont par ailleurs été appliquées avec succès sur le kimchi (Jung *et al.*, 2013), un produit fermenté végétal coréen, sur 120 jours. Concernant les produits laitiers elles apportent d'ores et déjà des réponses à des questions complexes (Almeida *et al.*, 2014 ; Dugat-Bony *et al.*, 2015 ; Delbes *et al.*, 2015). Parallèlement à ces approches en méta génomique et méta transcriptomique en plein essor sur de nombreux aliments fermentés laitiers et non laitiers, signalons tout le potentiel d'autres -omics. En effet, la méta-protéomique appliquée à des échantillons d'offrande alimentaire, de plus de 4000 ans, isolés d'une tombe particulièrement bien conservée en Chine a permis non seulement de révéler qu'il s'agissait de Kéfir mais d'identifier les espèces ferments (*L. kefirenofaciens* et *S. cerevisiae*) identiques aux espèces qu'on trouve aujourd'hui dans le Kéfir (Yang *et al.*, 2014). Plus récemment, une approche protéomique directe a apporté des informations sur les enzymes présentes dans le fromage et sur l'identification de l'espèce qui les a produites *in situ* (Gagnaire *et al.*, 2009). Enfin, la faisabilité d'une approche de type métabolomique pour discriminer par empreinte sans *a priori* vient d'être démontrée pour suivre l'affinage d'un fromage via les composés solubles et volatils (Le Boucher *et al.*, 2014). Nul doute que ce dernier outil réalisable sur le produit fini sera bientôt en routine à des fins de sélection/différenciation de ferments.

Malgré les progrès spectaculaires, plusieurs enjeux demeurent : i) le design raisonné de ferment multiple (consortia) pour une fonctionnalité donnée, répondant à une demande de diversification et d'innovation alimentaire ; ii) la maîtrise des interactions dans les cultures mixtes (Smid et Lacroix, 2013) ; iii) l'intégration de tous les -omics pour mieux comprendre l'action d'un ferment sur une matrice ; iv) l'évolution adéquate de la réglementation qui ne doit pas être un facteur limitant l'innovation, comme par exemple pour le cas des ferments en bio préservation, v) la nécessité de revisiter avec tous ces nouveaux outils extraordinaires les pratiques d'ensemencement en 'backslopping' qui existent dans les fabrications artisanales et les ustensiles traditionnels associés (bois, jarre, ...) dans les pays du sud avant que celles-ci ne disparaissent du fait de la mondialisation... et de la très efficace commercialisation de ferments industriels partout dans le monde. Bien que protégées par les accords de Nagoya sur la biodiversité (Valence et Thierry, 2015), les pratiques d'isolement de souches d'aliments traditionnels du monde pour trouver de nouveaux ferments perdurent. Enfin, il faut signaler l'écart considérable qui existe entre le niveau de connaissances sur quelques espèces de bactéries lactiques ou levures modèles, et celui concernant la grande multitude des espèces impliquées dans les fermentations alimentaires.

## Conclusions - réflexion

Depuis les pratiques traditionnelles de fermentation, avec ensemencement « à l'aveugle » sans connaissance aucune des acteurs microbiens impliqués (pratiques qui empiriquement fonctionnent encore très bien dans une large partie du monde), et la sophistication extrême de la sélection des ferments dans de grands groupes industriels, pour des ensemencements standardisés, environ 130 ans de recherches sont passées. Souvent les mêmes questions sont revisitées avec des outils de plus en plus puissants et les derniers en date assez révolutionnaires ont fait faire un bond de géant à la maîtrise des ferments. Pour autant, de grandes questions demeurent sur la conception raisonnée d'écosystèmes, sur la souche dépendance d'un grand nombre de propriétés d'intérêt technologique, sur les modifications biochimiques de la matrice et leurs effets santé. Les ferments peuvent augmenter la densité tant énergétique que nutritionnelle d'un aliment, libérer des signaux moléculaires, ou véhiculer par eux-mêmes une activité pré ou probiotique. Dès lors, le challenge scientifique se déplace de plus en plus vers une meilleure compréhension des interactions écosystèmes/ aliment fermenté/santé de l'homme et sur les interactions, le dialogue entre souches. Sur le plan sociétal,

