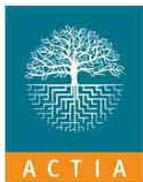
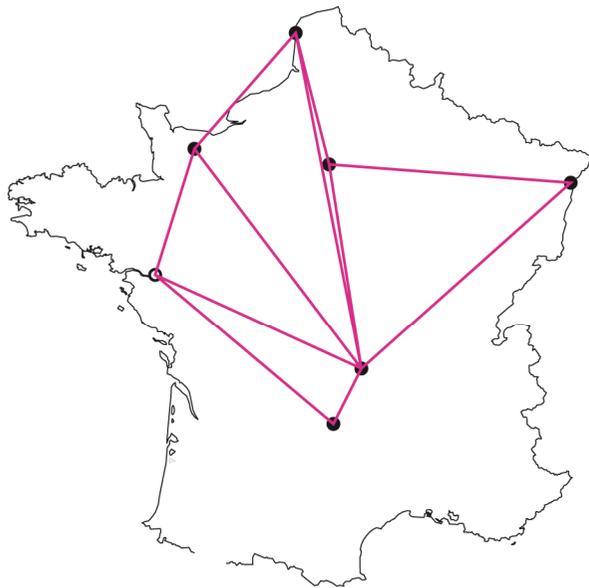


LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

# Journée d'information et d'échange sur l'utilisation des flores protectrices pour la conservation des aliments

27 juin 2013



## PROGRAMME DE LA JOURNÉE

- 9h30-10h :** Accueil des participants (animateur et co-animateurs)
- 10h00- 10h30:** Présentation générale : Biopréservation et intérêt des flores protectrices (H. Prevost, ONIRIS)
- 10h30-10h45:** Présentation du RMT FlorePro (S. Christieans, ADIV)
- 10h45 -11h05:** Focus sur une enquête menée auprès des consommateurs sur leur perception à l'égard de l'emploi des flores protectrices comme agents de conservation (C. Feurer, IFIP)
- 11h05 – 11h35 :** État des lieux sur la réglementation de l'utilisation des flores protectrices (Mme C. EVREVIN, DGCCRF)
- 11h35-12h30 :** Questions/Échange avec la salle
- 12h30-14h00 : Déjeuner**
- 14h00-15h30 :** Présentation de résultats d'études scientifiques sur les flores protectrices
- 14h00-14h30 :** Exemples d'application dans la filière lait (N. Oulahal, IUT Lyon1/BioDyMIA)
- 14h30-15h00 :** Exemples d'application dans la filière produits carnés : (M. Zagorec, ONIRIS)
- 15h00-15h30 :** Exemples d'application dans la Filière produits de la mer (F. Leroi, IFREMER)
- 15h30-16h15 :** Questions/Échange avec la salle
- 16h15-16h30 :** Synthèse et conclusion de la journée.

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## LES RESEAUX MIXTES TECHNOLOGIQUES (RMT) - CAHIER DES CHARGES

- Dispositif de partenariat scientifique et technique - mis en place/soutenu par le ministère chargé de l'Alimentation, sous la coordination de l'ACTIA pour le secteur agro-alimentaire.
- Développer des relations de travail approfondies entre les acteurs de la recherche, de la formation et du développement :
  - **D'organiser et mettre en réseau** les RH, matérielles (organismes de recherche, de développement ou de transfert) - des groupements de compétences visibles, reconnus et mobilisables par les organisations professionnelles et les pouvoirs publics
  - **De développer des synergies** entre les acteurs du RMT pour répondre de manière globale aux besoins des organisations professionnelles et économiques et aux attentes de la société,
  - **De favoriser la coopération** entre les organismes de recherche et les EETS.
  - **D'acquérir ou** de partager des équipements, des laboratoires et des plates-formes expérimentales.

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## Productions attendues d'un RMT

L'activité du RMT doit se traduire par des productions propres d'intérêt collectif :

### Productions scientifiques et techniques

- synthèse des connaissances scientifiques et techniques,
- élaboration/actualisation/ animation d'outils et de méthodes à caractère collectif (bases de données, outils de modélisation....) ;
- co-construction de projet de recherche et développement
- formulation de questions à la recherche et aux pouvoirs publics ;
- ....

### Valorisation / transfert des résultats

- rédaction de manuels (guides de bonnes pratiques, travaux prénormatifs, ...) ;
- élaboration et coordination d'outils d'appui technique (méthodes de diagnostic, outils d'aide à la décision, ...) ;
- construction, réalisation et évaluation de programmes de formation ;

**RMT**  
RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE

**FLOREPRO**



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

# De la « concurrence vitale » au concept de chaîne bioprotégée de production des aliments

Journée d'information et d'échange sur l'utilisation  
flores protectrices pour la conservation des aliments  
27 juin 2013

Hervé Prévost



# *De la "concurrence vitale" au concept de chaîne alimentaire bioprotégée.*

Hervé PREVOST<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> LUNAM Université, Oniris, Univ Nantes, UMR1014 SECALIM, Nantes 44307, France.

<sup>2</sup> INRA, Nantes, 44307, France.

[herve.prevost@oniris-nantes.fr](mailto:herve.prevost@oniris-nantes.fr)

La bioprotection des aliments a pour objectifs historiques l'augmentation de la sécurité et de la salubrité des denrées alimentaires en utilisant des cultures microbiennes et/ou en utilisant les substances anti-microbiennes produites par ces cultures.

Il est possible de distinguer deux domaines d'application du concept de bioprotection des aliments. Le premier concerne les produits fermentés traditionnels (fromages, beurre, fruits et végétaux fermentés, viandes, saucissons, cacao, thé, café, etc.) où l'activité des flores entraîne une modification considérable des caractéristiques organoleptiques de la matière première. L'utilisation par l'homme de micro-organismes dans des procédés de fermentation pour améliorer la conservation des aliments constitue la plus ancienne technologie de bioprotection des aliments.

Le second domaine d'application de la bioprotection, qui est le plus récent, concerne les produits non-fermentés réfrigérés dont les caractéristiques organoleptiques ne sont pas liées au développement de microorganismes. Il s'agit de produits souvent « prêts à consommer » pouvant être légèrement préservés, transformés, à durabilité étendue incluant les produits conservés sous vide, ou sous atmosphère contrôlée.

La bioprotection résulte donc du principe d'inhibition entre microorganismes (antibiose) et s'inscrit historiquement dans les recherches menées sur l'inhibition entre micro-organismes dont le princeps a été énoncé pour la première fois par Ernest Duchesne en 1897 dans sa thèse de médecine "*Contribution à l'étude de la **concurrence vitale** chez les microorganismes, antagonisme entre les moisissures et microbes*". Trente années plus tard, en 1928, Alexander Flemming constate les propriétés du *Penicillium notatum* comme antiseptique local.

Des la fin du 19<sup>ème</sup> siècle le rôle des bactéries lactiques avait été identifié dans la fermentation des produits laitiers et des produits carnés. Les mécanismes d'action principaux de l'inhibition par les bactéries lactiques correspondent à la production d'acide faible (lactique, acétique) de peroxyde d'hydrogène, de peptides antimicrobiens (PAM) agissant souvent en synergie.

Les objectifs historiques de la bioprotection des denrées alimentaires se sont donc centrés naturellement sur les bactéries lactiques comme cultures protectrices pour des préoccupations principalement industrielles. Il s'agissait d'augmenter la durée de vie microbiologique des produits ou de limiter la croissance d'un micro-organisme pathogène ciblé.

Le premier objectif a donc pour finalité une augmentation de la durée de vie microbiologique permettant d'envisager une DLC plus longue et le second peut être considéré comme une assurance apportée aux produits garantissant une limitation des effets d'une contamination de la denrée par un pathogène.

Récemment la justification de l'utilisation industrielle a évolué afin de mieux répondre aux attentes des consommateurs pour des produits contenant pas ou peu de conservateur chimique et ayant une empreinte carbone réduite.

Aux cours des trente dernières années, les recherches réalisées sur les interactions bactériennes dans les aliments ont été focalisées sur un petit nombre de couples culture protectrice/proie principalement à Gram positif.

Le couple bactérie lactique/*Listeria monocytogenes* est sans doute le plus documenté. L'utilisation potentielle de bactéries lactiques inhibitrices de *L. monocytogenes* a été à l'origine d'un nombre très important de travaux sur les peptides anti-microbiens (PAM) notamment les bactériocines de classe IIa permettant ainsi d'élucider leurs mécanismes d'action. Cependant, compte tenu de l'évolution du contexte réglementaire notamment en Europe, et l'autorisation de l'utilisation d'un très faible nombre de PAM comme la nisine de par le monde, il n'est plus envisageable de promouvoir raisonnablement l'utilisation dans les aliments de PAM sous forme purifiées ou semi-purifiées.

On assiste donc actuellement, à une disjonction entre les travaux réalisés sur les cultures protectrices et les recherches sur les PAM produits par des micro-organismes alimentaires qui s'orientent vers des applications purement médicales visant au développement de nouveaux antibiotiques.

Simultanément les recherches sur les outils biologiques utilisables en bioprotection se sont élargies aux interactions entre bactéries à Gram positif et Gram négatif et vers des solutions alternatives à l'utilisation de bactéries anti-bactéries. Il s'agit notamment de l'utilisation de substances naturelles comme les huiles essentielles, de bactériophages et de bactéries à activité antifongique. Ainsi donc plusieurs programmes de recherche visent actuellement à comprendre les mécanismes d'action des bactéries à activité antifongique et leur utilisation dans l'industrie alimentaire, nous renvoyant ainsi à la problématique initiale des travaux d'Ernest Duchesne sur la « concurrence vitale ».

Cette évolution quant aux objectifs a été accompagnée d'une évolution concernant les écosystèmes cibles. Jusqu'à la fin des années 90, les travaux portant sur la bioprotection des aliments étaient principalement focalisés sur la denrée alimentaire, c'est dire sur la sélection et l'utilisation de cultures protectrices capables d'inhiber spécifiquement un pathogène ou une flore d'altération dans un écosystème et une matrice alimentaire spécifique. La dernière décennie a vu le concept de bioprotection s'élargir à d'autres écosystèmes réservoirs de micro-organismes contaminants les denrées alimentaires.

Il s'agit notamment

(i) de l'utilisation, dans l'alimentation animale, de souches probiotiques anti-microbiennes et de flores complexes pour leurs propriétés de maîtrise du portage intestinal de microorganismes pathogènes.

(ii) de l'utilisation de micro-organismes pour mieux maîtriser l'environnement de transformation industrielle de l'aliment en particulier les biofilms. Le concept innovant de la **chaîne alimentaire bioprotégée** conjugue donc ces stratégies intégrant la technologie des barrières à l'ensemble de la chaîne de production de l'aliment allant de la maîtrise du microbiote animal ou végétal, de l'écosystème de l'environnement alimentaire et de l'écosystème spécifique de l'aliment. L'impact des flores de bioprotection sur le microbiote humain, leur innocuité et leurs effets sur la santé est également un questionnement scientifique et réglementaire d'actualité. Ainsi la problématique des flores protectrices rejoint sur ces aspects celles des flores probiotiques.

Le développement du concept de chaîne alimentaire bioprotégée est directement lié aux connaissances sur les écosystèmes. Ainsi les approches nouvelles de génomique environnementale appliquée aux écosystèmes précités permettront une meilleure compréhension des processus biologiques fonctionnels de ces écosystèmes.

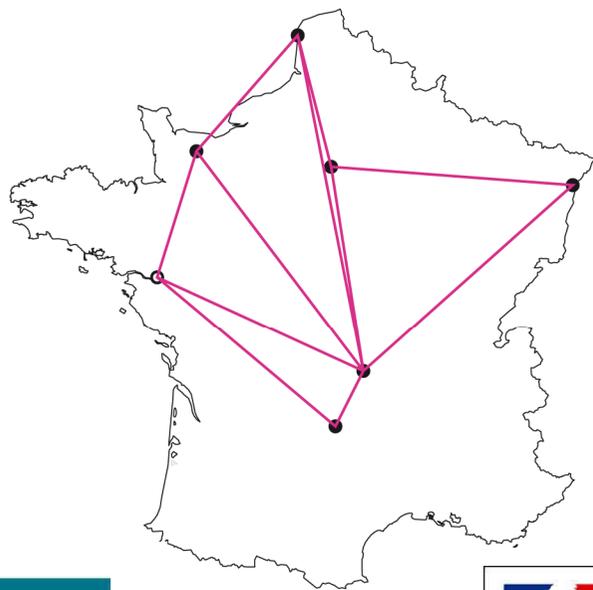
La génomique environnementale réconciliant les approches systémiques de l'écologie et mécanistiques de la génétique permettra d'ouvrir la voie à la modélisation des interactions microbiennes entre culture protectrice et micro-organisme (ou organisme) proie dans les écosystèmes alimentaires et à la modélisation des effets perturbateurs d'une flore protectrice sur le fonctionnement de l'écosystème.

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## RMT « FLOREPRO »

« Les flores protectrices pour la conservation des aliments : utilisation, efficacité et interactions dans l'écosystème microbien »

27 juin 2013



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## CONTEXTE – Naissance du RMT

- Pour les produits frais non fermentés: concept naissant dans l'UE mais déjà pratiqué dans certains pays (Amérique, Argentine, Nouvelle Zélande,...)
- Applications en Europe tardent à être mises en œuvre au niveau industriel (quelques rares produits : crevettes) :
  - Une réglementation floue sur le statut des cultures protectrices,
  - Une méconnaissance de l'acceptabilité par les consommateurs
  - un manque des connaissances de l'impact de l'ajout des flores sur l'écologie microbienne et des mécanismes biologiques régissant l'effet des cultures protectrices – Recul sur la réelle efficacité des flores
  - La technicité requise pour l'ajout de cultures protectrices
  - .....

Mise en place du RMT en 2009 : **des travaux collectifs** sur la thématique et de **mutualiser collectivement les compétences**

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## RMT « FLOREPRO » -

*Sous la coordination de l'ACTIA - Agrée en octobre 2009 par le Ministère de l'Alimentation/Agriculture – 5 ans*

**14 partenaires issus de 3 filières: Produits carnés, de la mer, et fromagers/laitiers**

### **Instituts Techniques AgroIndustriels (ITAI)**

ADIV, ACTALIA, Aérial, IFIP et PF  
Nouvelle Vague

### **Organismes de recherche publique**

**France** : INRA (4 unités de recherche) : Aurillac (Unité de Recherches fromagères), Jouy en Josas (Unité FLEC), Clermont-Ferrand Theix (Unité Microbiologie) Grignon (UMR GMPA) – IFREMER

**Europe** : L'université de Liège

### **Établissements d'enseignement & recherche**

ONIRIS – SECALIM,  
AGROPARITECH UMR GMPA et  
un établissement d'enseignement  
agricole Louis Pasteur (Clermont-  
Ferrand).

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## ENJEUX DU RMT « FLOREPRO »

- Mutualiser et structurer les compétences acquises sur la thématique « flores protectrices »
- Avoir une meilleure visibilité sur les thèmes de recherche à développer (en cohérence avec les besoins de la recherche et les attentes des professionnels)
- Positionner le réseau comme un lien objectif et indépendant entre la recherche scientifique, les besoins industriels et les pouvoirs publics
- **Apporter des éléments de réponse sur la maîtrise du procédé de biopréservation pour améliorer la gestion de la qualité et du risque sanitaire des produits**
- **Objectif principal : comprendre et maîtriser la biopréservation**

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## OBJECTIFS DÉCLINÉS SOUS FORME D' ACTIONS

### ACTIONS

#### MISE EN RÉSEAU DES COMPÉTENCES

État des connaissances  
Applications industrielles  
Réglementation

Édition d'un ouvrage de synthèse

#### IDENTIFICATION DES ENJEUX & VERROUS

Mise en place de projets R&D, nationaux (ANR), régionaux,  
interprofessionnels  
Enquête perception des consommateurs  
Mise en place d'un groupe de travail en lien avec les pouvoirs publics

#### DIFFUSION & PARTAGE DES CONNAISSANCES

Colloques  
Publications  
Formations

Chercheurs  
Industriels  
Enseignants  
Pouvoirs publics

## Objectifs du RMT : Comprendre et maîtriser la biopréservation

- Objectif 1 : Mutualiser et structurer les compétences acquises sur la thématique « flores protectrices » (3 filières) - Synthèse des connaissances scientifiques sur les flores protectrices au niveau international:
  - Comprendre les raisons de la difficulté à mettre en œuvre les cultures protectrices pour la biopréservation des aliments
  - Identifier les thèmes de recherches nécessaires à la mise en application des cultures protectrices
  - Ouvrage : Bilan des connaissances actuelles et des pistes
  - Publication aux Editions « Quae » de l'INRA (mars 2013)

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## Chapitres / auteurs

### Avant-propos

**Introduction : la biopréservation et les micro-organismes bioprotecteurs** (M. Zagorec, M.-C. Champomier-Vergès, S. Christieans)

**Chapitre 1 : Critères de sélection des micro-organismes bioprotecteurs** (C. Denis, M.-C. Champomier-Vergès, M. Zagorec, R. Talon, V. Michel)

**Chapitre 2 : Les mécanismes d'action** (S. Christieans, C. Delbès-Paus, C. Denis, M.-C. Montel, H. Prévost, M. Rivollier V. Stahl).

