

CAUSERIE FROMAGÈRE

CEFRQ

9 mai 2023

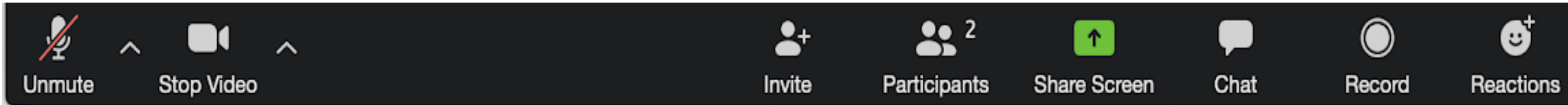
De 14h00-15h30

**Application des bactéries lactiques dans les
aliments : cultures protectrices et
probiotiques**

**Conférencière : Émilie Desfossés-Foucalt
Gestionnaire science et technologie, Biena**



CONSIGNES



Fermer votre micro en cours de diffusion
Votre caméra peut demeurer ouverte



Clavarder ICI



Lever la main ICI

Présentation...

Biena inc :

- Basée à **St-Hyacinthe** depuis 27 ans (65 employés)
- Fabrication et distribution de **ferments lactiques** et de **cultures probiotiques** jusqu'aux **produits finis**
 - Amérique, Europe et Asie
- Laboratoire R&D de 8 employés
 - 1 Ph.D., 2 maîtrises, 4 bacc. et une technicienne
 - Service technique (clients laitiers)



- Bacc en immunologie et microbiologie (UdeM)
- Maîtrise et doctorat en STA (ULAVAL) sur l'**affinage du fromage** Cheddar
- (Presque) **10 ans** chez Biena



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

En bref...

- **Partie I : Les aliments fermentés**
 - Les micro-organismes impliqués
 - La valeur ajoutée et les bienfaits sur la santé
- **Partie II : Les probiotiques**
 - Le microbiome intestinal et les probiotiques
 - La technologie des probiotiques dans les aliments
- **Partie III : Les cultures protectrices**
 - Les mécanismes d'action
 - Les études de cas



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

En bref...

- **Partie I : Les aliments fermentés**
 - Les micro-organismes impliqués
 - La valeur ajoutée et les bienfaits sur la santé



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

La fermentation

Plus ancienne méthode
de conservation des
aliments!

Certifié
biologique!

Définition :

Conversion des différentes composantes d'un aliment ou boisson par des microorganismes bénéfiques

- Déjà présents
- Ajoutés involontairement
- Ajoutés volontairement



« Insérer plug
commerciale ici »