comment ce procédé fermentaire, qui a tous les atouts de la durabilité, peut s'inscrire dans l'évolution en cours de notre alimentation : circuits courts, naturalité, transition de l'animal vers plus de végétal, et perpétuelle attente de nouveaux goûts ou de nouvelles textures ? Comment conjuguer à la fois la biodiversité microbienne, la richesse organoleptique et la sécurité sanitaire dans les produits industriels ? Comment enfin œuvrer en collaboration pour que ces procédés fermentaires bio-économiques contribuent encore plus demain à la sécurité alimentaire des pays du Sud ?

**Remerciements** : pour les échanges fructueux et fréquents autour des aliments fermentés : A. Thierry, F. Valence, H. Falentin, Y. Le Loir, R. Lemée, MC Champomier-Verges, D. Sicard, R. Talon, M. Brossier, M.C. Montel, J.P. Guyot, E. Maguin et bien d'autres ! Et A. Giboulot pour la recherche inlassable et précieuse de bibliographie sur le sujet.

## Références bibliographiques

- Almeida M., Hébert A., Abraham A.L., Rasmussen S., Monnet C., Pons N., Delbès C., Loux V., Batto J.M., Leonard P., Kennedy S., Dusko S., Mihai Pop E., Montel M.C., Irlinger F., Renault P., 2014. Construction of a dairy microbial genome catalog opens new perspectives for the metagenomics analysis of dairy fermented products. *BMC genomics*, 15, 1101.
- Bolotin A., Wincker P., Mauger S., Jaillon O., Malarme K., Weissenbach J., Ehrlich S.D., Sorokin A., 2001. The Complete Genome Sequence of the Lactic Acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* IL1403. *Genome Research* 11:731–753.
- Borneman A.R., Pretorius A.S., Chambers P.J., 2012. Comparative genomics: a revolutionary tool for wine yeast strain development. *Curr. Op. Biotech.*, 192-199.
- Bourdichon F., Casaregola S., Farrokh C., Frisvad J.C., Gerds M.L., Hammes W.P., Harnett J., Huys G., Laulund S., Ouwehand A., Powell I.B., Prajapati J.B., Seto Y., Ter Schure E., Van Boven A., Vankerckhoven V., Zgoda A., Tuijtelaars S., Hansen E.B., 2012. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology* 154 (3), 87-97.
- Bozoglu T.F., Ozilgen M., Bakir U., 1987. Survival kinetics of lactic acid starter cultures during and after freeze drying. *Enzyme and Microbial Technology*, 9: 531-537.
- Branco dos Santos F., de Vos W., Teusink B., 2013. Toward metagenome-scale models for industrial applications – the case of lactic acid bacteria. *Curr. Op. biotech.*, 24, 200-206.
- Champagne C., Gardner N., Brochu E., Beaulieu Y., 1991. The freeze-drying of lactic acid bacteria. A review. *Can. Inst. Sci. Technol. J.*, 24, 118-128.
- Cheeseman K., Ropars J., Renault P., Dupont J., Gouzy J., Branca A., Abraham A.-L., Ceppi M., Conseiller E., Debuchy R., Malagnac F., Goarin A., Silar P., Lacoste S., Sallet E., Bensimon A., Giraud T., Brygoo Y., 2014. Multiple recent horizontal transfers of a large genomic region in cheese making fungi. *Nat. Comm.* 5. doi:10.1038/ncomms3876.
- Cocolin L., Ercolini D., 2015. Zooming into food-associated microbial consortia: a 'cultural' evolution. *Curr. Opinion Food Sci.*, 2, 43-50.
- Cole J.R., Chai B., Farris R.J., Wang Q., Kulam-Syed-Mohideen A.S., McGarrell D.M., Bandela A. M., Cardenas E., Garrity G.M., Tiedje J.M., 2007. The ribosomal database project (RDP-II): introducing my RDP space and quality controlled public data. *Nucleic Acids Research*, 35, Database issue D169–D172.
- Couvigny B., Thériat C., Gautier C., Renault P., Briandet R., Guédon E., 2015. *Streptococcus thermophilus* biofilm formation: a remnant trait of ancestral commensal life? *Plos One*, DOI:10.1371/journal.pone.0128099.
- Cretenet M., Laroute V., Ulve V., Jeanson S., Nouaille S., Even S., Piot M., Girbal L., Le Loir Y., Loubière P., Lortal S., Coccagn-Bousquet M., 2011. Dynamic Analysis of the *Lactococcus lactis* Transcriptome in Cheeses Made from Milk Concentrated by Ultrafiltration Reveals Multiple strategies of Adaptation to Stress. *Appl. Env. Microbiol.*, 247–25.