**Chapitre 3 : Les Applications de la biopréservation via des cultures microbiennes dans la filière des produits laitiers et fromagers** : (E. Jamet, F. Irlinger, C. Delbès-Paus, M.-C. Montel, S. Fraud)

**Chapitre 4 : Applications de la biopréservation via des cultures microbiennes dans la filière des produits carnés** (C. Feurer, S. Christieans, M. Rivollier, S. Leroy, R. Talon, M. Champomier-Vergès, M. Zagorec, M.-H. Desmots)

**Chapitre 5 : Applications de la biopréservation via des cultures microbiennes dans la filière des produits de la mer** (B. Le Fur, D. Wacogne, S. Lorre, M.F. Pilet, F. Leroi)

**Chapitre 6 : Applications de la biopréservation aux produits alimentaires d'origine végétale** (E. Hamon, C. Denis, M.H. Desmots, V. Stahl)

**Chapitre 7 : Vers une réglementation appropriée des flores protectrices** (H.E. Spinnler, M. Zagorec, S. Christieans)

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## *Un réseau à l'écoute des acteurs de la filière alimentaire*

### Objectif 2

*Identification  
des enjeux et  
verrous :*

- 2.1- la mise en place de **programmes de R&D** : Projet ALIA Ecobiopro, FAM Histabio, FAM Nitired, Topic Europe,..
- 2.2- la réalisation d'une **enquête** sur la perception des **consommateurs** à l'égard des flores protectrices
- 2.3- la réalisation de tables rondes avec les **industriels (utilisateurs/fournisseurs)**
- 2.4- la mise en place d'un **groupe de travail** en relation avec les pouvoirs publics

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

### Objectif 3

*Communication et diffusion de l'ensemble des connaissances acquises sur les flores protectrices*

- **Ouvrage**
- **Organisation de journées d'information/formation**
- **Colloques : organisation conjointe avec la SFM du colloque « section Microbiologie des Aliments » en collaboration avec la SFM – 17 et 18 novembre – ONIRIS (Nantes)**
- **Publications dans des revues techniques et/ou scientifiques**

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

### *Les travaux en cours d'initiation par le réseau (horizon fin 2014)*

- Ouverture du RMT vers l'Europe : initiation d'un consortium européen
- poursuite de l'identification des thèmes de recherches nécessitant la mise en place de projets R&D,
- Poursuite des travaux sur l'aspect consommateurs (durabilité, faisabilité technique ?
- réglementation/législation - rédaction d'un document de synthèse sous forme d'un CC - bilan des critères pouvant faire l'objet d'une demande d'autorisation.
- Mise en place d'un cours d'enseignement sur la biopréservation.

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

***Merci pour votre attention***

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

**Journée d'information et d'échange sur l'utilisation des flores  
protectrices pour la conservation des aliments  
27 juin 2013**

**Focus sur une enquête menée auprès des  
consommateurs sur leur perception à l'égard de  
l'emploi des flores protectrices comme agents de  
conservation**

**Carole Feurer  
IFIP Maisons-Alfort**

## OBJECTIFS

- ✘ Analyser et comprendre la perception des consommateurs vis-à-vis des flores protectrices et leur acceptabilité
  - Quelle perception du **terme** « flores protectrices » et quels autres termes utilisables ?
  - Quelle perception des consommateurs vis-à-vis des **innovations** en IAA
  - Les « flores protectrices » apparaissent-elles comme **une méthode naturelle** ?
  - Pour quels produits alimentaires, les flores protectrices paraissent-elles les plus acceptables ?
  - L'argument « **allongement de la durée de conservation** » des produits est-il important pour les consommateurs ?
  - Pour quels autres arguments fonctionnels, les flores protectrices paraissent-elles les plus acceptables ?
  - Quel est le **consentement à payer** pour les flores protectrices dans les produits alimentaires ?

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## **METHODOLOGIE**

- ✘** Enquête réalisée par l'unité Métrarisk de l'INRA (Méthodologie d'analyse du risque alimentaire (S. Blanchemanche et S. Marette) – soutien de l'ACTIA
  
- ✘** Deux méthodes
  - **Analyse qualitative et sémiologique par la réalisation de Focus groupes**
    - 3 focus groupes
    - 25 personnes
    - Discussion ouverte
    - Paris
  - **Approche expérimentale**
    - 11 séances de 1h
    - 116 personnes
    - Pas d'échanges entre individus
    - Paris

## FOCUS GROUPES

- ✘ Objectif : déterminer l'attitude d'un groupe de consommateurs à l'égard d'un produit, concept..
- ✘ Grille de travail – 3 questions
  - Faut-il innover dans les produits alimentaires ?
  - Pour quels objectifs ?
  - Quelles sont les innovations existantes pour améliorer la sécurité sanitaire ?
- ✘ Introduction de la définition de la biopréservation : « utilisation d'agents naturels pour assurer la qualité sanitaire des aliments »
- ✘ Quels termes vous semble le mieux adapté pour la représenter ?
  - Flores ou cultures protectrices ?
  - additif
  - Agent naturel de conservation
  - bactéricide
  - ferment lactique

## **FOCUS GROUPES - RÉSULTATS**

### **✘ Innovation**

- pour protéger l'environnement : emballages recyclables, réduction quantités emballages pour réduire le prix des produits
- Pour améliorer la santé : moins de MG, sel, sucre

### **✘ Allongement de la durée de conservation des produits**

- non vu comme argument positif !
- Méfiance
- associé à une augmentation de l'utilisation de produits chimiques
- Achat raisonné privilégié pour gérer la durée de vie
- pas de lien avec réduction du gaspillage : « cela décale le problème »

### **✘ Procédés de conservation des aliments peu connus**

- salaison et conservateurs uniquement

## FOCUS GROUPES - RÉSULTATS

- ✘ **Sécurité sanitaire des aliments : Le risque 0**
  - Sentiment de fatalisme, de « non contrôle »
  - Le principe de la biopréservation fait émerger un problème : celui de la présence de bactéries dans les aliments
    - « A la base, il ne devrait pas y avoir de bactéries nuisibles dans le steak ! »
  - Les attentes sont un risque zéro et non une diminution du risque sanitaire
- ✘ **La biopréservation : l'atout du naturel**
  - Réaction positive du fait de l'argument « naturel » : « si c'est naturel, ça me convient », « c'est la solution idéale »
  - Réaction négative face à l'ajout d'une substance, même si naturelle. Sentiment plus fort pour les produits non transformés (viande/poisson) P/R yaourts
  - Inquiétudes : origine des flores protectrices et modalités d'introduction, impact sur le goût et le prix ?

## FOCUS GROUPES - RÉSULTATS

---

### ✘ Termes représentatifs – association négative

- **bactéricide** : associé aux produits chimiques (pesticides) + enlèvement d'une partie des qualités du produit
- **Additif** : associé aux produits chimiques
- **Ferment lactique** : perçu comme naturel mais fortement associé aux produits laitiers
- **Culture** : associée aux laboratoires, pas aux aliments
- **Agent** : perçu comme non identifiable

## FOCUS GROUPES - RÉSULTATS

### ✘ Termes représentatifs – association positive

- termes connus sont rassurants : « ce que j'aime et qui me rassure c'est ce que je connais »
  - Conservation : apprécié car représente bien l'action réalisée (P/R protection)
  - Flore : terme connu, évoque les « flores intestinales » et donc « une barrière contre les virus »
  - Ferment naturel : ferment est connu, naturel rassure.
- Flores naturelles de conservation : très apprécié  
=> regroupe la totalité des arguments positifs

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## EXPÉRIMENTATIONS

---

- ✘ Sessions de  $\approx 10$  personnes
  - sélection suivant sexe, âge, catégorie socio-professionnelle et revenus
- ✘ Questionnaire « pratiques et habitudes alimentaires »
- ✘ Révélation d'information et mécanisme de détermination des dispositions à payer (DAP) pour deux produits (Jambon cuit / steak haché)
  - la DAP représente le prix le plus élevé que le participant est prêt à payer pour le produit/innovation

## EXPÉRIMENTATIONS - RÉSULTATS

### ✘ Pratiques et habitudes d'achat

- consultation des étiquettes : 51 % toujours ; 35 % souvent
- Sur les étiquettes, les individus lisent principalement
  - Date limite de consommation : 82 % toujours, 15 % souvent
  - Méthode de conservation : 41% toujours, 24 % souvent
  - La composition du produit : 46% toujours, 41% souvent

### ✘ Sécurité sanitaire des aliments

- appréciation globale positive
- 71 % trouve qu'elle est très bonne ou bonne

## EXPÉRIMENTATIONS - RÉSULTATS

### ✘ Innovation dans les produits alimentaires

- Augmenter la durée de conservation n'est pas perçue comme une innovation utile

*=> confirme les résultats des focus groupes*

- d'autres objectifs sont perçus comme utiles
  - Réduire les additifs chimiques (très utile : 78 %)
  - Augmenter la sécurité sanitaire (très utile : 73 %)
  - Produire de manière plus naturelle (très utile : 72 %)
  - Réduire la teneur en sel (très utile : 61 %)

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## EXPÉRIMENTATIONS - RÉSULTATS

### ✘ Perception de l'utilisation des flores naturelles de conservation (après avoir été informés)

- utilisation dans le steak haché considérée opportune à 71% et à 63 % dans le jambon cuit
- Arguments avancés : aspect naturel, réduction des additifs chimique et du sel
- 70 % considère ce moyen de conservation comme naturel

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## EXPÉRIMENTATIONS - RÉSULTATS

- ✘ Disposition à payer pour des produits contenant des flores naturelles
  - Révélation d'informations et évaluation des DAP (€) après chaque information
    - DAP : prix le plus élevé que le participant est prêt à payer
    - 2 produits : steak haché et jambon cuit



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## EXPÉRIMENTATIONS - RÉSULTATS

### ✘ Les informations

- INFO 1 : brève description du produit
- INFO 2 : Produit mieux conservé grâce à un nouveau procédé
- INFO 3 : Produit conservé grâce à des flores naturelles de conservation



- INFO 4 Argument « augmentation de la « sécurité sanitaire »
- INFO 5. Argument « réduction du gaspillage » pour les industries
- INFO 4. Argument « réduction de l'utilisation des additifs chimiques »
- INFO 5. Argument « réduction de l'utilisation de sel »

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN



**EXPÉRIMENTATIONS - RÉSULTATS**

**Information 1**

La photo représente une barquette de 2 steaks hachés frais pur bœuf vendue dans le commerce.

**Choix 1**

Achèteriez-vous les 2 steaks au prix indiqué ?

	Oui	Non	
2,30 €	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	← DAP1
2,40 €	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
2,50 €	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	

**Information 2**

Les steaks de la photo sont mieux conservés grâce à un nouveau procédé.

**Choix 2**

Achèteriez-vous les 2 steaks au prix indiqué ?

	Oui	Non	
2,30 €	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
2,40 €	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	← DAP2
2,50 €	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	

✘ L'information 2 conduit à une augmentation de la DAP passant de 2,30 € à 2,40 €

✘ Il y a une valorisation de 0,10 € pour la conservation

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

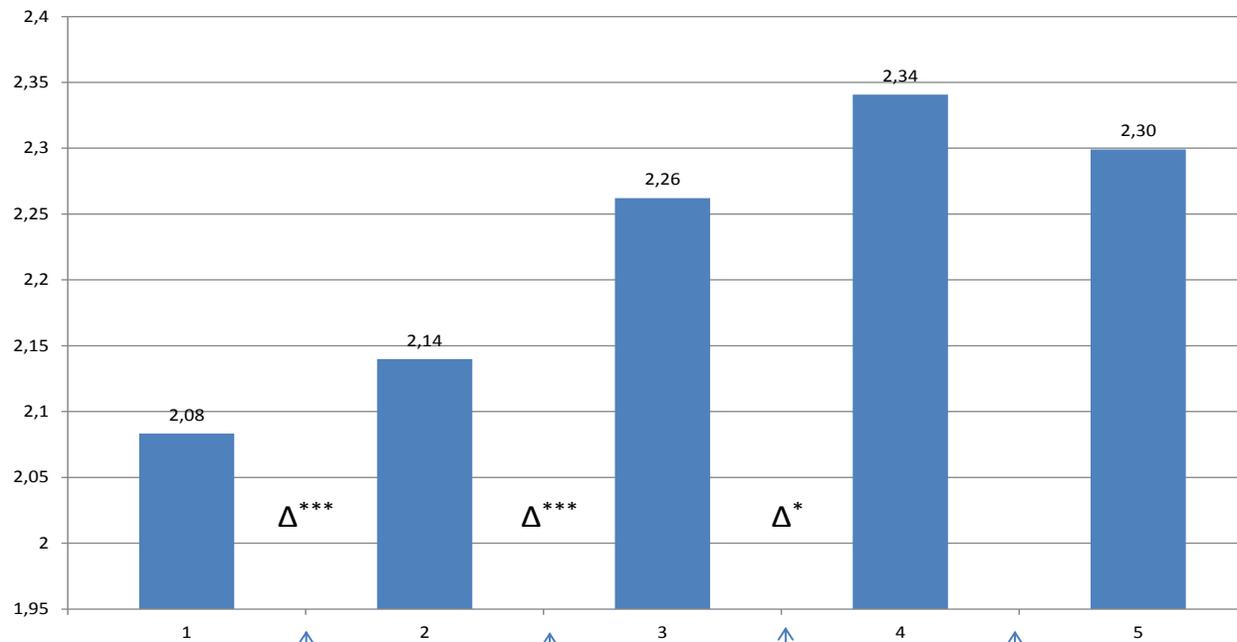


**DAP STEAK HACHÉ**

**2 Steaks Hachés**

Moyenne des dispositions à payer en €

(108 participants avec 23 participants indifférents avec DAP=0)



Δ\*\*\* indique des différences significatives à un niveau de 1 % selon le test de Wilcoxon.

Δ\* indique des différences significatives à un niveau de 10 % selon le test de Wilcoxon.

Information  
révélée



Meilleure  
conservation

Flore  
naturelle de  
conservation

Sécurité  
sanitaire

Gaspillage  
dans  
l'industrie

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN



## EXPÉRIMENTATIONS - RÉSULTATS

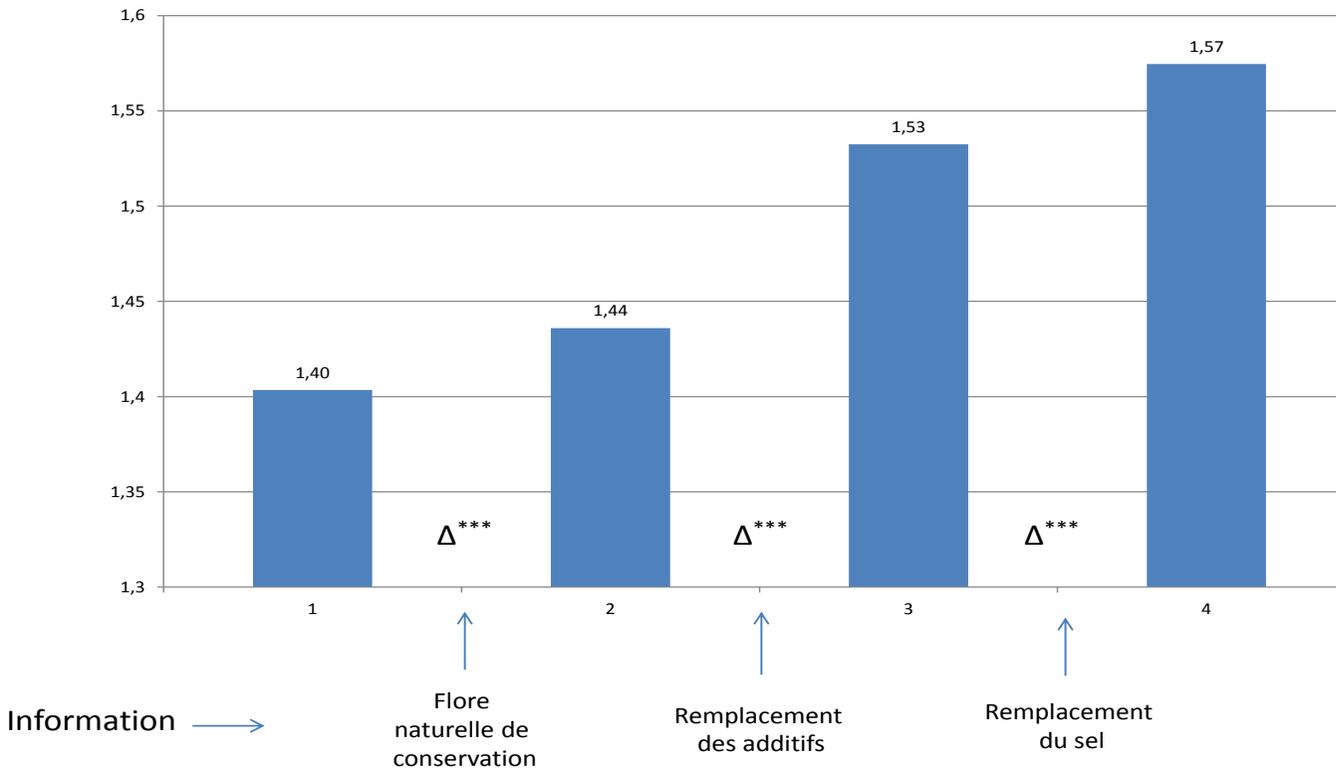
- ✘ Informations successives sur la meilleure conservation, la présence de la flore naturelle et la sécurité sanitaire ont une influence significative sur l'augmentation des DAP
- ✘ L'augmentation marginale des DAP la plus forte : présence de la flore naturelle => **Importance du caractère naturel**
- ✘ L'information « réduction du gaspillage n'a pas d'impact significatif sur la DAP
  - Perception implicite d'une augmentation des profits de l'industrie devant se répercuter sur les prix.

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN



DAP JAMBON

2 Tranches de Jambon  
Moyenne des dispositions à payer (114 observations)



Δ\*\*\* indique des différences significatives à un niveau de 1 % selon le test de Wilcoxon.

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN



## EXPÉRIMENTATIONS - RÉSULTATS

- ✘ Toutes les informations ont une influence significative sur l'augmentation des DAP
- ✘ L'augmentation marginale des DAP la plus forte : remplacement des additifs => **A nouveau, importance du caractère**

## CONCLUSIONS

- ✘ Le principe des flores protectrices a été accueilli positivement (caractère naturel du procédé à mettre en avant)
- ✘ Le terme flores protectrices n'est pas le plus explicite/rassurant. A remplacer avantageusement par « flores naturelles de conservation »
- ✘ L'argument « allongement de la durée de conservation » ne fait pas écho auprès du consommateur
  - argument santé « permet d'utiliser moins de sel » (jambon cuit)
  - argument naturel « remplacer ou limiter les conservateurs chimiques »
- ✘ Consommateurs en attente d'explications sur les flores, leur utilisation et leur impact sur le goût des produits

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## PISTES À APPROFONDIR

---

- ✘ **Confirmer les résultats obtenus**
  - A grande échelle (national)
  - Autres produits ?
- ✘ **Pousser la réflexion sur l'appellation des flores (naturel ?)**
- ✘ **Explorer les techniques d'application des cultures protectrices**
- ✘ **Evaluation du coût financier (bilan énergétique)**
- ✘ **Acceptabilité P/R à une autre technologie (hautes pressions)**
- ✘ **Autres pistes de réflexion?**

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

*Merci pour votre attention*

*Enquête menée dans le cadre du RMT FLOREPRO  
financée par l'ACTIA*



The logo for the DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes) is displayed in the top left corner. It features the letters 'dgccrf' in a stylized font, with 'dg' in orange and 'ccrf' in dark blue. The background of the slide is a light blue image showing a group of people, possibly in a meeting or office setting, with some individuals looking at documents or screens.