Bactéries



Levures



Moisissures

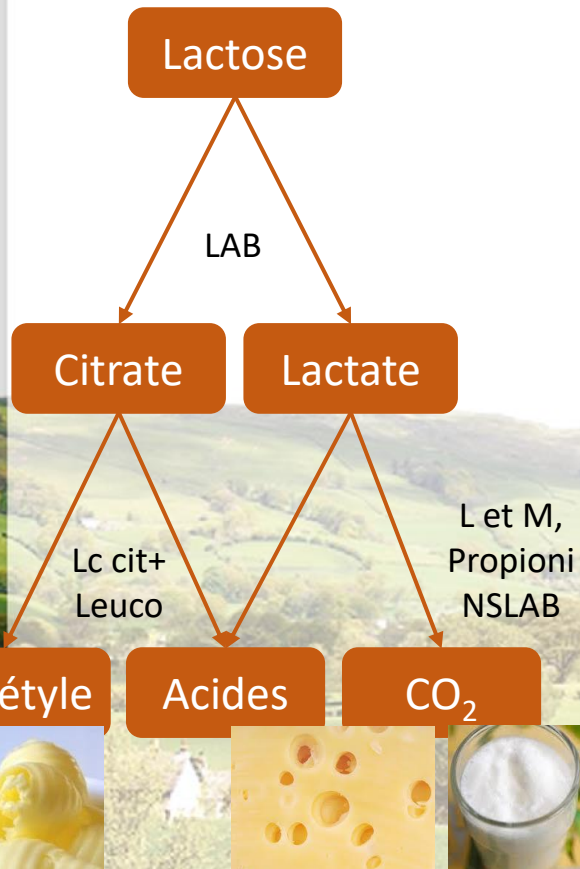


Biena

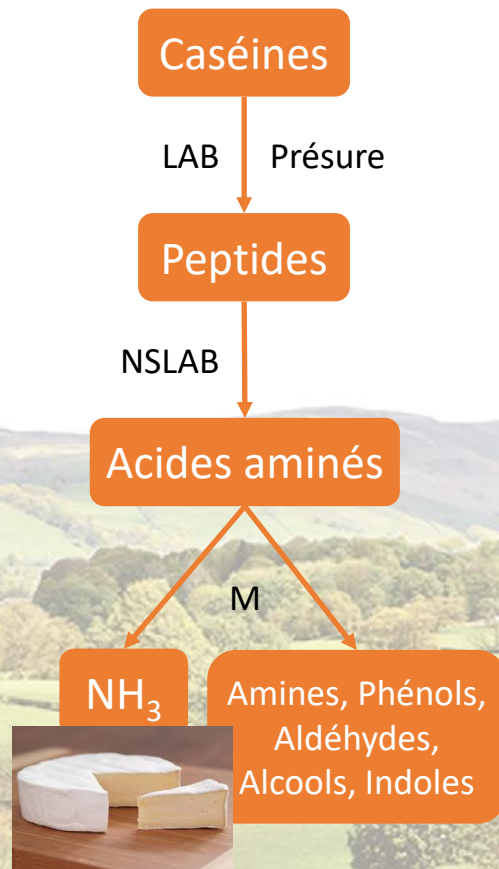
POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
Laitières

La fermentation du lait

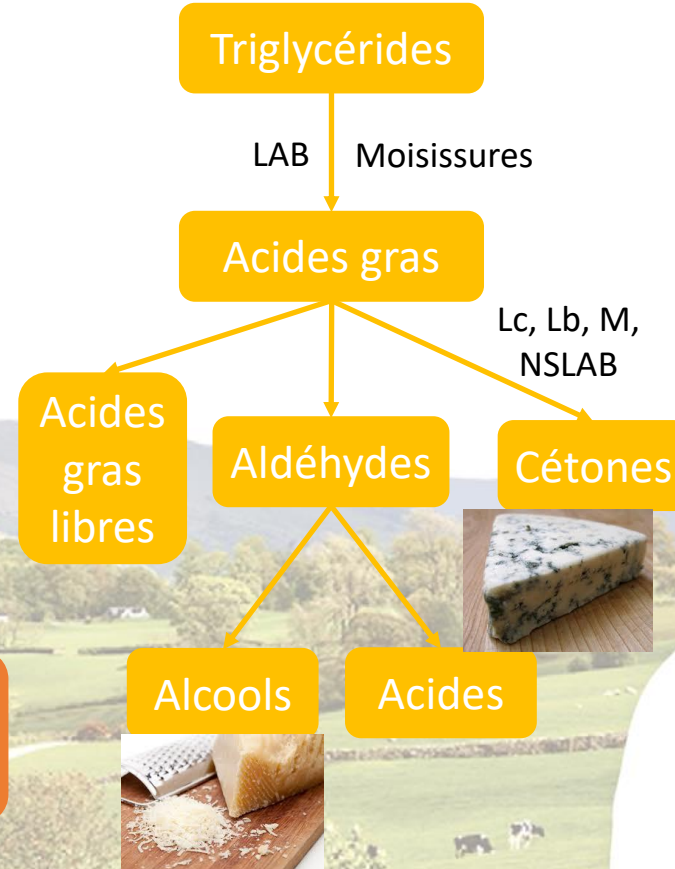
Dégradation des glucides



Dégradation des protéines



Dégradation des lipides



Biena

POUR TOUS VOS BESOINS EN CULTURES

laitières

Le kéfir, en bref...

- Originaire du Caucase
- Boisson fermentée la plus populaire en Europe de l'Est et dans les pays scandinaves
- Fermentation par des **bactéries lactiques** et des **levures** : production d'acide lactique, d'éthanol et de CO₂
 - Le Champagne des produits laitiers!
- Historiquement produit par des **grains de kéfir** :
 - Écosystème complexe de bactéries et de levures retenues ensemble par le **kefiran**
 - Polysaccharide : glucose + galactose



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

Laitières

Le kéfir : les micro-organismes

- L'écosystème varie énormément selon les conditions
 - Kéfir traditionnel : très instable... max 3-10 jours!

Bactéries (88%)

Lactobacillus (80%) (*L. acidophilus*, *L. kefir*, *L. kefirgranum*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. helveticus*, *L. casei*, *L. parakefir*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, etc.)
Lactococcus (8%) (*L. lactis* ssp. *lactis*, *L. lactis* ssp. *cremoris*, *L. lactis* ssp. *lactis biovar diacetylactis*)
Leuconostoc spp.
Streptococcus thermophilus

Levures (12%)

Kluyveromyces marxianus, *Kluyveromyces lactis*, *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces kefir*, *Saccharomyces unisporus*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Torulaspota delbrus*, *Torulaspota delbrueckii*, *Debaryomyces hansenii*, *Pichia fermentans*, *Kazachstania unispora*, *Kazachstania exigua*, etc.

- Ferments industriels : ne peuvent pas reproduire tout l'écosystème (≈12 espèces)...
 - Beaucoup plus stable (durée de vie de 28 jours)
 - Reproductible!
 - Choix des bactéries : **acidification** et **potentiel probiotique**...



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

Laitières

Le fromage : les micro-organismes



Ferments mésophiles

Lactocoques
Leuconostoc



Ferments thermophiles

Streptocoques
Lactobacilles
homofermentaires



Ferments d'appoint / d'affinage

Propioniques,
Brevibacterium, levures,
moisissures...