- Champomier-Verges M., Zagorec M., 2015. La Metagénomique : Développements et futures applications. Editions Quae, Versailles.
- Cheeseman K., Ropars J., Renault P., Dupont J., Gouzy J., Branca A., Abraham A.L., Ceppi M., Conseiller E., Debuchy R., Malagnac F., Goarin A., Silar P., Lacoste S., Sallet A., Bensimon A., Giraud T., Brygoo Y., 2014. Multiple recent horizontal transfers of a large genomic region in cheesemaking fungi. *Nat. Comm.* 5, 2876.
- Cruciata M., Sannino C., Ercolini D., 2014. Animal Rennets as Sources of Dairy Lactic Acid Bacteria. *Appl. Env. Microbiol.*, 80(7), 2050–2061.
- Dalmasso M., Hennequin D., Duc C., Demarigny Y., 2011. Influence of backslopping on the acidification curves of “Tomme” type cheeses made during 10 successive days. *J. Food Eng.*, 92, 50-55.
- Delbès C., Christophe Monnet C., Irlinger F., 2015. Des communautés microbiennes au service de la qualité des fromages: Diversité et dynamique adaptative et fonctionnelle des populations endogènes etensemencées. *Innovations Agronomiques*, 2015.
- Delbès C., Ali-Mandjee L., Montel M.C., 2007. Monitoring bacterial communities in raw milk and cheese by culture-dependent and -independent 16S rRNA gene-based analyses. *Appl. Env. Microbiol.*, 73 (6), 1882-1891.
- Delbès C., Monnet C., Irlinger F., 2015. Des communautés microbiennes au service de la qualité des fromages: diversité et dynamique adaptative et fonctionnelle des populations endogènes etensemencées. *Innovations Agronomiques* 44, 69-87.
- Demarigny Y., Beuvier E., Buchin S., Pochet S., Grappin R., 1997. Influence of raw milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheeses : II. Biochemical and sensory characteristics. *Lait* 77 (1), 151-167.
- De Vuyst L., Neysens P., 2005. The sourdough microflora : biodiversity and metabolic interactions. *Trends Food Sci. Technol.*, 16, 43-56.
- Didienne R., Defargues C., Callon C., Meylheuc T., Hulin S., Montel M.C., 2012. Characteristics of microbial biofilm on wooden vats ('gerles') in PDO Salers cheese. *International Journal of Food Microbiology* 156 (2), 91-101
- Dobson A., O'Sullivan O., Paul D., Cotter P.D., Ross P., Hill C., 2011. High-Throughput Sequence-Based Analysis of the Bacterial Composition of Kefir and an Associated Kefir Grain: Microbial Composition of Kefir Grain. *FEMS Microbiol. Lett.* 320(1): 56–62.
- Dugat-Bony E., Straub C., Teissandier A., Onésime D., Loux V., Monnet C., Irlinger F., Landaud S., Leclercq-Perlat M.N., Bento P., Fraud S., Gibrat J.F., Aubert J., Fer F., Guédon E., Pons N., Kennedy S., Beckerich J.M., Swennen D., Bonnarme P., 2015. Overview of a surface-ripened cheese community functioning by meta-omics analyses. *Plos One*, 10(4): e0124360.
- Duthoit F., Godon J.J., Montel M.C., 2003. Bacterial community dynamics during production of registered designation of origin Salers cheese as evaluated by 16S rRNA gene single-strand conformation polymorphism analysis. *Appl. Env. Microbiol.*, 69 (7), 3840-3848.
- Duthoit F., Tessier L., Montel M.C., 2005. Diversity, dynamics and activity of bacterial populations in 'Registered Designation of Origin' Salers cheese by single-strand conformation polymorphism analysis of 16S rRNA genes. *Journal of Applied Microbiology* 98 (5), 1198-1208;
- Ercolini D., de Filippis F., la Stora A., Iacono M., 2012. “Remake” by High-Throughput Sequencing of the Microbiota Involved in the Production of Water Buffalo Mozzarella Cheese. *Appl. Env. Microbiol.*, 78(22), 8142–8145.
- Falentin H., Postollec F., Parayre S., Henaff N., Le Bivic P., Richoux R., Thierry A., Sohier D., 2010. Specific Metabolic Activity of Ripening Bacteria Quantified by Real-Time Reverse Transcription PCR throughout Emmental Cheese Manufacture. *Int. J. Food Microbiol.*, 144(1), 10–19.
- Falentin H., Henaff N., Le Bivic P., et al., 2012. Reverse Transcription Quantitative PCR Revealed Persistency of Thermophilic Lactic Acid Bacteria Metabolic Activity until the End of the Ripening of Emmental Cheese. *Food Microbiol.* 29(1): 132–140.
- Fonseca F., Beal C., Corrieu G., 2001. Operating conditions that affect the resistance of lactic acid bacteria to freezing and frozen storage. *Cryobiologie*, 43, 189-198 ;