**dgccrf**

Direction Générale de la Concurrence,  
de la Consommation et de la Répression des Fraudes

# Réglementation des « cultures bio protectrices »

**27 juin 2013 - PARIS**

Catherine EVREVIN - DGCCRF  
bureau 4B « qualité et valorisation des  
denrées alimentaires »

# Réglementation alimentaire générale

---

Règlement n°178/2002 : établit les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire

***Aucune denrée alimentaire n'est mise sur le marché si elle est dangereuse***

Règlement n°852/2004 : établit les règles d'hygiène pour la fabrication des denrées alimentaires

Règlement n°258/1997 : obligation d'obtenir une autorisation après évaluation des risques avant de mettre un Nouvel Aliment sur le marché.

Directive 2000/13 : fixe les règles d'étiquetage des denrées préemballées

***Liste des ingrédients/dénomination de vente***

## Réglementation : *Paquet améliorants*

---

### *Harmonisation des dispositions pour les substances gérées par liste positive*

Règlement n°1331/2008 : fixe une procédure d'autorisation commune pour les **additifs, enzymes et arômes** alimentaires

Règlement n°1333/2008 : se substitue à 4 directives relatives aux **additifs alimentaires**, prévoit un programme de réévaluation et un étiquetage plus détaillé de certains colorants

*Y compris bouillons de légumes préfermentés (nitrite)*

Règlement n°1334/2008 : définit de nouvelles catégories d'**arôme**, des conditions plus rigoureuses de la désignation des arômes naturels

Règlement n°1332/2008 : harmonise les procédures d'évaluation des **enzymes** au niveau communautaire et maintient à titre transitoire les règles nationales en vigueur

*Y compris cultures pour la production spécifique d'enzymes*

# La procédure commune : Règlement n°1331/2008

---

## Evaluation par Agence Européenne de Sécurité des Aliments :

Procédure d'évaluation centralisée  
sur les critères :  
*sécurité d'emploi, nécessité technologique, non tromperie du  
consommateur*

## Gestion par le Comité Permanent **CASA** se substitue à la procédure de codécision du Conseil et du Parlement européen :

Commission Européenne + Etats Membres  
*Mise à jour des listes communautaires positives des substances et de  
leurs conditions d'emploi par procédure de réglementation avec contrôle  
sur avis AESA*

**Durée : temps d'élaboration dossier + 9 mois pour l'évaluation  
+ 9 mois pour la proposition d'autorisation**

## Evolution de la réglementation : culture

---

- Les ferments incorporés traditionnellement dans les denrées alimentaires sont jusqu'à présent considérés comme des ingrédients
- Quelques secteurs ont défini des règles précises d'incorporation des ferments ou cultures de microorganismes
- L'utilisation non traditionnelle de cultures dans l'industrie alimentaire dans l'unique but d'exercer un effet conservateur sur l'aliment soulève la question du statut et de la sécurité de ces cultures
- En décembre 2006, la Commission a proposé des critères pour le classement des cultures comme

***Ingrédient ou additif alimentaire***

# Evolution de la réglementation : classement des cultures

---

- des **ingrédients** si elles participent à la fabrication du produit par la fermentation ou sont utilisées pour un effet probiotique.

Il s'agit des cultures starters, de surface contribuant aux caractéristiques de l'aliment

***traditionnelles (avant mai 97)/ nouveaux aliments soumis à autorisation***

- des **additifs** si elles sont ajoutées pour un effet technologique spécifique (comme la conservation)

Il s'agit des cultures protectrices utilisées sur les viandes crues ou cuisinées, les poissons

***soumises à autorisation préalable***

# Information loyale du consommateur

---

Liste des ingrédients : désignation sous leur nom spécifique (article R112-16 du code Consommation)

Désignation des cultures de micro-organismes nécessaires à la fabrication :  
« Ferments lactiques », autres cultures, présence ?

Dénomination de vente : référence au traitement subi par la denrée s'il est de nature à créer confusion pour le consommateur (article R112-7 du code Consommation)

Traitements par des cultures de micro-organismes :

- fermentation : transformation modifiant les qualités organoleptiques initiale
- traitement de surface/masse dans un but de « préservation » sans modification de qualités organoleptiques initiales

Référence au traitement par des cultures dans la dénomination de vente :  
« fermenté », denrées de consommation courante pour lesquelles un traitement par des cultures n'est pas requis par les usages ?

## Information loyale du consommateur



?

+ culture



viande fraîche à laquelle a été ajoutée d'autres ingrédients n'ayant subi aucun traitement de conservation autre que la réfrigération, la congélation ou la surgélation, y compris les viandes conditionnées ou en atmosphère contrôlée

= Préparation de viande

Traitée en surface par des flores ?

ingrédient « naturel » / « d'origine naturelle » ?

Le traitement par des cultures n'est pas requis pour ce type de denrées

# Evolution de la réglementation : une réglementation spécifique pour les cultures

---

- adoption des critères par le CPCASA
- législation additif pas adaptée (exemple des enzymes?)
- choix du niveau d'autorisation souche ou espèce
- procédure d'autorisation et lignes directrices pour l'évaluation
- évaluation des conséquences pour les applications actuelles

***Au programme 2013 de la Commission européenne***

## Evolution de la réglementation : attentes

---

- vérifier la cohérence des critères proposés avec les applications actuelles
- définir les cultures et leur mode d'action
- évaluation de la sécurité
- information des consommateurs

# Inclusion de bactéries lactiques dans des matrices d'alginate ou d'alginate-caséinate pour une activité anti-*Listeria* en vue de la bioprotection de la surface de fromage

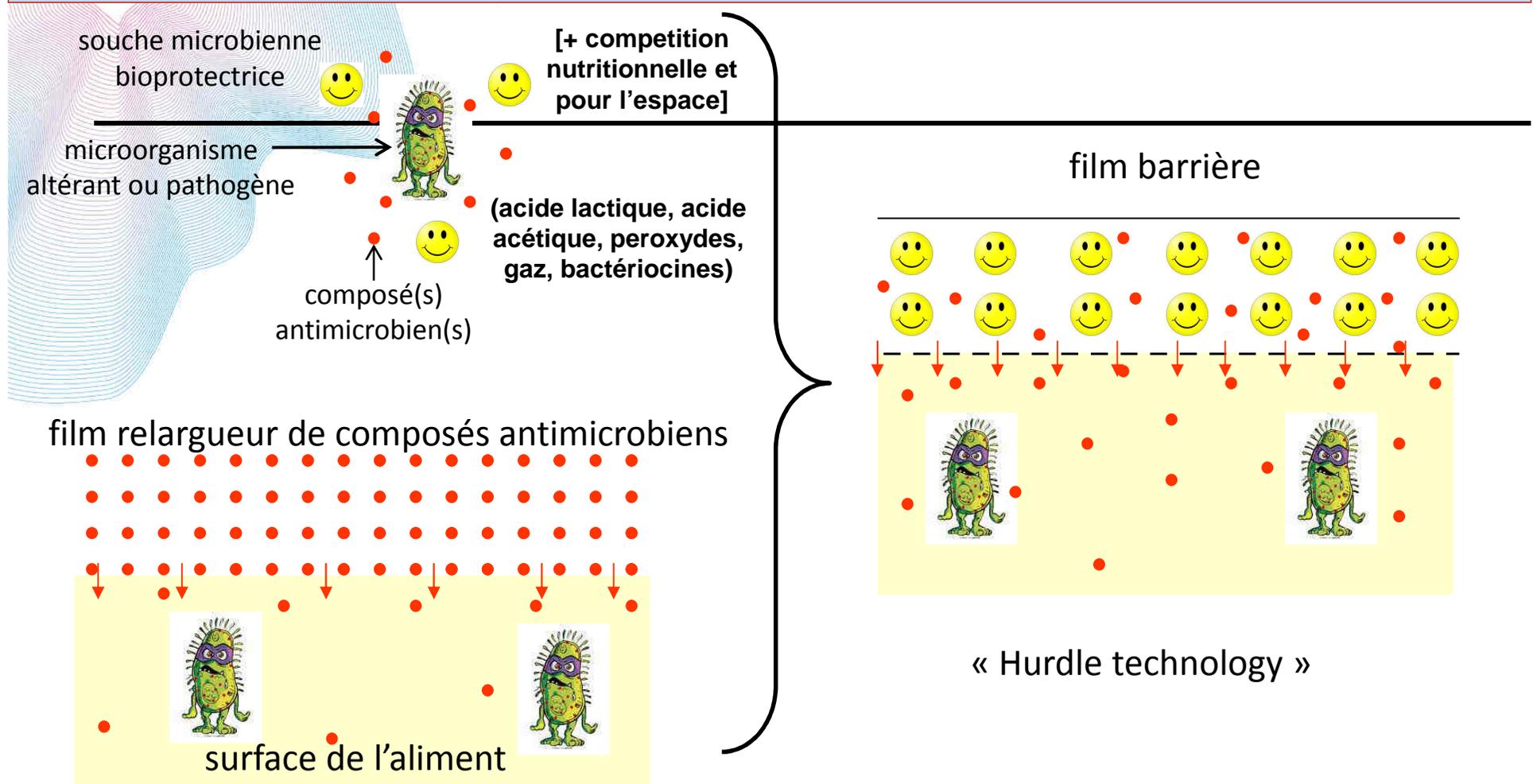
Lucie LEONARD<sup>1,2</sup>, Olfa BEJI<sup>1</sup>, Rémi SAUREL<sup>2</sup>, Pascal DEGRAEVE<sup>1</sup>, Adem GHARSALLAOUI<sup>1</sup>, Nadia OULAHAL<sup>1</sup>



<sup>1</sup> BIODYMIA (BIOingénierie et DYnamique Microbienne aux Interfaces Alimentaires) - Equipe Mixte d'Accueil Université Lyon 1/ISARA Lyon - Technopole Alimentec - rue Henri de Boissieu – F- 01 000 Bourg en Bresse

<sup>2</sup> Equipe PAMP, UMR PAM, Agrosup Dijon, Université de Bourgogne – 1 esplanade Erasme – F-21 000 Dijon

# Un projet à la croisée de l'étude des mécanismes de bioprotection et du développement de matériaux antimicrobiens



**La grande originalité du projet :  
les modes de mise en œuvre des souches bioprotectrices**

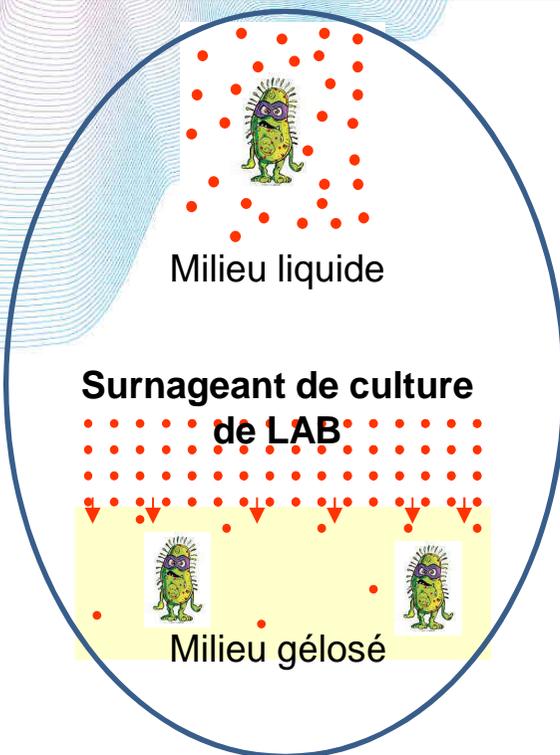
## LAB BIOPROTECTRICES ET MÉCANISMES MIS EN JEU

Souches bioprotectrices => **bactéries lactiques (LAB)**

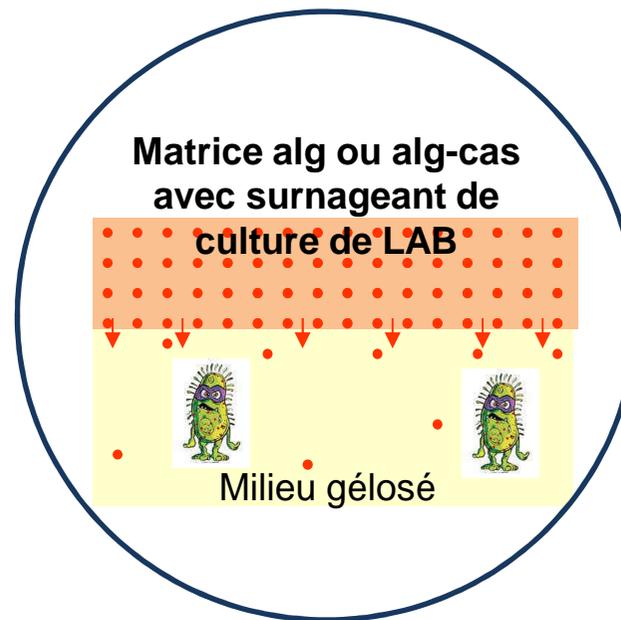
(priorisation de celles considérées comme « GRAS » (« Generally Recognized As Safe »))

<i>Souches</i>	<i>Agents antimicrobiens</i>	<i>Références</i>
<b><i>Leuconostoc mesenteroides</i></b>	Acides organiques, peroxyde d'hydrogène, mesentericine (bactériocine classe II)	Trias <i>et al.</i> , 2008
<b><i>Lactobacillus sakei</i></b>	Sakacine (bactériocine classe II)	Héquet <i>et al.</i> , 2009 ; Héquet <i>et al.</i> , 2007 ; Ammor <i>et al.</i> , 2006
<b><i>Lactobacillus delbrueckii</i></b>	Acides organiques, peroxyde d'hydrogène, bactériocine de classe III	Van de Guchte <i>et al.</i> , 2001
<b><i>Lactobacillus plantarum</i></b>	Bactériocines type classe II	Todorov <i>et al.</i> , 2011 ; Todorov <i>et al.</i> , 2006 ; Enan <i>et al.</i> , 1996 ; Abo-Ammer <i>et al.</i> , 2008
<b><i>Enterococcus faecium</i>*</b> <b>*Ni QPS, ni GRAS</b>	Entérocinés (bactériocines de classe II)	Khan <i>et al.</i> , 2010 ; Maldonado-Barragan <i>et al.</i> , 2009 ; Izquierdo <i>et al.</i> , 2009
<b><i>Lactococcus lactis</i></b>	Nisine (différentes formes : A, Z, ...) (bactériocine de classe I), lacticine, lactococcine, entérociné A	Svetoslav <i>et al.</i> , 2004 ; Matsuzaki <i>et al.</i> , 1996 ; Sharma <i>et al.</i> , 2010 ; Mc Auliffe <i>et al.</i> , 2001 ; Reis <i>et al.</i> , 2012 ; Guinane <i>et al.</i> , 2005

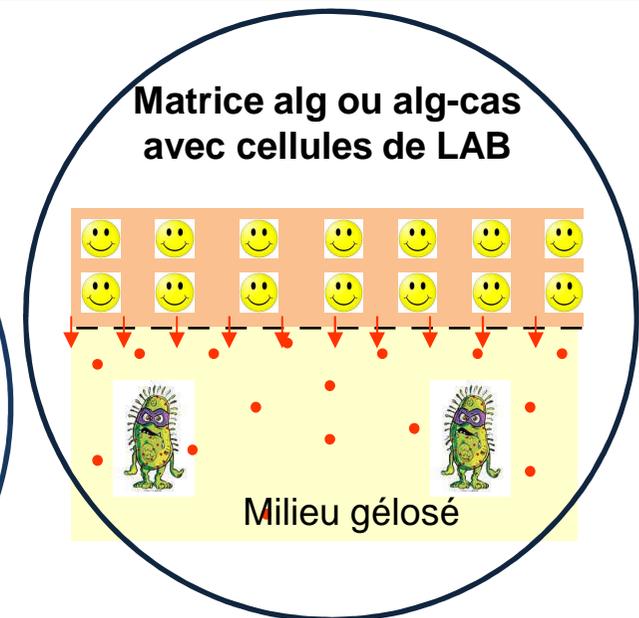
## DE LA SÉLECTION DES SOUCHES DE LAB BIOPROTECTRICES À LEUR CONFINEMENT



1<sup>ère</sup> étape : Evaluation du potentiel bioprotecteur en milieu liquide et/ou gélosé



2<sup>ème</sup> étape : Evaluation du transfert des agents antimicrobiens de la matrice vers milieu gélosé



3<sup>ème</sup> étape : Etude de la viabilité et du potentiel bioprotecteur des LAB confinés dans la matrice

- utilisation de souches de **LAB** comme **souches antimicrobiennes**
- **mécanismes d'action antimicrobienne à privilégier : production de bactériocines, compétition nutritionnelle et pour l'espace**
- **effets recherchés : effet bactériostatique ou effet bactéricide**