Lactocoques

Production de lactate (<35°C)
Consommation des sucres (Gal+)

Streptocoques

Production de lactate (>35°C)
Consommation des sucres (Gal-)

L. helveticus

Protéolyse
Consommation des sucres (Gal+)

Propionibacterium

Fermentation du L-lactate
Production d'acides aromatiques
Production de CO₂

*C'est la séquence qui
fait le fromage!*



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

Laitières

Bienfaits des produits laitiers fermentés

- Hausse de la **valeur nutritionnelle**
 - Haute teneur en protéines (yogourt grec et fromages)
 - Production de certaines vitamines par les bactéries lactiques
- Augmentation du **temps de conservation** du lait par la diminution des bactéries indésirables
 - Acides organiques : baisse de pH
 - Sel : choc osmotique
 - Bactériocines : peptides produits par certaines bactéries lactiques
- Protéolyse et lipolyse du lait
 - Développement de **nouvelles saveurs et textures**
 - Acides aminés / acides gras aromatiques
 - Relâche de peptides et d'acides gras pouvant avoir des **bienfaits sur la santé**
 - Potentiel anti-hypertenseur, athéro-protecteur, etc...

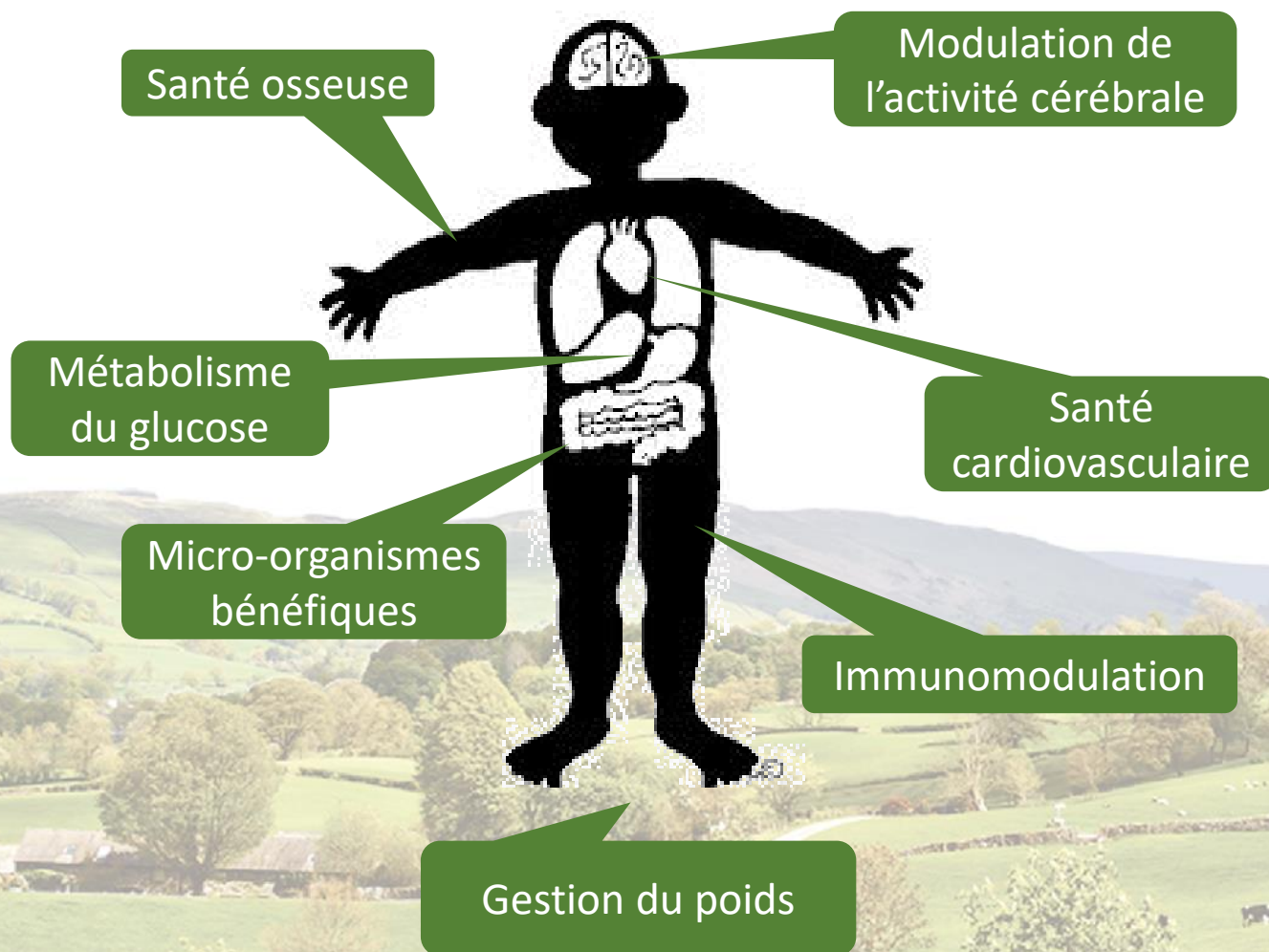


Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Bienfaits des produits laitiers fermentés



POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
laitières

Bienfaits des produits laitiers fermentés

Micro-organismes bénéfiques

- La consommation de produits fermentés augmente le nombre de micro-organismes bénéfiques dans l'organisme
 - Ajout de bactéries à **potentiel probiotique** (LAB, Bifido, etc.)
- Potentiel **augmenté** par la matrice laitière!