- Frederic M-C., 2014. Ni Cru, ni cuit. Histoire et civilisation de l'aliment fermenté. Ed. Alma. ISBN :978.2.3629.107.9.
- Gagnaire V., Lortal S., Léonil J., 1998. Free active peptidases are detected in Emmental juice extracted before ripening in the warm room. *J. Dairy Res.*, 65, 119-128.
- Gagnaire V., Molle D., Jardin J., Jan G., Lortal S., 2009. Proteomics of milk and bacteria used in fermented dairy products: from qualitative to quantitative advances. *J. Dairy Sci.*, 92, 811-825.
- Jie G., Fengying G., Jie H., Jianzhong X., Qihe C., Hui R., Guoqing H. ,2013 Metagenome Analysis of Bacterial Diversity in Tibetan Kefir Grains. *European Food Research and Technology* 236(3): 549–556
- Garrigues C., Johansen E., Crittenden R., 2013. Pangenomics – an avenue to improved industrial starter cultures and probiotics. *Curr. Op. Biotech.* , 24, 187-191.
- Goerges S., Mounier J., Rea M.C., Gelsomino R., Heise V., Beduhn R., Cogan T.M., Vancanneyt M., Scherer S., 2008. Commercial Ripening Starter Microorganisms Inoculated into Cheese Milk Do Not Successfully Establish Themselves in the Resident Microbial Ripening Consortia of a South German Red Smear Cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 2210–2217.
- Holzapfel W., 1997. Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control*, 5/6, 241-258.
- Holzapfel W., 2002. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *Int J. Food Microbiol.*, 75, 197-212.
- Ji Yung J., Se Hee L., Hyun Mi J., Yoonsoo H., L. Madsen E., Che Ok J., 2013. Metatranscriptomic Analysis of Lactic Acid Bacterial Gene Expression during Kimchi Fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 163(2-3): 171–179.
- Lawrence R.C., Thomas T.D., Terzaghi P.E., 1976. Review of the progress of dairy science: cheese starters. *J. Dairy Res.*, 22, 141-148.
- Le Boucher C., Courant F., Jeanson S., Chereau S., Maillard M.-B., Royer A.-L., Thierry A., Dervilly-Pinel G., Le Bizec B., Lortal S., 2013. First mass spectrometry metabolic fingerprinting of bacterial metabolism in a model cheese. *Food Chemistry*, 141, 1032-1040.
- Leroy F., Berluysen J., De Vuyst L., 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, 106, 270-285.
- Licitra G., Ogier J.C., Parayre S., Pediliggieri C., Carnemolla T.M., Falentin H., Madec M.N., Carpino S., Lortal S., 2007. Variability of Bacterial Biofilms of the “Tina” Wood Vats Used in the Ragusano Cheese-Making Process. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(21), 6980–6987.
- Limsowtin G.K.Y., Accolas J.P., Chopin M.C., Boussemaer J.P., 1994. Dépistage des bactériophages des bactéries lactiques. In: H. De Roissart , F.M. Luquet , *Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et technologiques*, vol. 1 ; 457-471.
- Lortal S., Chapot-Chartier M., 1996. Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. *Int. Dairy J.*, 15, 857-871.
- Lortal S., Di Blasi A., Madec M.N., Pediliggieri C., Tuminello L., Tanguy G., Fauquant J., Lecuona Y., Campo P., Carpino S., Licitra G., 2009. Tina wooden vat biofilm: a safe and highly efficient lactic acid bacteria delivering system in PDO Ragusano cheese making. *Int. J. Food Microbiol.*, 132 (1), 1-8.
- Lortal S., 2015. Les fermentations au cœur des régimes alimentaires. Ed CNRS La découverte.
- Monnet C., Ulve V., Sarthou A.S., Irlinger F., 2008. Extraction of RNA from cheese without prior separation of microbial cells. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 5724-5730.
- Montel M.-C., Buchin S., Mallet A., Delbes-Paus C., Vuitton, D.A., Desmases, N., Berthier, F., 2014. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *Int. J. Food Microbiol.* 177, 136–154.
- Motarjemi Y., 2002. Impact of small scale fermentation technology on food safety in developing countries. *Int. J. Food Microbiol.*, 75, 213-229.
- Mullan W.M.A., 2005. Discovery of bacteriophages for lactococci. [On-line]. Available from: <http://www.dairyscience.info/index.php/discovery-of-bacteriophages-for-lactococci.html>.