D'après McClements, 2006

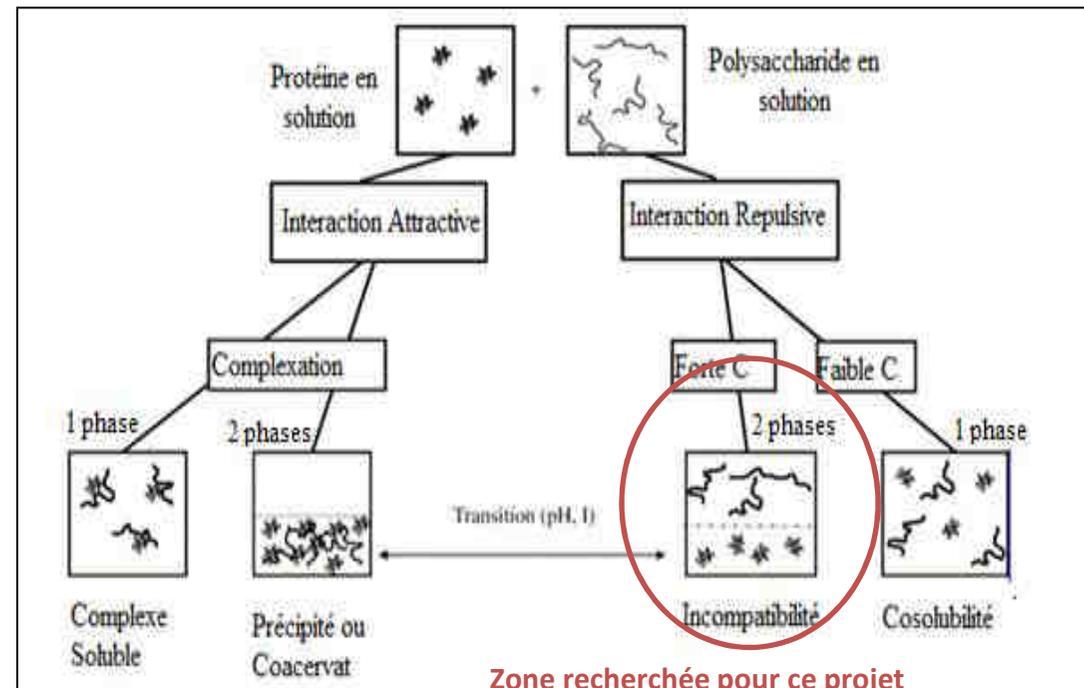
### ▪ Choix de biopolymères

**Polysaccharide : alginate de sodium**

(gélification assez facile à mettre en œuvre avec  $\text{CaCl}_2$ )

**Protéine : caséinate de sodium**

(source potentielle de nutriments pour les cellules de LAB)



## SOUCHES CIBLES/SOUCHES PROTECTRICES : SÉLECTION DES LAB

Activité anti-*Listeria innocua* LRGIA01, ATCC33090 et *monocytogenes* AER102 des surnageants de culture (à pH neutralisé ou non (SN et S)) et cultures entières (C) de 19 souches de LAB par la méthode de diffusion en puits en milieu gélosé

Souches de LAB	pH	Contre <i>L.innocua</i> ATCC33090			Contre <i>L.innocua</i> LRGIA01			Contre <i>L.monocytogenes</i> AER102		
		S	SN	C	S	SN	C	S	SN	C
<i>Lactobacillus fermentum</i> S1	4,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus fermentum</i> S6	4,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> S2	4,1	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> S4	4,0	-	-	+	-	-	+	-	-	+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> S7	4,2	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> S8	4	-	-	+	-	-	+	-	-	++
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> S9	4,1	-	-	+	-	-	+	-	-	+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> S11	4,0	-	-	+	+	-	++	-	-	++
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> S12	4,2	-	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Lactobacillus paracasei</i> S3	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Lactobacillus paracasei</i> S5	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	++

Souches de LAB	pH	Contre <i>L.innocua</i> ATCC33090			Contre <i>L.innocua</i> LRGIA01			Contre <i>L.monocytogenes</i> AER102		
		S	SN	C	S	SN	C	S	SN	C
<i>Lactobacillus crispatus</i> S10	4,1	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Lactobacillus curvatus</i> S13	4,2	-	-	-	-	-	++	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> S14 TSB	5,6	-	-	-	+++	++	+++	-	-	+
<i>Enterococcus faecalis</i> S14 « MRS »	4,6	-	-	-	++	++	++	++	++	++
<i>Mycetocola</i> S15 « TSB »	6,5	-	-	-	-	-	-	+	+	++
<i>Mycetocola</i> S15 « MRS »	4,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus paracasei</i> LAB1	4,2	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Lactobacillus paracasei</i> LAB2	4,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Lactococcus lactis</i> LAB3	4,0	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Lactococcus lactis</i> LAB4	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+

SN : surnageant neutralisé

- : aucune zone

+ :  $\varnothing \leq 5$  mm

++ :  $5 \text{ mm} < \varnothing \leq 10$  mm

+++ :  $\varnothing > 10$  mm

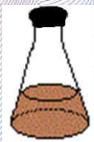
Conditions de culture des souches de LAB pour la récupération des surnageants à 24h : milieu MRS, anaérobiose, 30°C

6 A noter, pour S14 et S15, le test a été réalisé pour des cultures en MRS et TSB

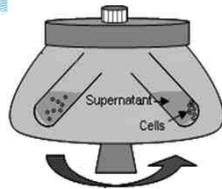
→ Sélection de 4 souches :  
LAB1, LAB2, LAB3 et S14

MÉTHODOLOGIE : CONFINEMENT DES LAB, CULTIVABILITÉ DES LAB DANS LES MATRICES LIQUIDES OU GÉLIFIÉES ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE

1. Récupération des cellules de LAB et incorporation dans les matrices liquides



Culture de LAB dans du bouillon MRS à 30 C en anaérobie



Centrifugation (5 000 g ; 15 min ; 4 C)



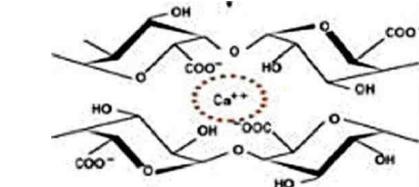
Formulations des matrices

- Alginate (alg) : 1,5 % (m/m) d'alginate de sodium, 20 % (m/m) bouillon MRS, q.s.p eau
- Alginate-caséinate (alg-cas) : 1,5 % (m/m) d'alginate de sodium, 4 % (m/m) de caséinate de sodium, 20 % (m/m) bouillon MRS , q.s.p eau

Incorporation des cellules en UFC.mL<sup>-1</sup> de matrice

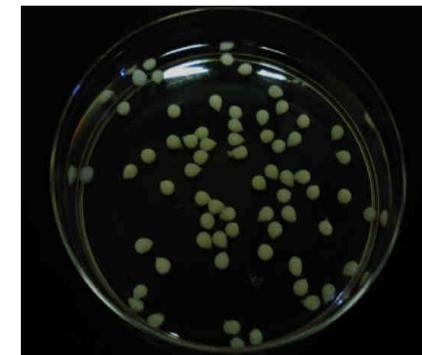
- LAB1 : 10<sup>10</sup>
- LAB2 : 10<sup>9</sup>
- LAB3 : 10<sup>8</sup>

2. Formation des billes, gélification de l'alginate



Nisco encapsulation unit VarV1 LIN-0119 (Nisco Engineering AG, Zurich, Switzerland)

- matrices liquides ajoutées goutte à goutte à une solution de CaCl<sub>2</sub> à 0,1 mol.L<sup>-1</sup> → gélification
- rinçage des billes à l'eau distillée stérile, échantillonnage et stockage à 30°C sur 12 jours



Billes Ca-alg-cas-MRS - LAB (diamètre 2 mm)

## MÉTHODOLOGIE (2)

### 3. Tests

#### a. Cultivabilité des cellules de LAB dans les matrices gélifiées et non gélifiées

*Matrices non gélifiées (liquides) : soit alginate ou alginate + caséinate*

#### Dénombrement des cellules cultivables sur milieu gélosé

*Matrices gélifiées*

*Billes*

Dissolution complète  
d'une bille dans 2,5  
mL de tampon  
phosphate à 0,1  
mol.L<sup>-1</sup>, pH = 7, à  
température ambiante  
pendant au moins 3h

Dilutions en série dans du  
Tryptone Sel

1 mL + gélose MRS en surfusion

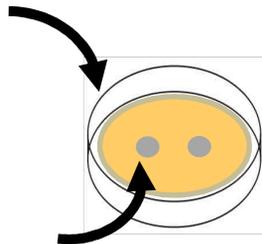
Incubation à 30°C, 24h en anaérobiose

## MÉTHODOLOGIE (3)

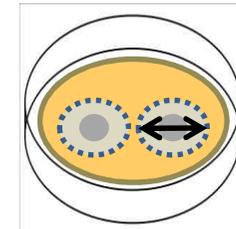
### b. Mesure de l'activité anti-*Listeria* à intervalles réguliers sur les 12 jours de stockage à 30°C

Gélose Tryptone Soja inoculée avec *Listeria* à  $10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup>

Mesure du diamètre d'inhibition :  
Zi (mm) = diamètre (zone d'inhibition + puits/bille) – diamètre puits/bille



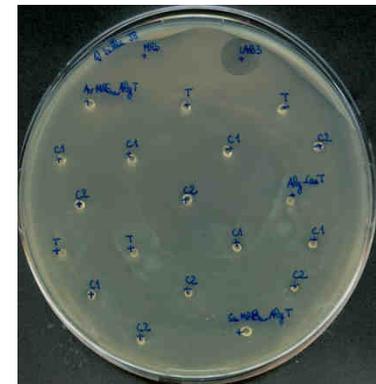
Incubation 24h à 30°C



Dépôts de 40 µL des matrices de biopolymériques liquides dans des puits (Ø 6 mm)

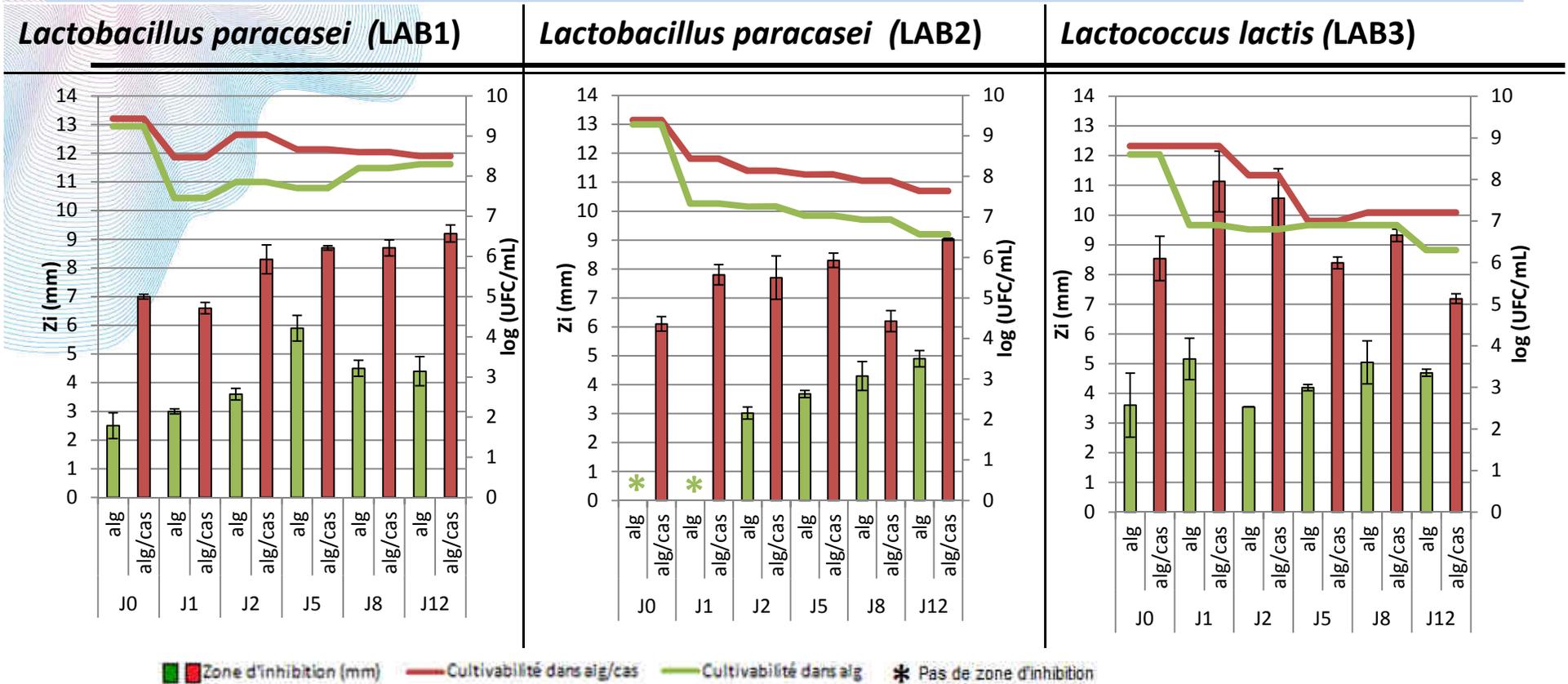
**Ou**

Dépôts des matrices polymériques gélifiées sous forme de billes entre deux couches de gélose



# RÉSULTATS : MATRICES NON GÉLIFIÉES, CULTIVABILITÉ DES LAB ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE

Fig. 1 : Activité anti-*L.innocua* LRGIA01 des matrices non gélifiées alg-MRS-LAB et alg-cas-MRS-LAB stockées à 30°C pendant 12 jours et cultivabilité des cellules de LAB



→ Meilleur maintien de la population des LAB  
 → Meilleure activité anti-*Listeria*



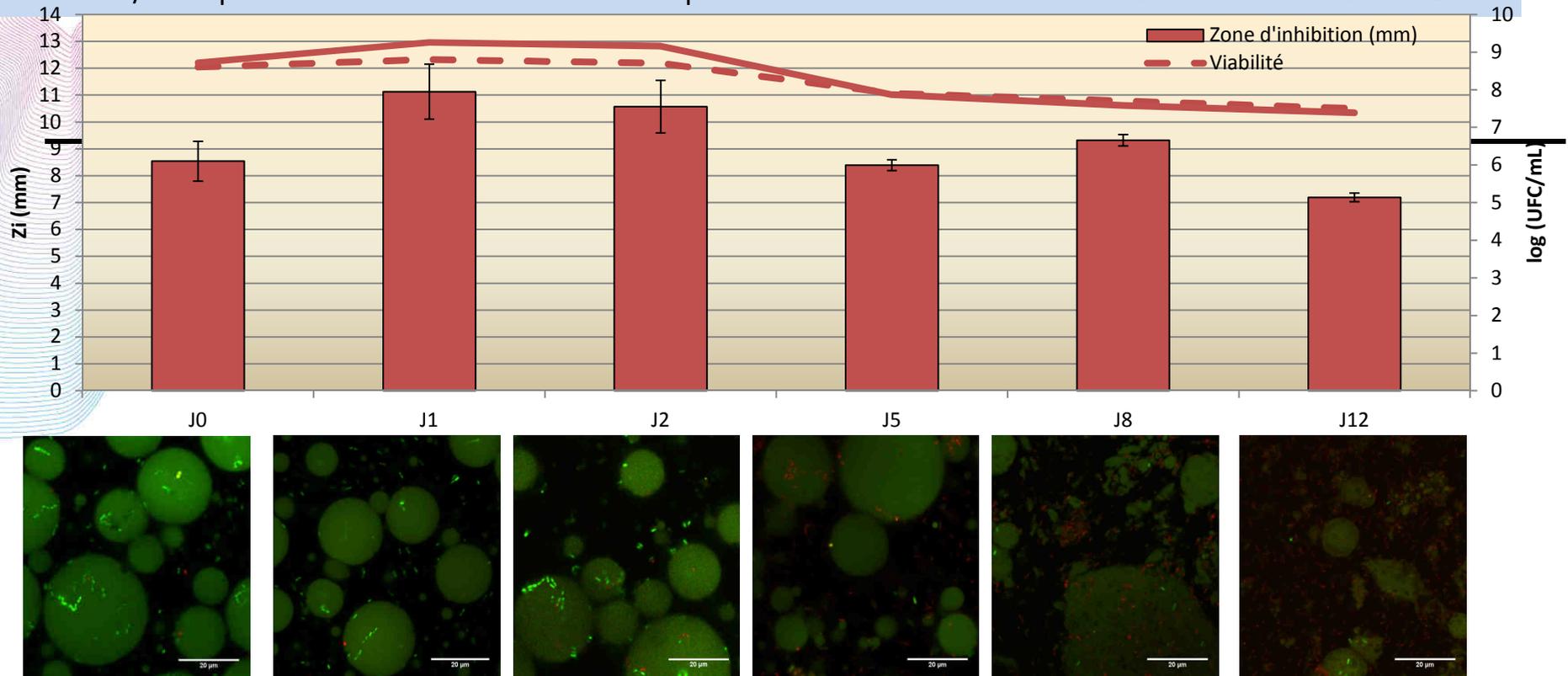
dans les matrices en présence de caséinates

**Fig. 2 : Localisation des cellules de LAB dans les matrices non gélifiées alg-cas-MRS-LAB, observation en microscopie confocale dès l'incorporation des cellules à J0**

	<i>Lactobacillus paracasei</i> LAB1	<i>Lactobacillus paracasei</i> LAB2	<i>Lactococcus lactis</i> LAB3
Témoin de structure, marquage de la phase caséinate avec la Rhodamine B Isothiocyanate			
Marquage des cellules, utilisation du kit BacLight Live/Dead® (Syto 9 et Iodure de Propidium) (Invitrogen)			

→ Cette formulation (1,5 % (m/m) alginate de sodium, 4 % (m/m) caséinate de sodium) donne une **émulsion avec une phase caséinate dispersée et une phase alginate continue / Aqueous Two Phase Systems. (ATPS).**  
 → **Localisation préférentielle des LAB** dans la phase caséinate ou aux interfaces (Léonard *et al.*, 2013).