Produit fermenté Vs supplément?

 - *L. casei* BL23 protège contre le développement de la **colite ulcéreuse** s'il est administré dans du lait (Marco *et al.*, 2015)...
 - Production de **protéines anti-inflammatoires** par *L. casei* en présence de lait (Tachon *et al.*, 2015)
 - Diminution de la **tension artérielle** *via* des **peptides bioactifs** produits par la protéolyse du lait par des **bactéries lactiques**

Table 3. Commercial antihypertensive fermented milks¹

Brand name	Manufacturer	Description of product	Peptide sequence
Ameal S	Calpis Co. (Tokyo, Japan)	Fermented skim milk by <i>Lactobacillus helveticus</i> and <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , contains angiotensin converting enzyme inhibitory tripeptides	Val-Pro-Pro Ile-Pro-Pro
Calpis	Calpis Co.	Fermented milk by <i>Lb. helveticus</i> and <i>Sac. cerevisiae</i> , contains angiotensin converting enzyme inhibitory tripeptides	Val-Pro-Pro Ile-Pro-Pro ND ²
Danaten ²	Danone (Paris, France)	Fermented milk by <i>Lb. helveticus</i> DN-119 905, contains angiotensin converting enzyme inhibitory tripeptides	
Evolus ²	Valio (Helsinki, Finland)	Fermented skim milk by <i>Lactobacillus helveticus</i> LBK-16H contains angiotensin converting enzyme inhibitory tripeptides	Val-Pro-Pro Ile-Pro-Pro

Source : Beltran-Barrientos *et al.*, 2013



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

La fermentation des produits végétaux

Effet de la fermentation sur l'activité
biologique des aliments à base de
plante

Relâche de **métabolites secondaires**, de peptides, de pigments, d'enzymes et de facteurs de croissance

Amélioration des propriétés pharmacologiques pour promouvoir les **effets santé** et prévenir des maladies

Augmentation de la **concentration** de composés bioactifs comme les **anti-oxydants**

Augmentation de la **biodisponibilité** et de l'adsorption des composés en modifiant leur structure



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

La fermentation des produits végétaux



Propriétés bioactives des produits végétaux fermentés

L. plantarum
ou moisissures

Vs *Clostridiales*,
Bacteroides et
Enterococcus du
microbiote

Anti-
oxydant

Anti-
inflammatoire

Autres activités:
- Cytotoxicité
- Anti-hyperlipidémie
- Hépatoprotection
- Anti-hypertension

Anti-
microbien

Anti-
diabète

Composés
phénoliques

Inhibition de
cytokines pro-
inflammatoires

Augmentation des
Lactobacilles et de
Bifidobacterium du
microbiote



POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
Laitières

Aliments fermentés : conclusion

- Grande variété de produits... pour tous les goûts!
- Haute **valeur nutritive**
- Nombreux **bienfaits pour la santé** osseuse, cardiovasculaire, intestinale... entre autres!
- Façon nutritive et gustative de consommer des **bactéries bénéfiques**

**Produits laitiers et végétaux
fermentés = aliments fonctionnels!**



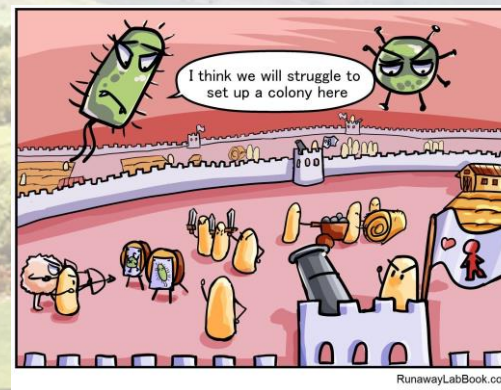
Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

En bref...