- Nalbantoglu U., Cakar A., Dogan H., Abaci N., Ustek D., Sayood K., Can H., 2014. Metagenomic Analysis of the Microbial Community in Kefir Grains. *Food Microbiology* 41: 42–51.
- Nout M.J.R., Motarjemi Y., 1997. Assessment of fermentation as a household technology for improving food safety : a joint FAO/WHO workshop. *Food Control*, 8, 221-226.
- Ogier J.C., Lafarge V., Girard V., Rault A., Maladen V., Gruss A., Leveau J.Y., Delacroix-Buchet A., 2004. Molecular Fingerprinting of Dairy Microbial Ecosystems by Use of Temporal Temperature and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology* 70(9): 5628–5643.
- O' Toole D., 2004. The origin of single strain starter culture usage for commercial Cheddar cheesemaking. *Int. J. Dairy Technol.*, 57, 53-55.
- Quigley L., O'Sullivan O., Beresford T.P., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Cotter P.D., 2012. High-Throughput Sequencing for Detection of Subpopulations of Bacteria Not Previously Associated with Artisanal Cheeses. *Applied and Environmental Microbiology* 78 (16), 5717-5723.
- Quigley L., O'Sullivan O., Stanton C., Beresford T.P., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Cotter P.D., 2013. The Complex Microbiota of Raw Milk. *FEMS Microbiology Reviews* 37(5): 664–698.
- Papadimitriou K., Pot B., Tsakalidou E., 2015. How microbes adapt to a diversity of food niches. *Curr. Op. Food Sci.*, 2, 29.
- Parayre S., Falentin F., Madec M.N., Sivieri K., Le Dizes A.S., Sohier D. and S. Lortal, 2007. Easy DNA extraction method and optimisation of PCR-Temporal Temperature Gel Electrophoresis to identify the predominant high and low GC-content bacteria from dairy products. *J. Microbiol. Meth.* 69, 431–441.
- Peighambaroust S.H., Golshan Tafti A., Hesari J., 2011. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. *Trends in Food Sci. & Tech.*, 22, 215-234.
- Ramsayer J., Sicard D., 2015. Explorer et conserver la diversité de la flore des levains, un potentiel en boulangerie. *Innovations Agronomiques* 44, 45-54.
- Rossi F., Rizzotti L., Felis G.E., Torriani S., 2014. Horizontal gene transfer among microorganisms in food : current knowledge and future perspectives. *Food Microbiol.*, 44, 232-243.
- Salque M., Bogucki P.I., Joanna Pyzel J., Sobkowiak-Tabaka I., Grygiel R., Szmyt M., Evershed R.P., 2012. Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in Northern Europe. *Nature*, doi:10.1038/nature11698.
- Saubusse M., Millet L., Delbès C., Callon C., Montel M.C., 2007. Application of single strand conformation polymorphism – PCR method for distinguishing cheese bacterial communities that inhibit *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, 116, 126-135.
- Savoie J-M., Martinez Tuppia C., Richard-Forget F., 2015. Des microorganismes capables de dégrader les mycotoxines: de nouveaux levains pour garantir la qualité sanitaire d'aliments à base de céréales ? *Innovations Agronomiques* 44, 35-44.
- Smid E.J., Lacroix C., 2013. Microbe-microbe interactions in mixed culture food fermentations. *Curr. Opinion Biotech.*, 24, 148-154.
- Talon R., Leroy S., Vermassen A., Christieans S., 2015. Réduction des nitrates, nitrites dans les produits carnés: quelles conséquences? Quelles solutions? *Innovations Agronomiques* 44, 25-34.
- Tamang J.P., Kailasapathy K., 2010. *Fermented food and beverages of the world*. CRC Press. ISBN : 978-1420094954
- Ulve V.M., Monnet C., Valence F., Fauquant J., Falentin H., Lortal S., 2008. RNA extraction from cheese for analysis of *in situ* gene expression of *Lactococcus lactis*. *J. appl. Microbiol.*, 105, 1327–1333.
- Valence F., Thierry A., 2015. Les Ressources microbiennes au service de nos aliments: une richesse préservée et explorée dans le réseau CIRM. La diversité fonctionnelle explorée grâce au criblage à haut débit. *Innovations Agronomiques* 44, 101-110.
- Vogel R.F., Ehrmann M.A., Gänzle M.G., 2002. Development and potential of starter lactobacilli resulting from exploration of the sourdough ecosystem. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 631-638.