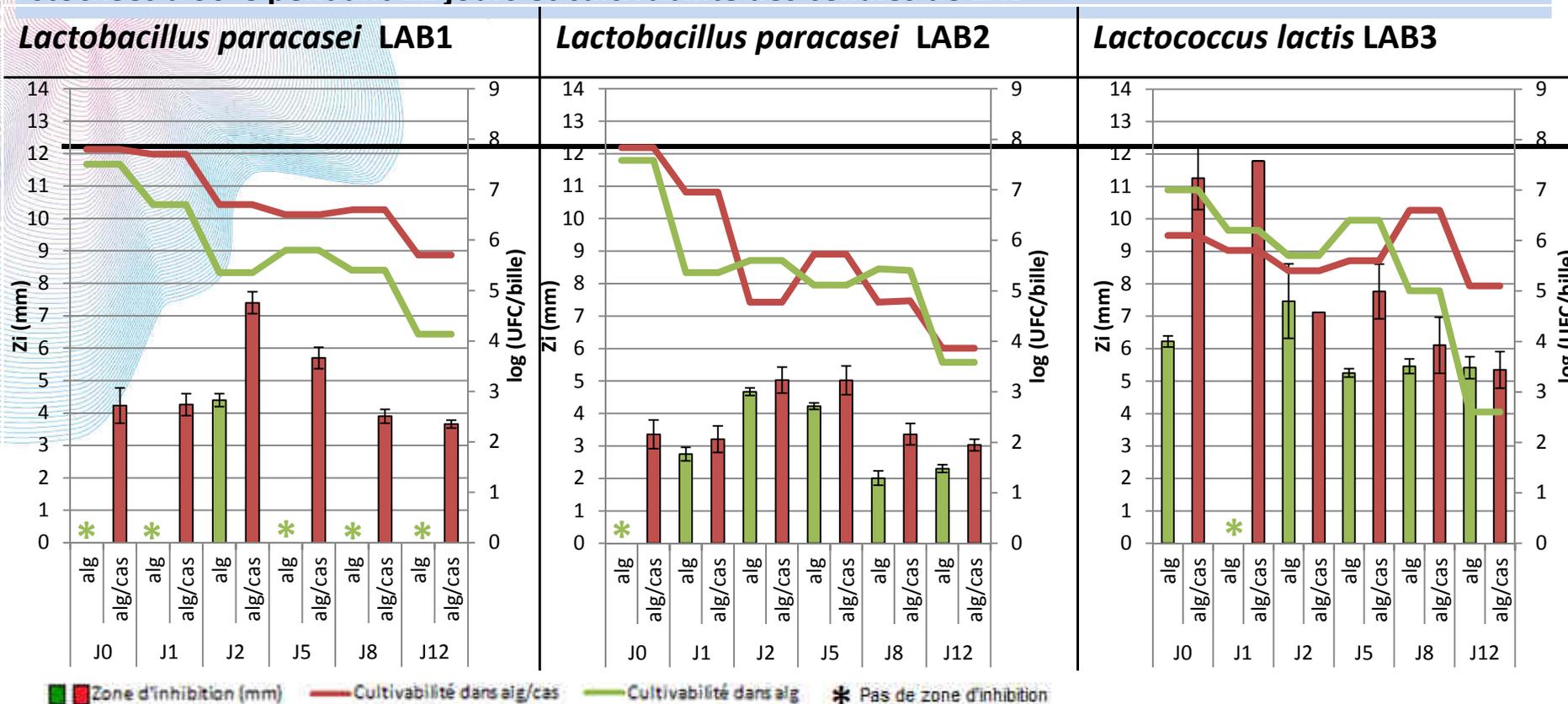
**Fig. 3 : Localisation des cellules de LAB3 dans la matrice non gélifiée alg-cas-MRS-LAB stockage à 30°C sur 12 jours et suivi de la viabilité (utilisation du kit de marquage BacLight® Live/Dead (Invitrogen)), observation en **microscopie confocale** / Suivi parallèle de la cultivabilité mesurée précédemment et de l'activité anti-*Listeria innocua* LRGIA01**



- **Evolution de la cultivabilité** (dénombrement sur milieu gélosé) et de la **viabilité** (comptage des cellules marquées en microscopie confocale) **similaires**
- **Entre J5 et J8, déstructuration de la matrice** (mort cellulaire, modifications des interactions (dues à l'évolution des conditions environnementales, ex : pH) , consommation des caséinates par les LAB...)
- Néanmoins, les cellules viables à partir de J5 se localisent toujours dans la phase protéique, maintien au-delà de  $10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup>

→ **Etape suivante : gélification de la matrice à t0**

**Fig. 4 : Activité anti-*L.innocua* LRGIA01 des matrices gélifiées Ca-alg-MRS-LAB et Ca-alg-cas-MRS-LAB stockées à 30°C pendant 12 jours et cultivabilité des cellules de LAB**

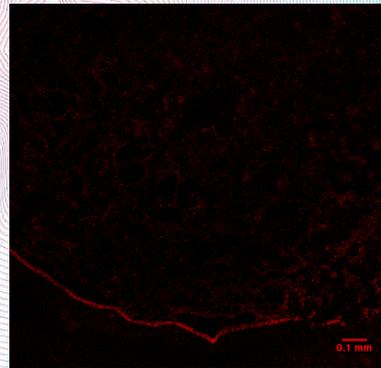


→ La présence de caséinate dans la formulation apparaît comme **essentielle pour un meilleur maintien de la population dans les billes et un meilleur transfert des agents antimicrobiens.**

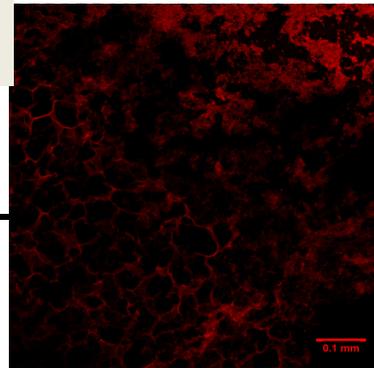
→ **Variabilité de la réponse d'une LAB à l'autre** : Impact probable de la nature des agents antimicrobiens produits par chacune d'elle.



**Fig. 5 : Localisation des cellules de LAB3 dans les matrices gélifiées sous forme de billes alg-cas-MRS-LAB, observation en microscopie confocale dès l'incorporation des cellules à J0**



Zoom 2 fois



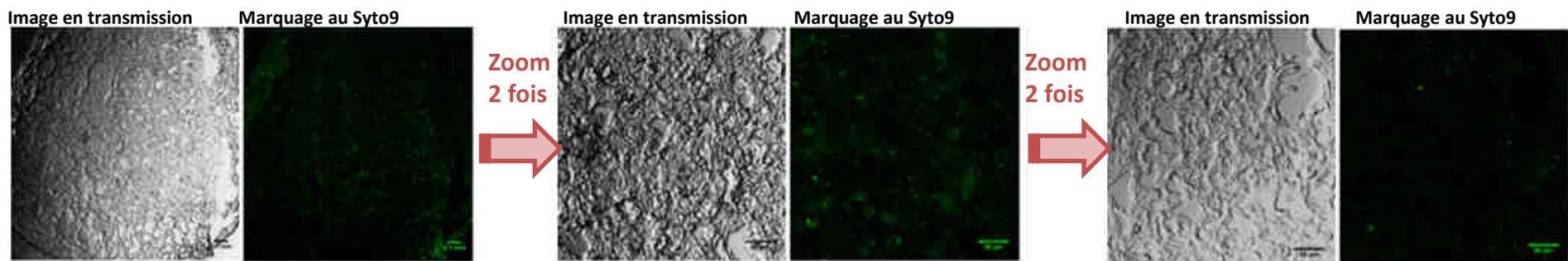
Témoin de structure, marquage des caséinates par la Rhodamine, coupe de 10  $\mu\text{m}$

→ Les billes présentent un réseau plus dense sur le bord de la bille et la densité du gel semble diminuer de la périphérie vers le centre (transfert des ions  $\text{Ca}^{2+}$ ).

→ **Structure poreuse en alvéole** : le marquage à la Rhodamine ne permet pas de distinguer le réseau protéique du réseau alginate.

→ **Perspective : Marquer l'alginate simultanément.**

Observations des coupes de 10  $\mu\text{m}$  des billes contenant les cellules de LAB3 marquées au Syto 9



→ Observation des cellules de Lab3 au cœur des billes.

→ **Perspective : Charger plus en cellules pour clairement identifier leur localisation dans ces systèmes gélifiés.**

INCLUSION DE BACTÉRIES LACTIQUES DANS DES MATRICES D'ALGINATE OU D'ALGINATE CASÉINATE POUR UNE ACTIVITÉ ANTI-*LISTERIA* EN VUE DE LA BIOPROTECTION DE LA SURFACE DE FROMAGE

## Conclusions

- Nombre plus important de cellules cultivables de LAB bioprotectrices et meilleure activité anti-*Listeria* dans les matrices contenant des caséinates
- Localisation préférentielle des cellules dans la phase caséinate ou aux interfaces, Léonard *et al.*, (2013) : Preferential localization of *Lactococcus lactis* cells entrapped in a caseinate/alginate phase separated system. **Colloids and Surfaces B : Biointerfaces**, vol 109, 266-272.

### ▪ Problématiques soulevées

+ de cellules  
→ meilleure production

Effet microstructure  
→ meilleur relargage  
des composés antimicrobiens

Variabilité effet anti-*Listeria* d'une souche de LAB à l'autre → Impact de la nature des composés antimicrobiens produits

## Perspectives

- Suite des travaux en microscopie pour déterminer la microstructure du réseau gélifié alginate/caséinate (par marquage de l'alginate)
- Caractérisation des agents antimicrobiens produits par les LAB utilisées
- Etude du transfert de ces agents antimicrobiens dans les matrices alg et alg-cas et vers les milieux gélosés ou matrices alimentaires en contact.

Développement de gels  
d'alginate/caséinate incorporant des  
cellules de LAB bioprotectrices



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

**MERCI POUR VOTRE ATTENTION**

*Autres partenaires du projet*



**nadia.oulahal@univ-lyon1.fr**

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

Journée d'information et d'échange sur l'utilisation des flores  
protectrices pour la conservation des aliments  
27 juin 2013

Exemples d'application dans la filière des  
produits carnés

Monique Zagorec  
UMR1014 Secalim, Nantes

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## PRINCIPES

### ✘ Approche classique

- Sélection de souches à effet (souvent) anti-*Listeria*
- Etudes en conditions de laboratoire
- Etude en matrice
- Suivi microbiologique par étalement

### ✘ Plus récemment

- Cocktails de souches, d'espèces
- Suivi par méthodes moléculaires
- Intérêt pour d'autres cibles, dont altération

### ✘ Difficultés

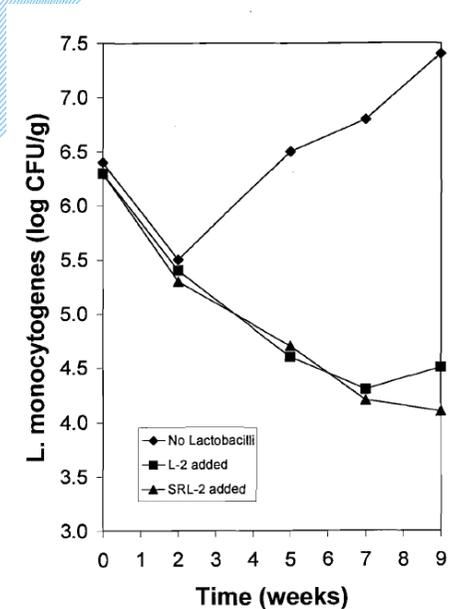
- Viande inévitablement contaminée
- Flore endogène non négligeable
- Inefficacité de certaines bactériocines





## EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE OU DE PROJETS DE RECHERCHE, ET LIMITES

### ✘ *Lactobacillus sakei* FloraCarn L-2 avec *Listeria* sur viande hachée de bœuf

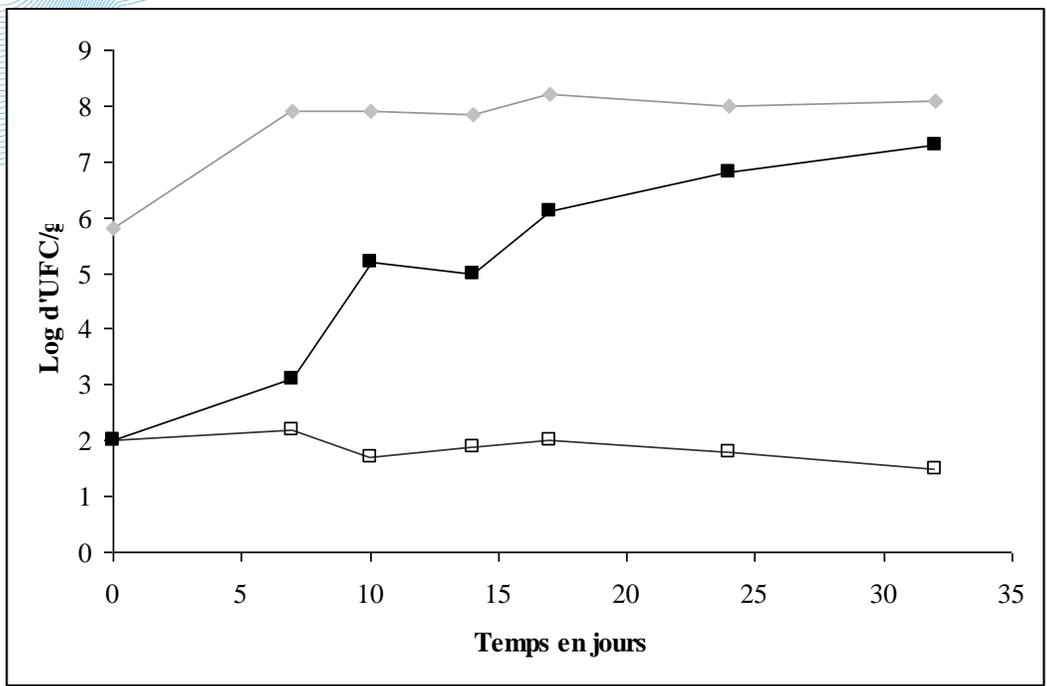


← Si ajout de *L. sakei* WT ou mutant Ab résistant

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE OU DE PROJETS DE RECHERCHE, ET LIMITES

✘ *Lactobacillus sakei* avec *Listeria* sur du produits cuits (paté, jambon, saucisses, volaille)



*L. sakei*  
*L. monocytogenes* seul

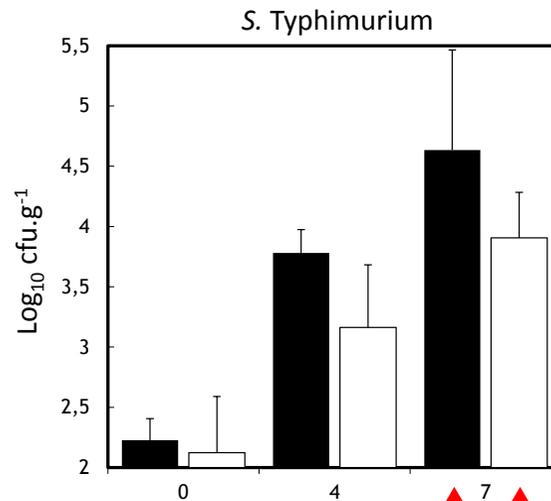
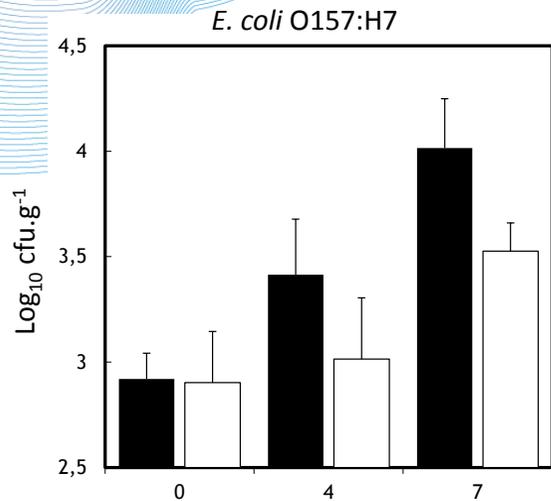
*L. monocytogenes* + *L. sakei*

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN



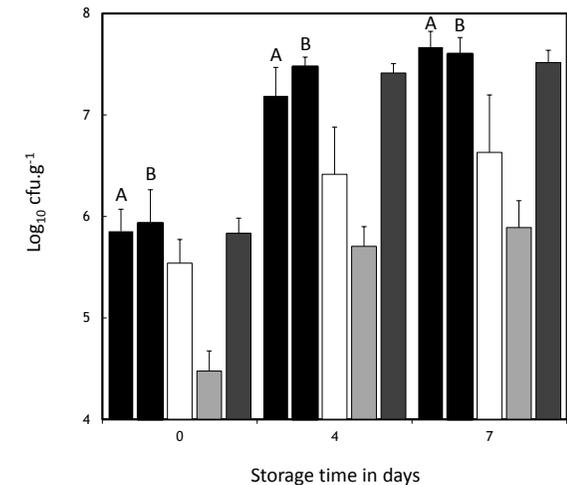
**EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE OU DE PROJETS DE RECHERCHE, ET LIMITES**

**✘ Ajout de cocktails de *L. sakei* avec *E. coli* ou *Salmonella* sur viande hachée de bœuf**



Storage time in days

↑ ↑  
Avec cocktail  
Sans cocktail



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE OU DE PROJETS DE RECHERCHE, ET LIMITES

✘ *Ajout de cocktails de L. sakei sur carpaccio de bœuf*



Témoïn T<sub>0</sub>



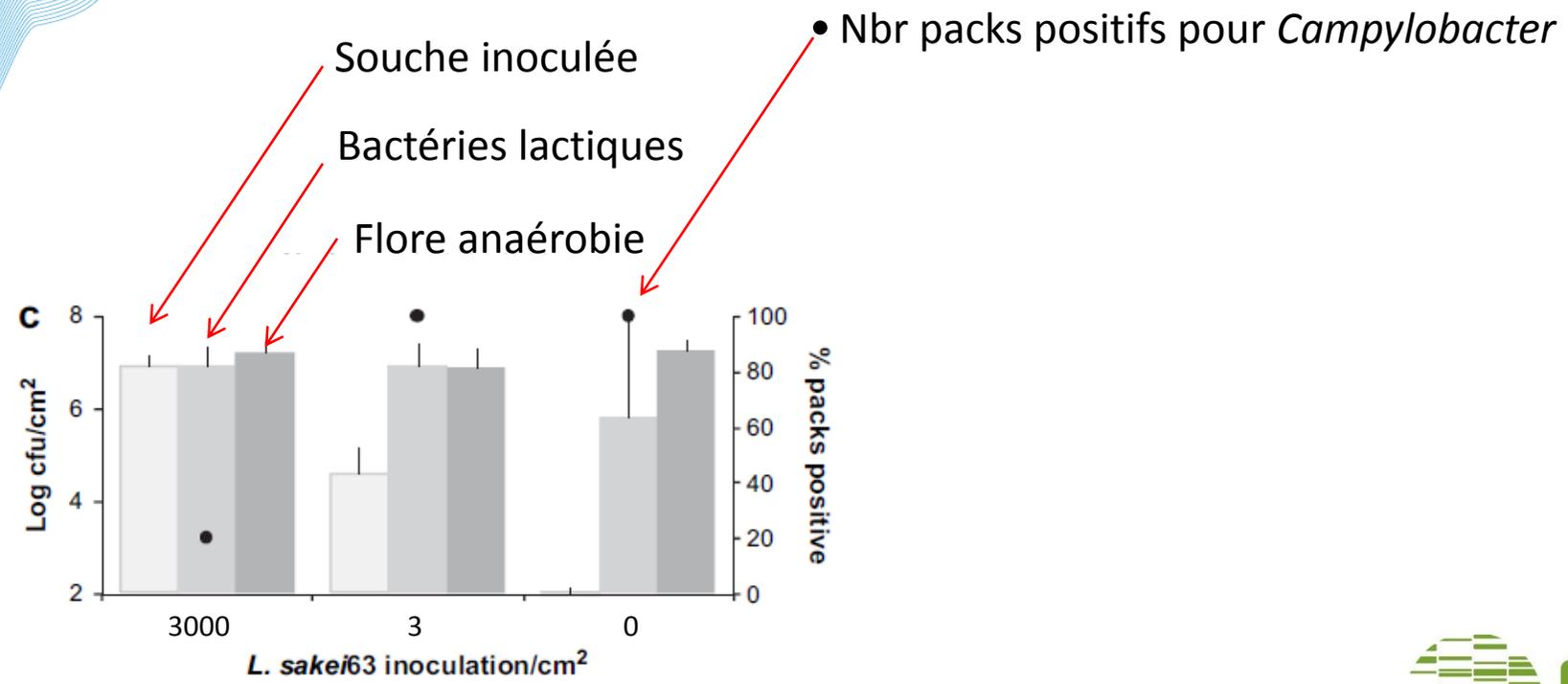
Altération naturelle T<sub>14</sub> Cocktail protecteur T<sub>14</sub>