- **Partie II : Les probiotiques**
 - Le microbiome intestinal et les probiotiques
 - La technologie des probiotiques dans les aliments



Biena

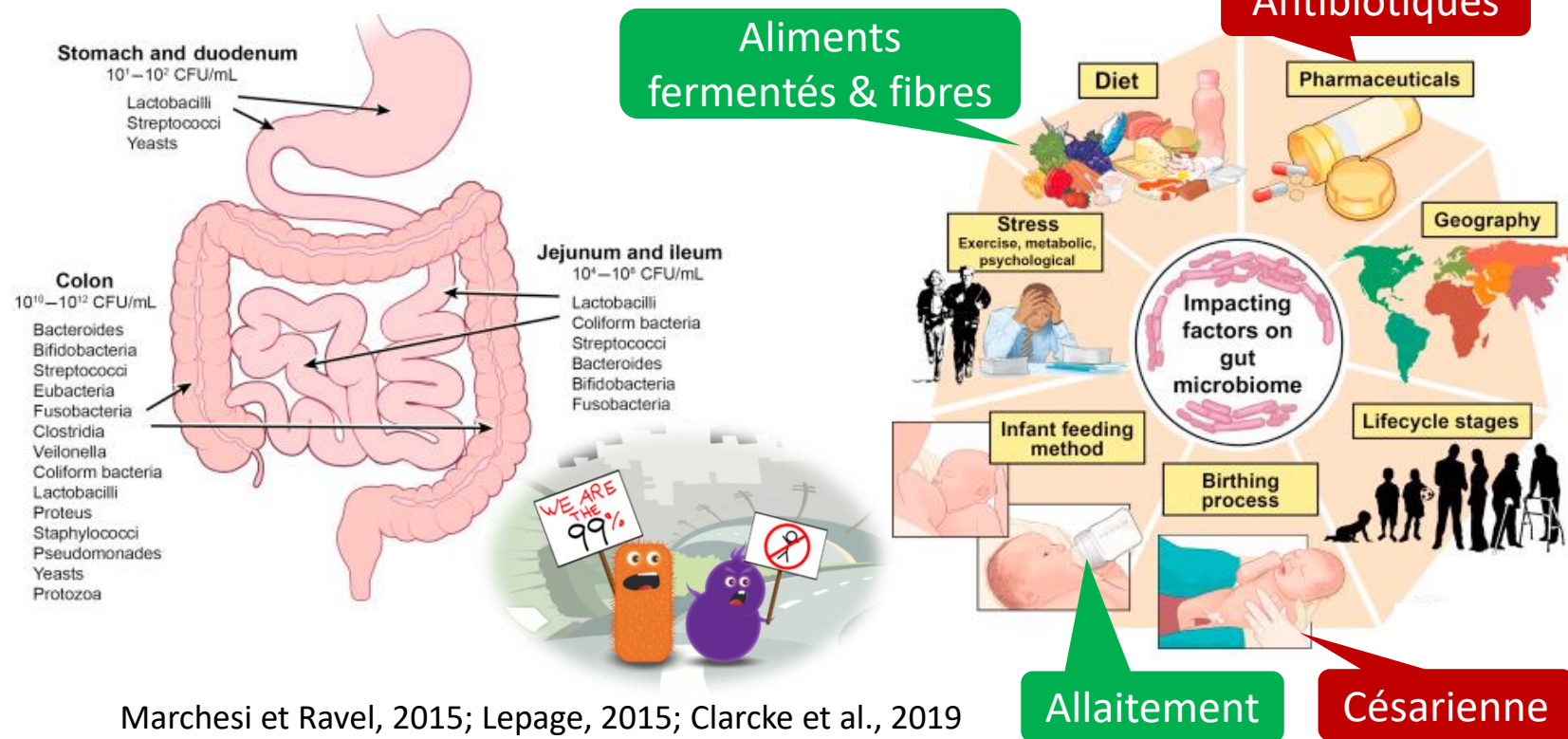
POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Le microbiome intestinal

Définition :

Ensemble des microorganismes (100 000 milliards de bactéries, levures, moisissures, virus) répartis le long du tractus gastro-intestinal et dont la composition globale est variable selon les individus