Vrancken G., Rimaux T., Weckx S., Leroy F., De Vuyst L., 2011. Influence of temperature and backslopping on the microbiota of a type 1 propagated laboratory wheat sourdough fermentation. *Appl. Env. Microbiol.*, 8, 2716-2726.

Yvon M., Rijnen L., 2001. Cheese flavor formation by amino acid catabolism. *International Dairy Journal*, 11, 185–201.

Whitehead H.R., Cox G.A., 1934. Observations on sudden changes in the rate of acid formation in milk by cultures of lactic streptococci. *J. Dairy Res.* 5, 197-207.

Whitehead H.R., Cox G.A., 1935. The occurrence of bacteriophage in cultures of lactic streptococci. *N.Z. J. Sci. Technol.* 16, 319-320.

Whitehead H.R., Cox G.A., 1936. Bacteriophage phenomena in cultures of lactic streptococci. *J. Dairy Res.* 7, 55-62.

Wolfe B.E., Button J.E., Santarelli M., Dutton R.J., 2014. Cheese Rind Communities Provide Tractable Systems for *In Situ* and *In Vitro* Studies of Microbial Diversity. *Cell* 158, 422–433..

Yang Y., Shevchenko A., Knaust A., Abuduresule I., Li W., Hu X., Wang C., Shevdenko A., 2014. Proteomics evidence for kefir dairy in Early Bronze Age China. *J. Archaeological Sci.*, 45, 178-186.

Zagorec M., Champomier-Vergès M., Chaillou S., Leroy S., Christieans S., 2015. La connaissance approfondie des communautés bactériennes des aliments et ses conséquences pour l'utilisation de la biopréservation. *Innovations Agronomiques* 44, 15-24.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « *Innovations Agronomiques* », la date de sa publication, et son URL)