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

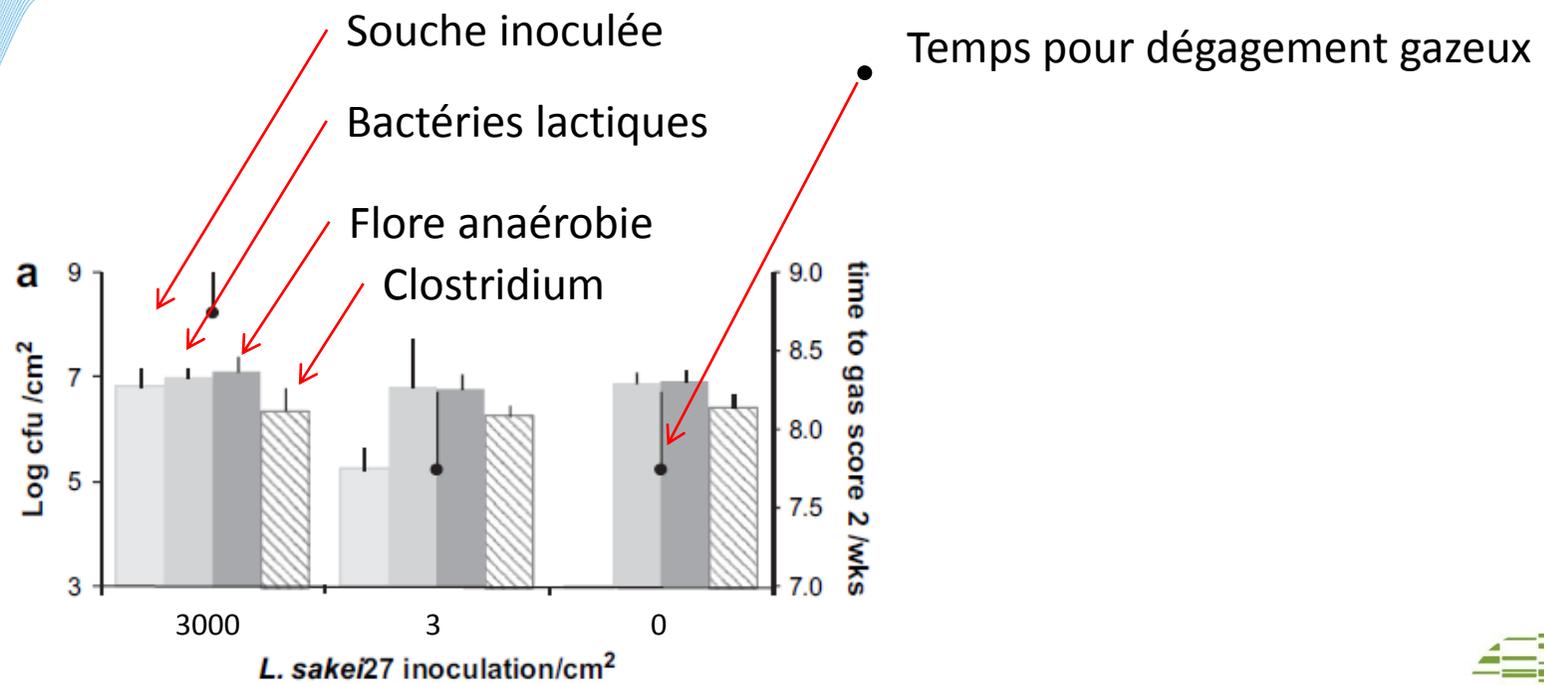
EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE OU DE PROJETS DE RECHERCHE, ET LIMITES

✘ Ajout de *L. sakei* avec *Campylobacter jejuni* sur viande de mouton



EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE OU DE PROJETS DE RECHERCHE, ET LIMITES

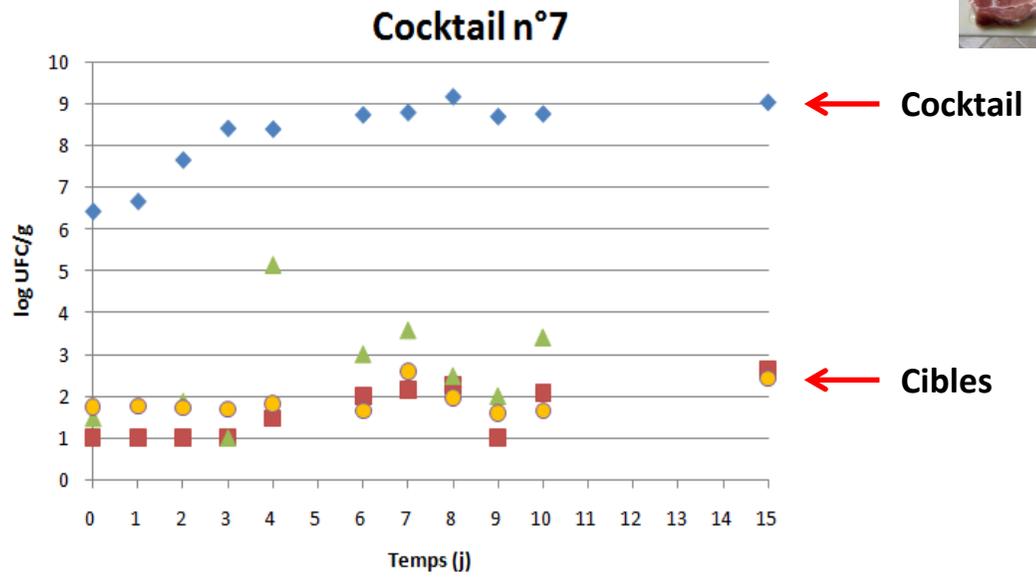
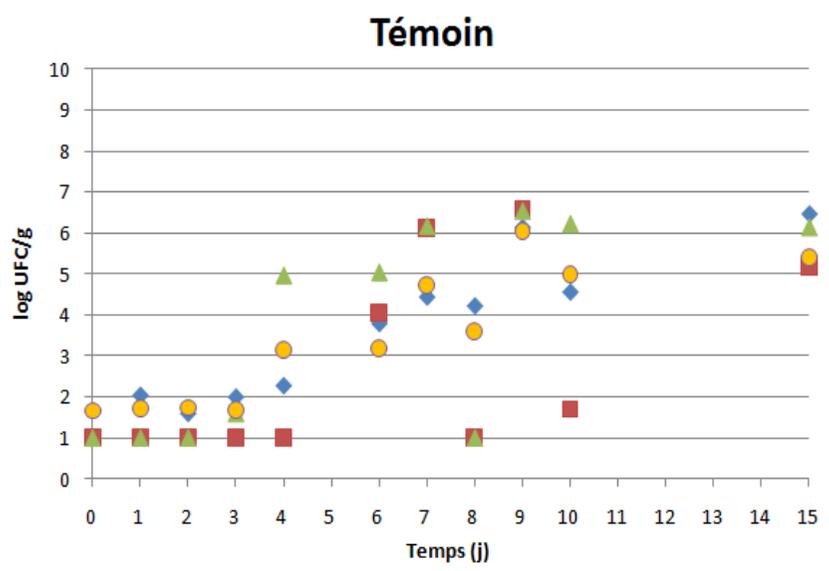
✘ Ajout de *L. sakei* avec *Clostridium estertheticum* sur viande de mouton



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE OU DE PROJETS DE RECHERCHE, ET LIMITES

✘ Ajout de cocktail (*C. maltaromaticum* / *L. delbrueckii* / *L. lactis*) avec *L. monocytogenes* sur viande de porc

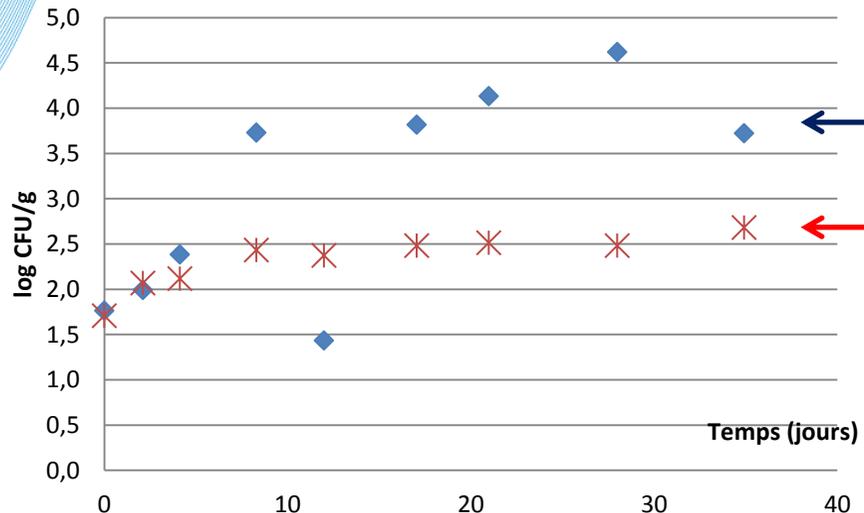


Bactéries lactiques (♦), entérobactéries (■), *B. thermosphacta* (▲), *L. monocytogenes* (●)

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE OU DE PROJETS DE RECHERCHE, ET LIMITES

### ✘ Ajout d'un ferment commercial avec *L. monocytogenes* sur jambon cuit



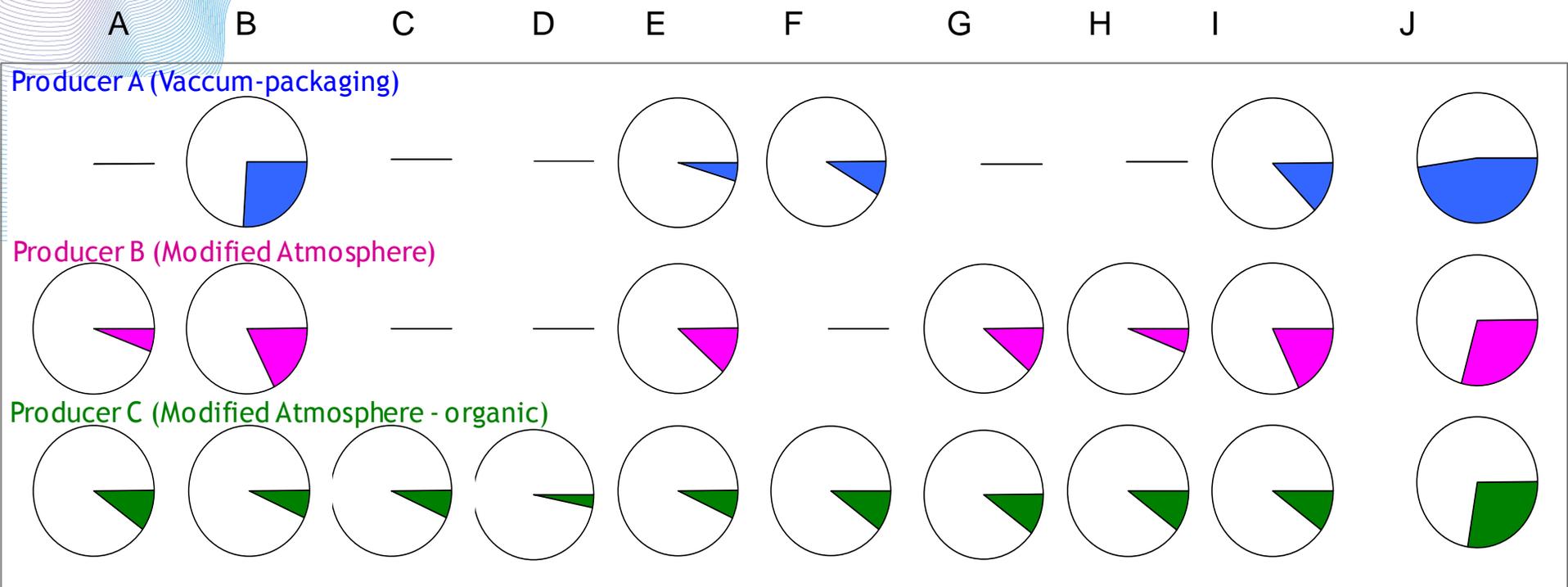
*L. monocytogenes* seul (◆) ou en présence de la culture protectrice (✱)

## CONCLUSIONS

- ✘ **De nombreux essais montrent que :**
  - **Bioprotection peut fonctionner**
  - **Différentes espèces candidates**
  - **Différentes cibles envisageables**
  - **MAIS**
- ✘ **Pas de solution universelle**
- ✘ **Nécessité de validation / standardisation des essais**
  - **Diversité des produits carnés, de leur flore, de leur procédé des production, de conservation, diversité entre lots**
  - **Flore endogène non négligeable**
  - **Inadéquation des méthodes culturelles**
  - **Mécanismes divers**

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

DIVERSITÉ D'UN PRODUIT / LOT A L'AUTRE. EXEMPLES



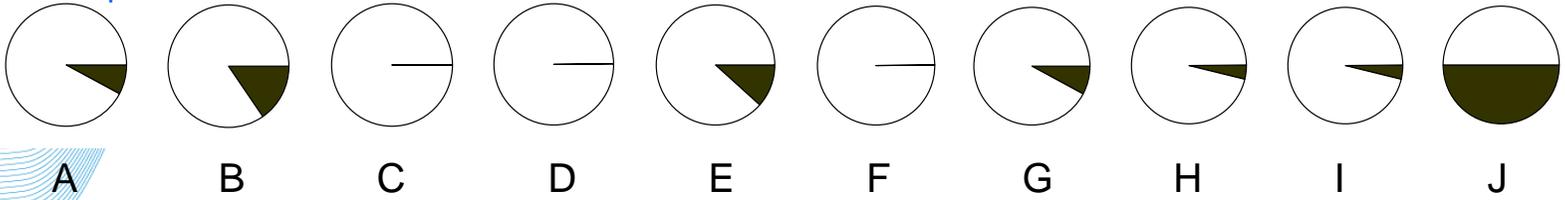
Carpaccio de bœuf : la diversité des souches de *L. sakei* hébergées **dépend du procédé**

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

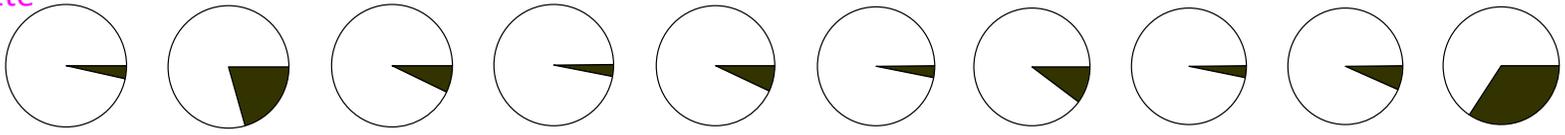
DIVERSITÉ D'UN PRODUIT / LOT A L'AUTRE. EXEMPLES



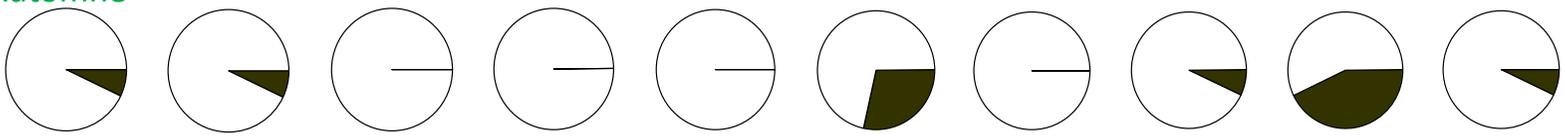
Printemps



Été



Automne



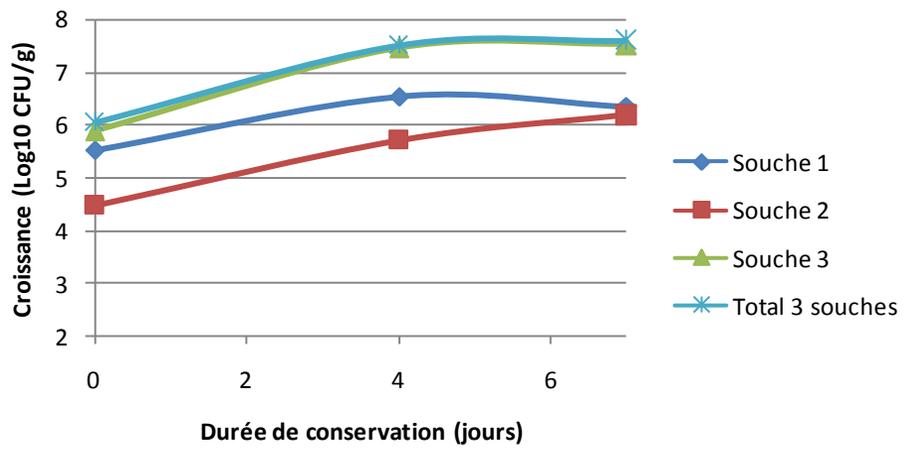
Carpaccio de bœuf : la diversité des souches de *L. sakei* hébergées **dépend des saisons**