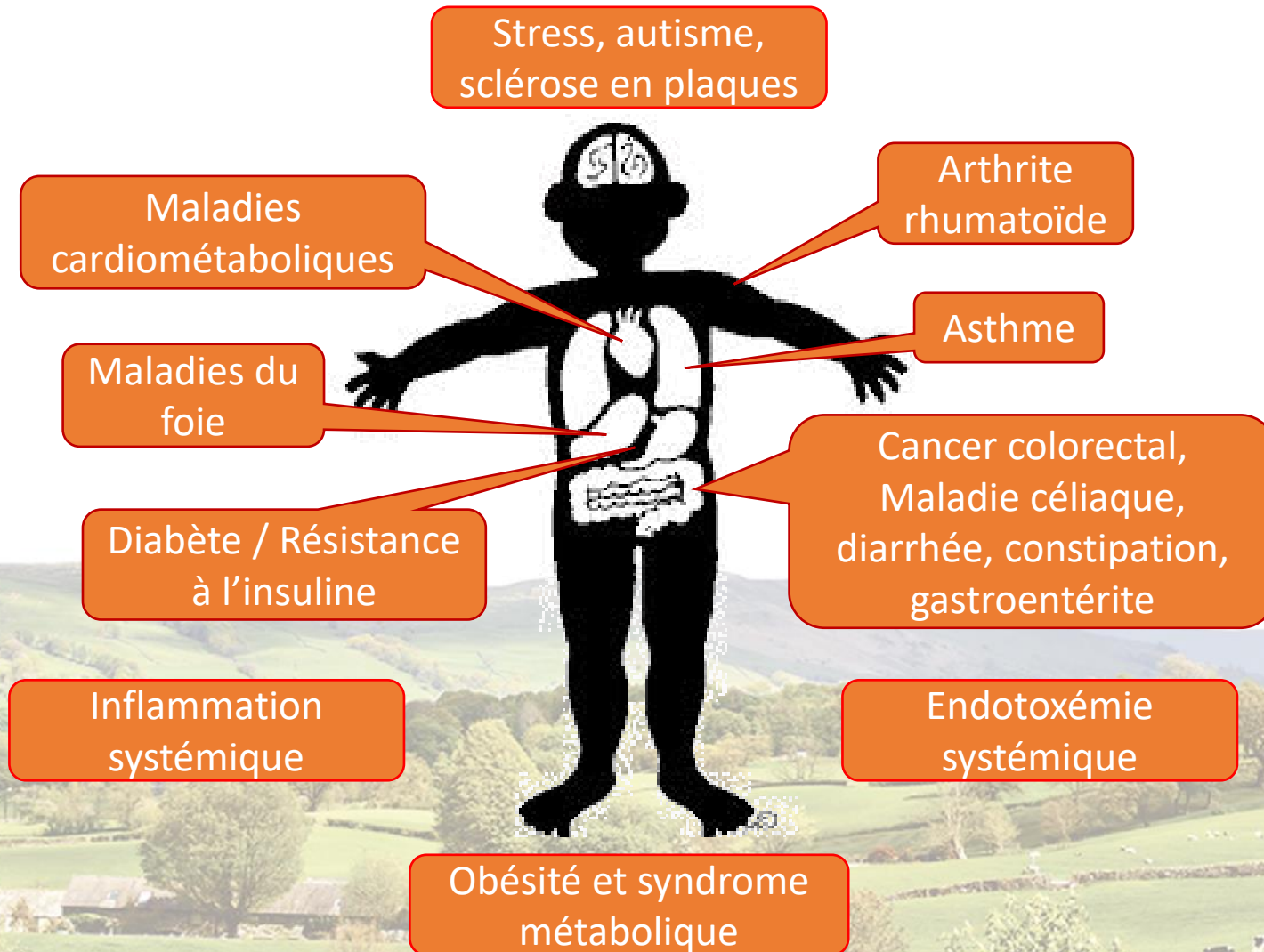
Marchesi et Ravel, 2015; Lepage, 2015; Clarcke et al., 2019



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
laitières

Répercussions d'un microbiome altéré



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Directives nutritionnelles du CINM (2016)

Comment favoriser la diversité du microbiome:

- Construire les repas autour des aliments à base de **plantes** : légumes, fruits, grains entiers et légumineuses
- Viser à consommer au moins 50 à 55 grammes de **fibres** par jour
- Inclure au moins 5 à 8 grammes de **prébiotiques** à base de plantes par jour
- Ajouter à l'alimentation des **aliments fermentés** ou **probiotiques**
- Éviter la **viande rouge**, les produits laitiers riches en **matières grasses**, les **aliments frits** et les **additifs alimentaires**
- Limiter la consommation de **matières grasses**, surtout si vous avez ou êtes à risque de diabète de type 2
- Utiliser des **antibiotiques** uniquement lorsque **nécessaire** et ne pas les utiliser pour des maladies virales



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

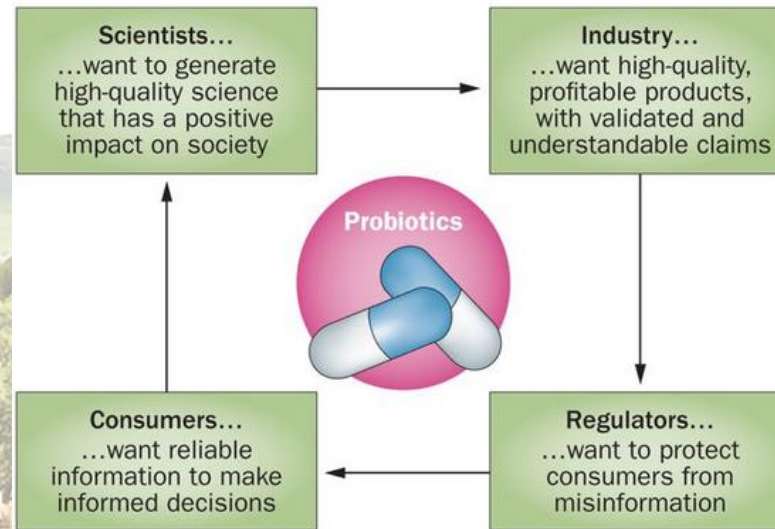
Les probiotiques

Définition:

- Microorganismes **vivants** qui, lorsqu'administrés en **quantité suffisante**, confère un **bienfait santé** à l'hôte
- Même s'ils proviennent du microbiote ou d'un aliment fermenté, ils doivent être caractérisés et **leur effet santé doit être démontré!**

Canada

- Lactobacilles
- Bifidobactéries
- *Saccharomyces cerevisiae*
- Lactocoques
- Streptocoques
- *Propionibacterium*
- Entérocoques
- *E. coli*
- *Bacillus sp.*
- Autres...



Biena

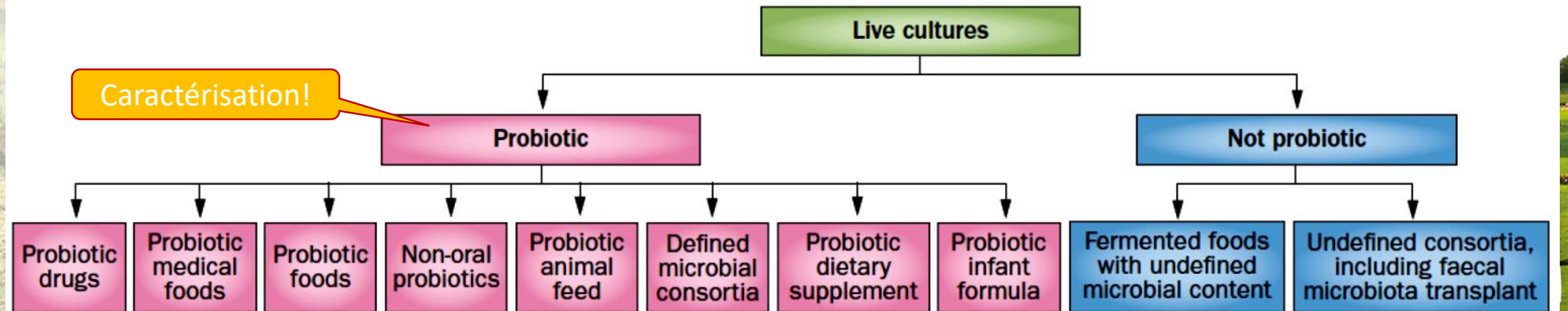
POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
Laitières

Aliments fermentés = probiotiques?



Table 1 | Categories of live microorganisms for human use as defined by the expert panel

Description	Claim	Criteria*	Minimum level of evidence required to make claim	Comments
<i>Not probiotic</i>				
Live or active cultures	"Contains live and active cultures"	Any food fermentation microbe(s) Proof of viability at a minimum level reflective of typical levels seen in fermented foods, suggested to be 1×10^9 CFU per serving ⁷³	No product-specific efficacy studies needed	The terms 'live' or 'active' do not imply probiotic activity Fermented foods containing live cultures might also qualify as a 'probiotic' if they meet the criteria for that category (e.g. evidence that yogurt can improve lactose digestion in lactose maldigesters would qualify it as a 'probiotic' ^{74,75})



Nomenclature des probiotiques

Groupe	Bactéries lactiques / Actinobactéries Cultures d'intérêt probiotique
Genre	<i>Lactobacillus</i> : interaction avec la muqueuse intestinale <i>Bifidobacterium</i> : adapté aux conditions retrouvées dans le côlon
Espèce	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. plantarum</i> ... <i>B. animalis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i> ...
Sous-espèce	<i>B. animalis ssp. lactis</i>
Souche	<i>B. animalis ssp. lactis</i> A026

Révision
taxonomique en
vigueur

Comparative Genomics of the Genus *Lactobacillus* Reveals Robust Phylogroups That Provide the Basis for Reclassification

Elisa Salvetti,^{a,b*} Hugh M. B. Harris,^{a,b} Giovanna E. Felis,^c Paul W. O'Toole^{a,b}



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

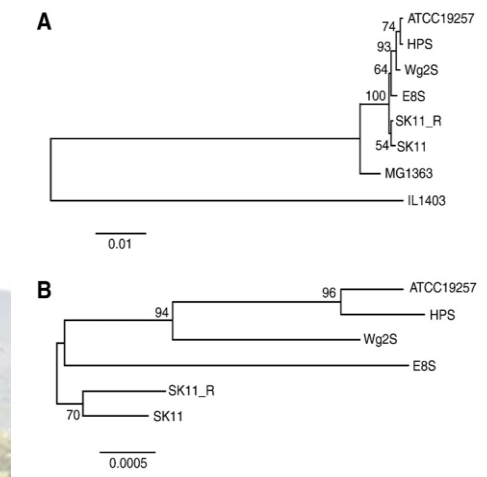
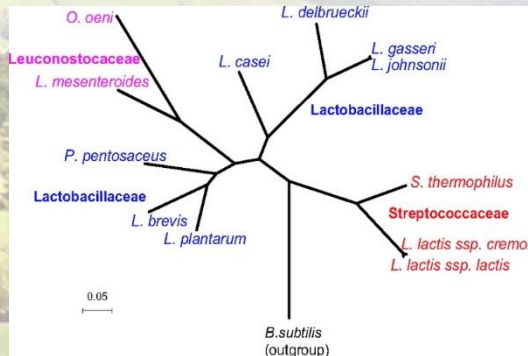
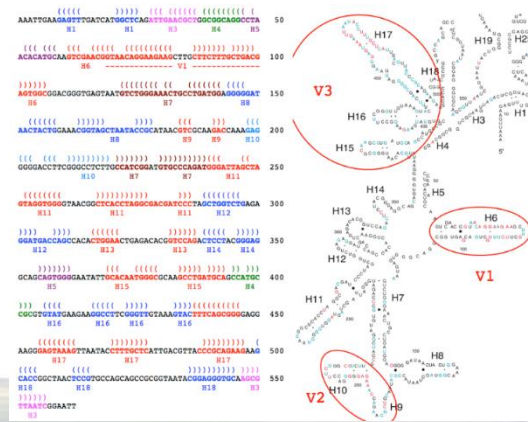
Caractérisation des probiotiques