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

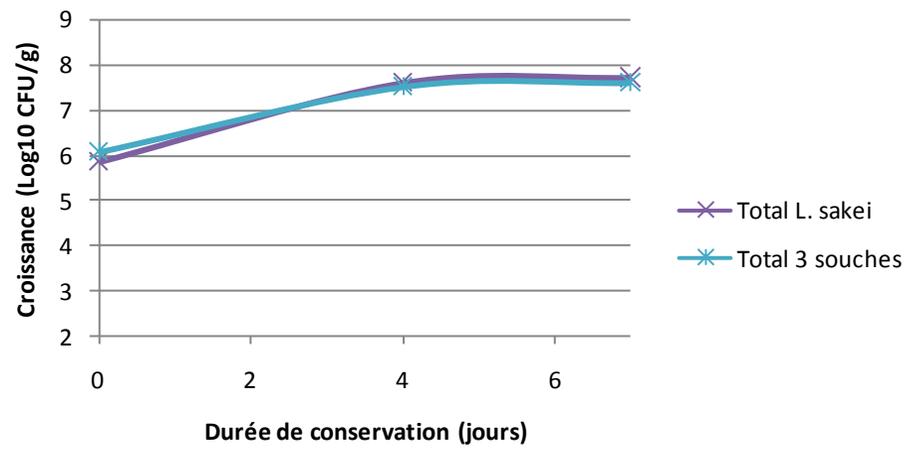
# INADÉQUATION DES MÉTHODES CULTURALES



qPCR des 3 souches de *L. sakei*



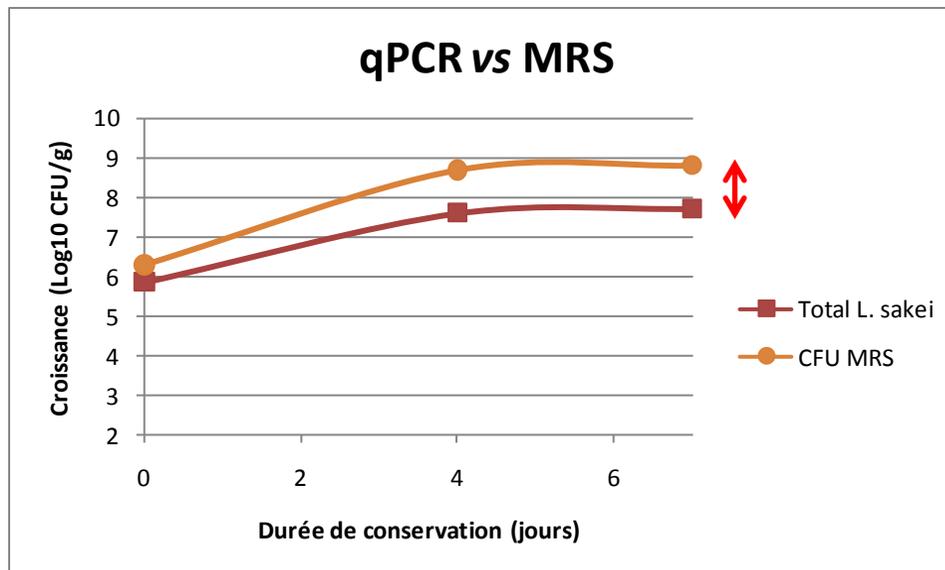
3 souches vs *L. sakei* total



Quantification de *L. sakei* par qPCR efficace pour souches, espèce

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

# INADÉQUATION DES MÉTHODES CULTURALES



Mais, la flore lactique des steaks hachés de bœuf : 1 log > *L. sakei*

## DIVERSITÉ DES MÉCANISMES

### ✘ Bactériocines

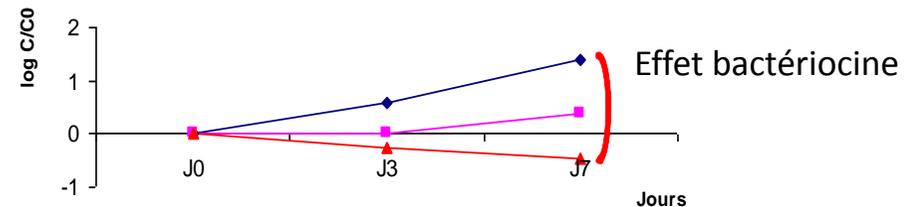
- *Le plus reproductible*
- *Mais certaines bactériocines non- actives dans la viande*
- *Mais spectre restreint*

### ✘ Production d'autres molécules

- *Acides*
- *H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*

### ✘ Compétition nutritionnelle

- *Souche dépendant*
- *Considérer la flore endogène*



Christieans et al, programme UE Truefood

**RMT**  
RÉSEAU MIXTE TECHNOLOGIQUE

# FLOREPRO

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

Journée d'information et d'échange sur l'utilisation des flores  
protectrices pour la conservation des aliments  
27 juin 2013

## Exemples d'application dans la filière produits de la mer

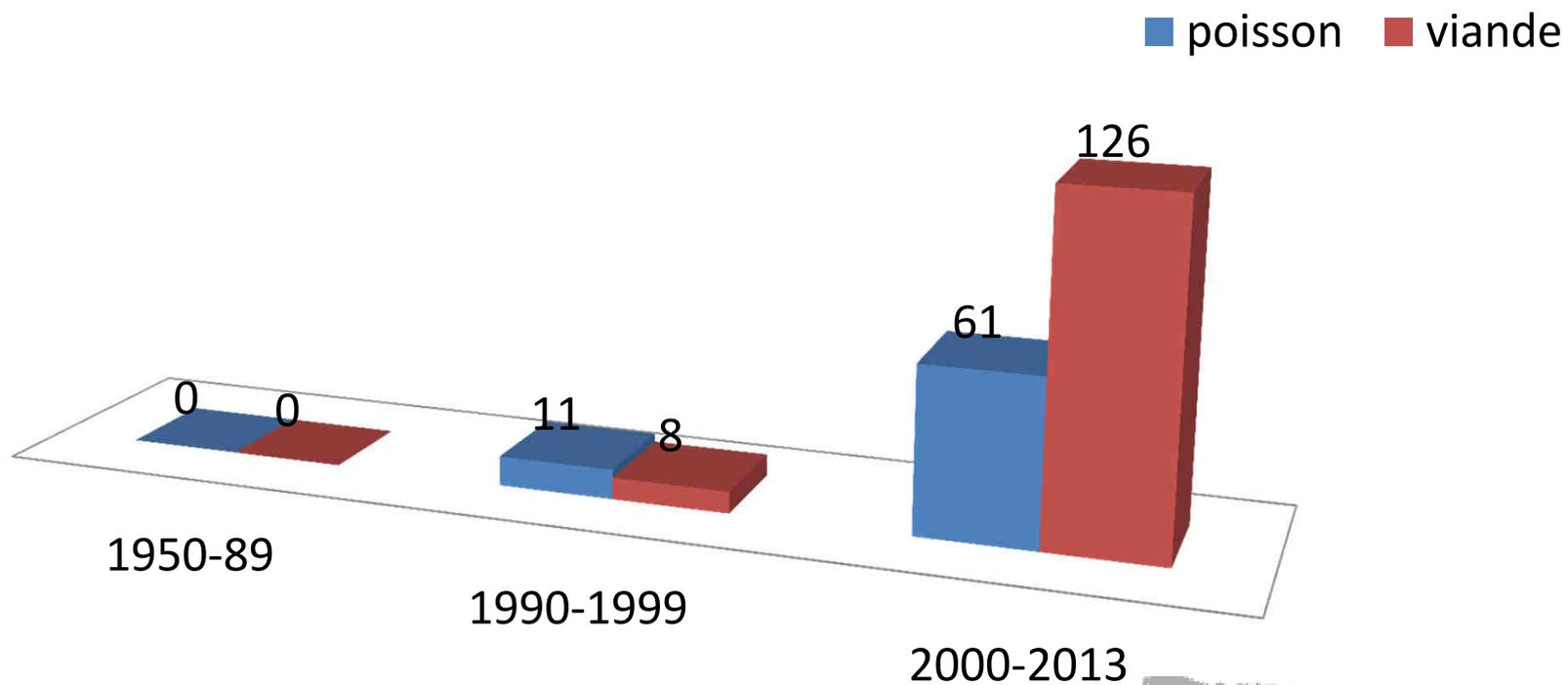
Françoise Leroi

Laboratoire de Science et Technologie de la Biomasse Marine  
Ifremer, Nantes

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## LA BIOPRÉSERVATION DES PRODUITS DE LA MER... UNE HISTOIRE RÉCENTE

Nombre d'articles scientifiques « biopréservation » (Web of Science)



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## LE POISSON, UN PRODUIT TRÈS FRAGILE



- Bactéries Gram – psychrotolérantes
- *Shewanella putrefaciens*
  - *Photobacterium phosphoreum*
  - *Pseudomonas...*

TMA, H<sub>2</sub>S

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## LES 1ERS TESTS DE BIOPRÉSERVATION

### ✗ Tests en milieux modèles

- Mauvaise implantation en poisson
- Mauvaise implantation à basse température
- Mauvaises odeurs



### ✗ Premiers travaux de biopréservation en 1990 (projet européen ENITIAA-IFREMER-Université de Loughborough)

- Sélection de LAB du poisson
- Pas concluant sur chair de poisson blanc
- Bons résultats sur saumon fumé



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## PEU DE BACTÉRIES LACTIQUES DANS LE POISSON... PAS SÛR !

### ✗ Produits légèrement préservés

- Sel < 6% (phase aqueuse)
- pH > 5
- Fumée < 10 ppm
- Conditionnement sous vide ou atm protectrice



### ✗ Bactéries lactiques dominantes

- *Lactobacillus*,
- *Lactococcus*
- *Vagococcus*,
- *Carnobacterium*
- *Leuconostoc*
- ...



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## RISQUES LIÉS AUX PRODUITS DE LA MER

### ✘ Bactéries altérantes

- produits frais (pavés de saumon, sardine, carrelet, bar, ...)
- produits légèrement préservés (saumon fumé, crevettes cuites décortiquées)

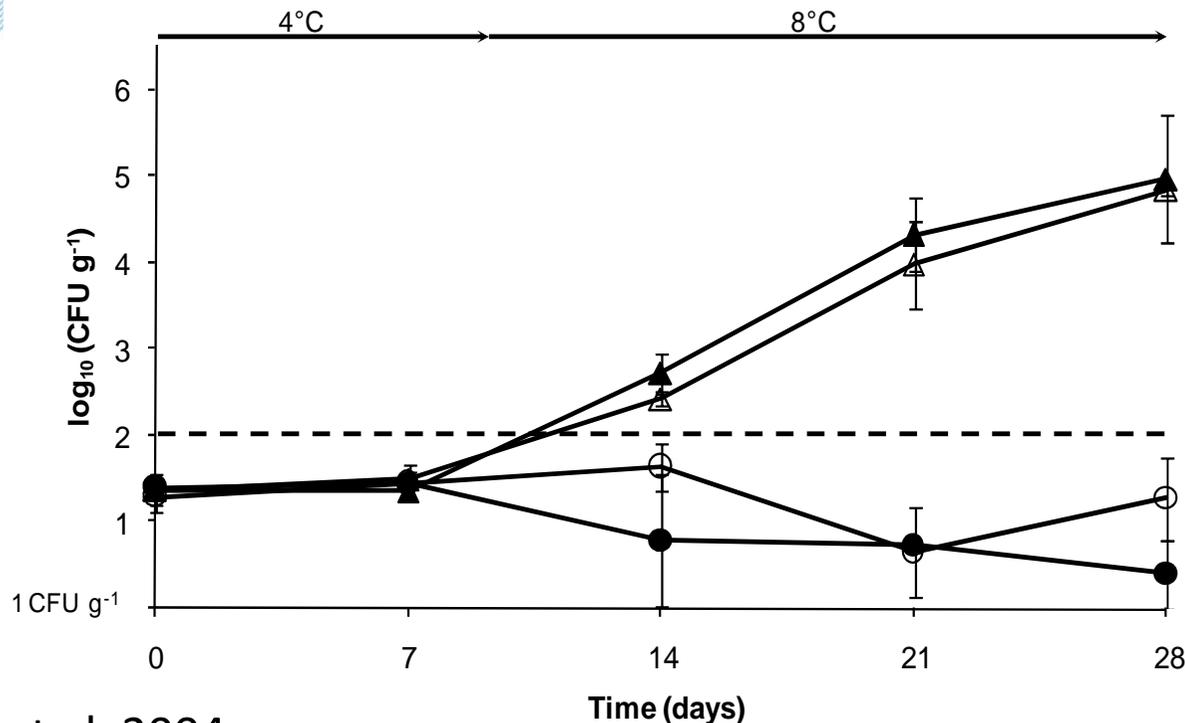
### ✘ Bactéries pathogènes

- *Listeria monocytogenes* (saumon fumé)
- Bactéries productrices d'histamine (thon, sauce de poisson)
- *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*...

## INHIBITION DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* (> 1995)

- ✗ saumon fumé : *Carnobacterium divergens*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Lactobacillus sakei*, *L. plantarum*, *L. casei*
- ✗ Crevette cuite décortiquée : *Lactococcus piscium*, *Leuconostoc gelidum*

Croissance de *L. monocytogenes* dans du saumon fumé sous vide



cocktail de *L. monocytogenes* très sensibles à *Carnobacterium divergens* V41

*Lm* très sensibles + *Cd* V41

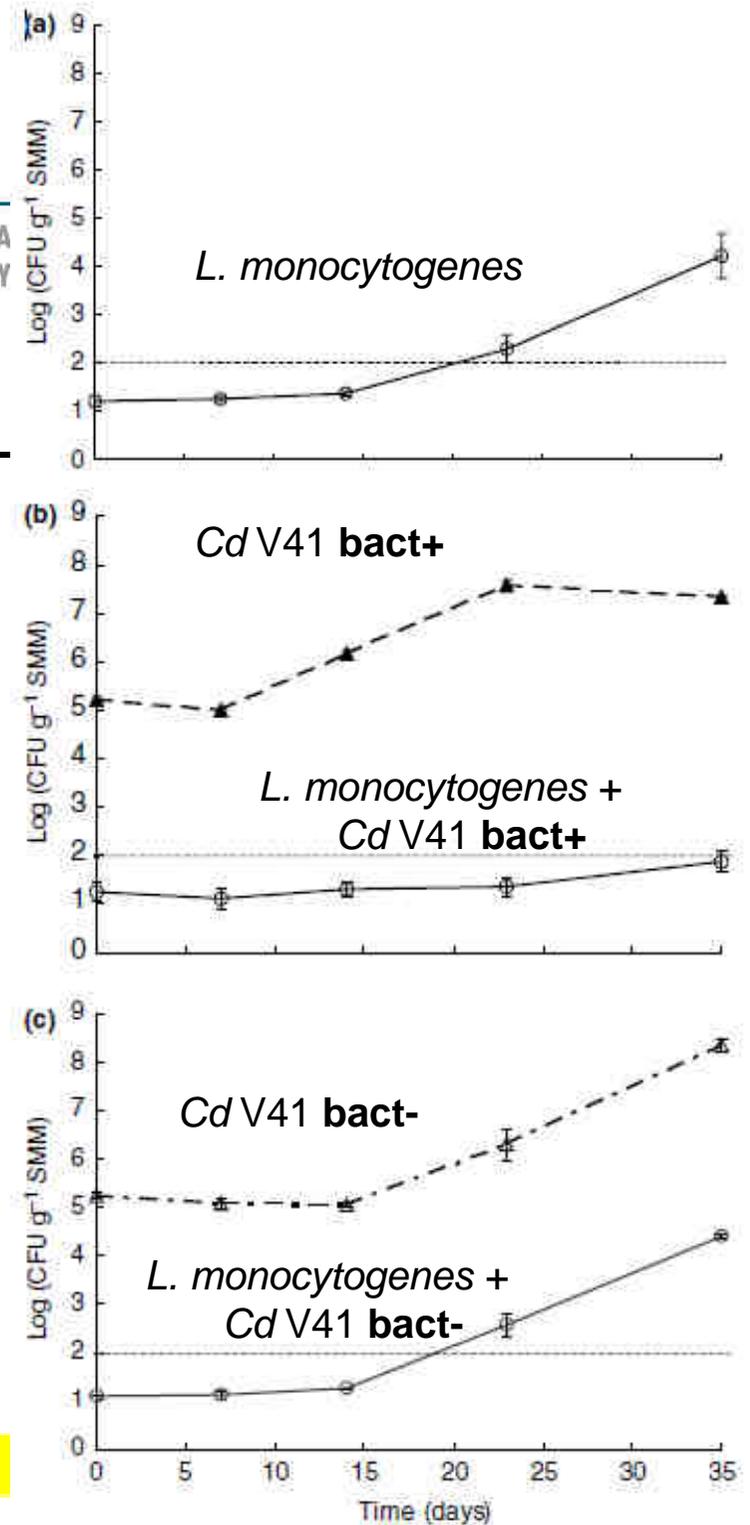
△ cocktail de *Lm* moins sensibles à *Cd* V41

*Lm* moins sensibles + *Cd* V41

## MECANISME D'ACTION

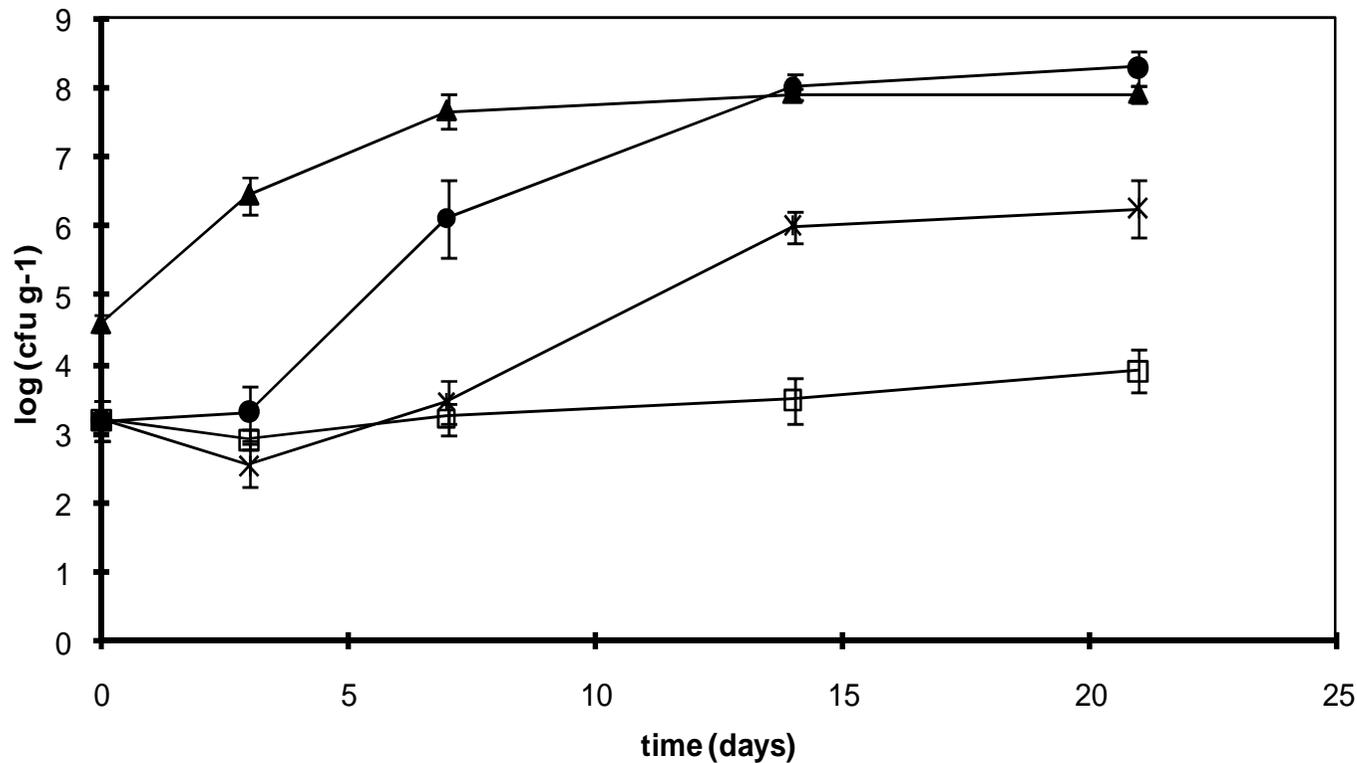
- ✗ Bactériocine
- ✗ Compétition pour le glucose
- ✗ acidification

Croissance de *L. monocytogenes* dans du saumon fumé sous vide en présence de *Carnobacterium divergens* V41 producteur de divercine ou du mutant non producteur



## BACTÉRIOCINE OU BACTÉRIE VIVANTE ?

Croissance de *L. monocytogenes* dans du saumon fumé conservé sous vide à 8°C



▲ *C. divergens* V41

● *L. monocytogenes*

X *Lm* + divercin V41 (128000 UA/g)

□ *L.m* + *C. divergens* V41

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## APPLICATIONS INDUSTRIELLES

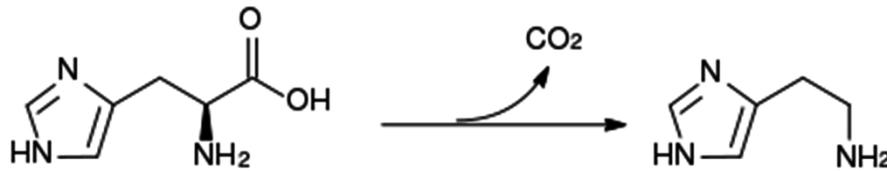
- ✗ *Carnobacterium divergens* et *C. maltaromaticum*
  - Forte inhibition de *L. monocytogenes*
  - Pas d'acidification, pas de production d'ABVT/TMA
  - Pas de modification sensorielle du saumon fumé
  - Pas de modification des écosystèmes microbiens
  - Elements de sécurité (antibiogramme, cytotoxicité histamine)
  - Aptitude à la production industrielle (fermenteur, lyophilisation)
  - Outil de traçabilité (PCR-multiplex)



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## PRODUCTION D'HISTAMINE

- ✗ HFP : 30-40% des infections liées au poisson
- ✗ Thon, maquereau, sardine, hareng, dorade coryphène

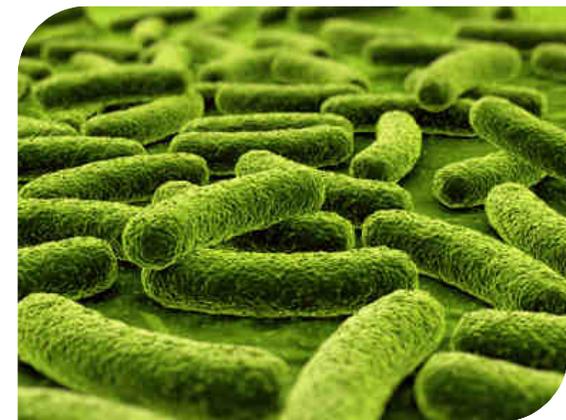


Histidine

Histamine thermostable



- ✗ Origine bactérienne  
*Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, *Photobacterium phosphoreum*, *Morganella psychrotolerans*
- ✗ Réglementation européenne <100 ppm



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## BIOPRESERVATION (> 2007)

- × Exemple d'application dans des produits naturellement contaminés
  - sauces fermentées: *Staphylococcus carnosus* (-28%) et *Bacillus amyloliquefasciens* (-15%)
  - saucisses de carpe fermentées: Mélange de *L. plantarum*, *S. xylosus*, *Pediococcus pentosaceus* et *L. casei* (-90%)
  - anchois salés: Archae : *Halobacterium salinarium* et *Haloarcula marismortui*
  - longes de thon sous vide: souche commerciale LLO (Biocéane)
- × Consommation de l'histamine préformée
  - *Staphylococcus xylosus* (- 38 % en milieu liquide, -16% en hareng fermenté)
- × Inhibition des bactéries productrices d'histamine ?

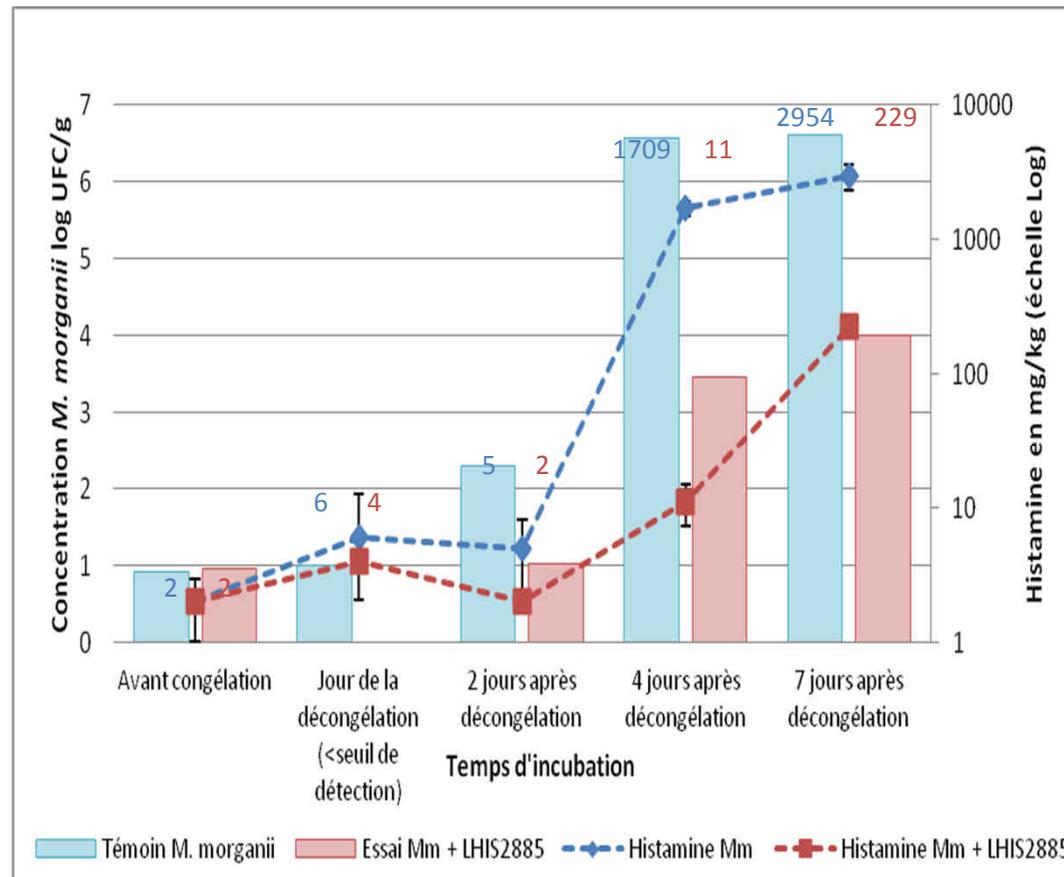
LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## SELECTION DE LAB ADAPTÉES AUX POISSONS RICHES EN HISTIDINE (THON)

Croissance de *M. morgani* et production d'histamine dans du thon cuit conservé sous vide à 15°C



*Lactobacillus sakei*



## QUALITÉ SENSORIELLE DES PRODUITS DE LA MER

### × Produits frais

- Pulpe de poisson : *L. mesenteroides* améliore qualité sensorielle
- chair hachée de bar : *L. plantarum* (bactériocine) et *L. pentosus* (acidification) ↘ flore totale et ABVT /TMA
- Sardines et crevettes : *Streptococcus phocae* et *Enterococcus faecium* ↘ flore totale et ABVT /TMA
- Pavés de saumon frais : *Leuconostoc gelidum* améliore qualité sensorielle (DLC + 2 j)

### × Produits légèrement préservés

- Saumon fumé (*Lactococcus piscium* DLC + 14 j)
- Crevette cuite décortiquée (*L. piscium*, ferment commercial LLO DLC + 14 j)

Paari et al. 2012

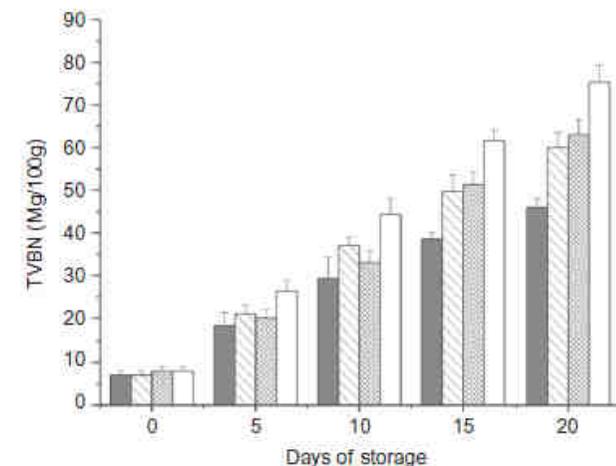
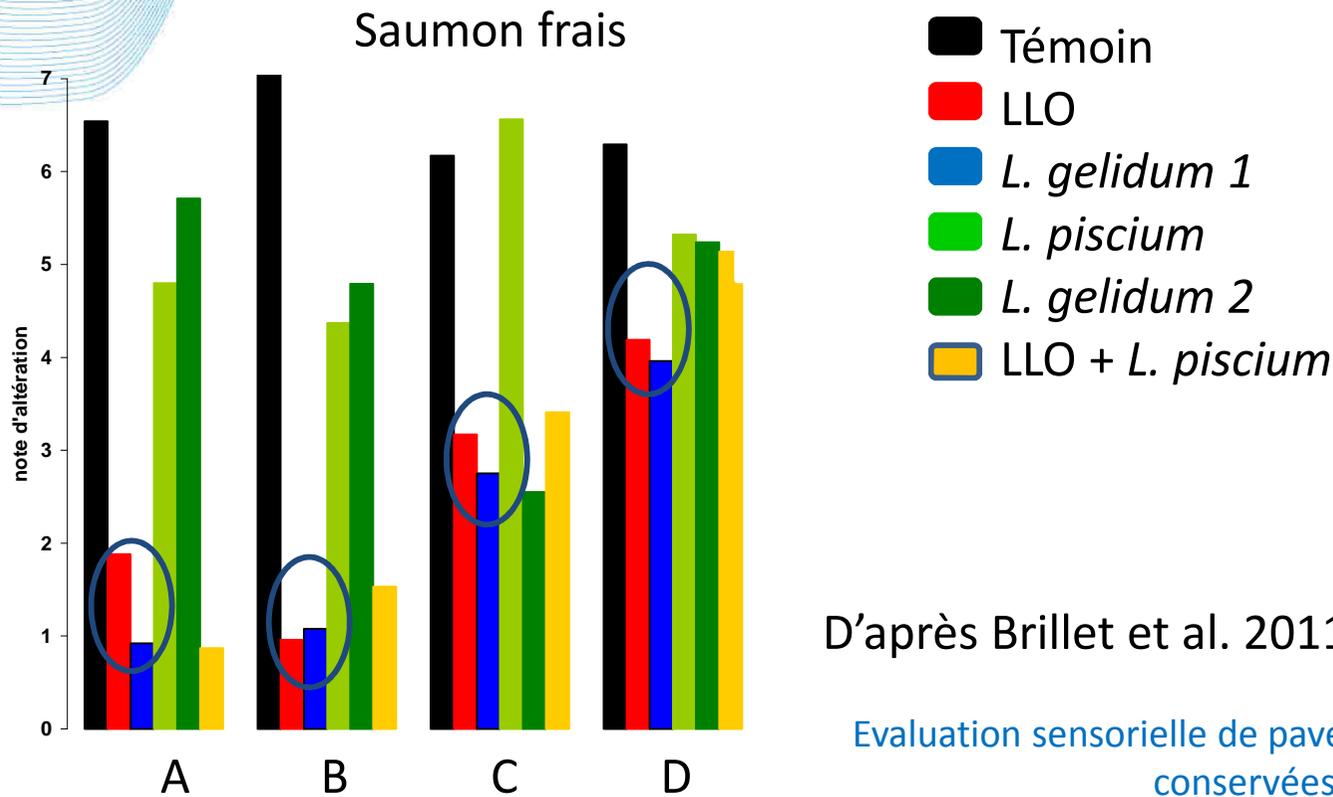


Figure 3: Estimation of total volatile base in control and in control and in treated *Penaeus monodon* and treated *Sardinella longiceps*. The values are expressed as mean ± SD.

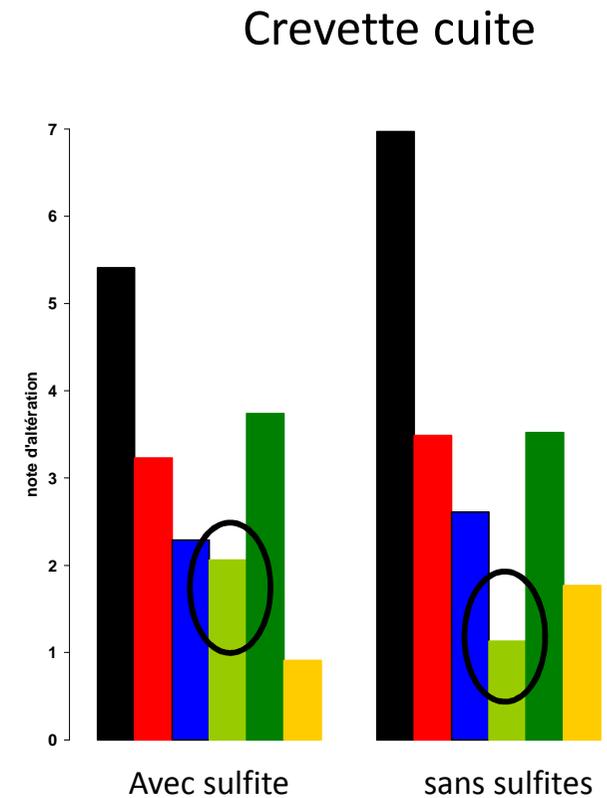
Concentration en ABVT dans des sardine éviscérées et des crevettes biopréservées avec *Enterococcus faecium*

TROIS MESSAGES

1. Biopréservation est espèce/souche dépendante
2. Biopréservation est produit dépendante
3. Biopréservation ne remplace pas l'hygiène



D'après Brillet et al. 2011

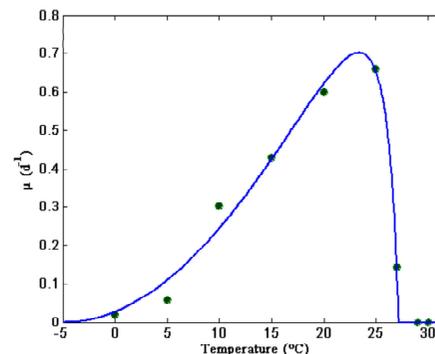


Evaluation sensorielle de pavés de saumon et crevettes cuites décortiquées  
conservées sous atmosphère modifiée

LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## ELEMENTS POUR UNE VALORISATION INDUSTRIELLE

- ✗ *Lactococcus piscium*, *Leuconostoc gelidum*
- ✗ 8 ans de travaux, 2 thèses, 1 projet européen, 3 projets nationaux
- ✗ Sécurité des souches (antibiogramme, cytotoxicité, amines biogènes)
- ✗ Production en fermenteur et résistance à la lyophilisation
- ✗ Effet sur l'écologie microbienne de produits naturellement contaminés
- ✗ Mécanisme d'action
- ✗ Modélisation des interactions



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

## CONCLUSION

- ✗ Biopréservation : applicable sur produits de la mer
- ✗ Qualité initiale du produit importante
- ✗ Technologie « tailor made » (produit/usine/souche)
- ✗ Technologie barrière (sel, fumée, température, emballage...)
- ✗ Synergie avec d'autres technologies (lumière pulsée, chitosan...)
- ✗ Compréhension du mécanisme d'action
- ✗ Mode d'application



LES FLORES PROTECTRICES POUR LA CONSERVATION DES ALIMENTS :  
UTILISATION, EFFICACITÉ ET INTERACTIONS DANS L'ÉCOSYSTÈME MICROBIEN

**Merci de votre attention**

Nantes, pôle actif pour la biopréservation des produits marins