Identification au niveau de la souche:

Méthodes phénotypiques



Méthodes génotypiques



Taïbi et al., 2010



POUR TOUS VOS BESOINS EN CULTURES
laitières

Caractérisation des probiotiques

Innocuité et efficacité

- Résistance aux antibiotiques
 - Si trouvée, ne doit pas être **transférable**???
- Tests de virulence
 - Motilité
 - Hémolyse
 - Formation de spores
 - Autres???
- Test d'innocuité *in vivo* (modèles animaux ou humains)
 - Précautions à prendre avec les **patients à haut risque**
- Pas besoin de tests d'efficacité pour des espèces déjà utilisées comme probiotiques SAUF une preuve de **survie jusqu'à l'intestin**
 - Mais pas d'allégation sans au moins 2 études cliniques indépendantes...

Pas besoin d'aller trop loin pour les espèces déjà caractérisées et connues comme GRAS...



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Réglementation canadienne

- Les produits alimentaires contenant des microorganismes probiotiques sont généralement considérés comme des **aliments**.
- Un produit en format alimentaire est généralement classé comme un **Produit de Santé Naturel** quand un microorganisme probiotique dans le produit est présenté comme ayant un **usage thérapeutique**.
 - Vraiment difficile à faire... pas de produits sur le marché!
- Les probiotiques peuvent également être vendus sous des **formes posologiques pharmaceutiques** (comprimés, capsules) en tant que **Produits de Santé Naturels**.
- Le terme “probiotique(s)” doit être accompagné d’une déclaration indiquant l’effet démontré qui doit être **clairement** énoncé d’une manière qui n’est pas fausse, trompeuse ou mensongère ou qui est susceptible de créer une impression erronée.
- Lorsqu’une allégation est faite, le **nom latin** (genre et espèce) ainsi que le **numéro de la souche** doivent être mentionnés.



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Réglementation canadienne

- Probiotique présent naturellement dans la **flore intestinale**
- Fournit des microorganismes vivants présents naturellement dans la **flore intestinale**
- Probiotique contribuant à la santé de la **flore intestinale**
- Fournit des microorganismes vivants contribuant à la santé de la **flore intestinale**

Dose recommandée par Santé Canada
1 milliard par portion



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Disponible sur le marché canadien?



>1 milliard d'UFC de Bifidobactéries, Lactobacillus acidophilus et Lactobacillus paracasei



10 souches de bactéries actives



Avec plus de 10^9 UFC de Bifidobacterium lactis par 100g, un probiotique contribuant à la santé de la flore intestinale



1 milliard UFC de bactéries probiotiques *Lactobacillus paracasei*



Contient des probiotiques

Les probiotiques et le microbiote

Core: ~60-70% of Species

- Mostly stable in adulthood
- Formed by geography, early life environment, dietary pattern, genetics, etc.
- Population enterotypes?

Core, Variable and Transient Microbiomes

Variable: ~20-25% of Species

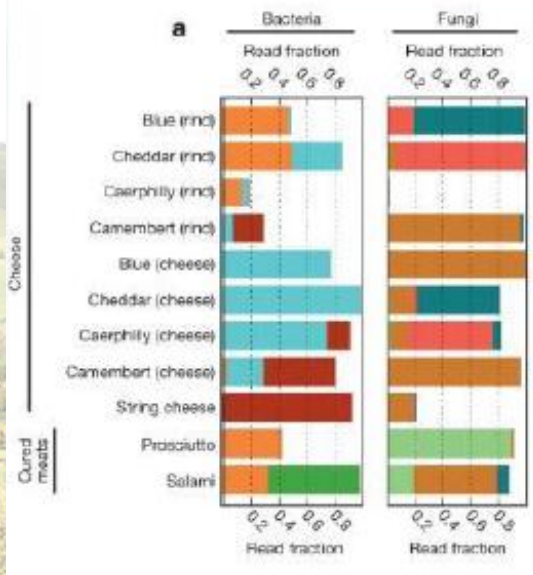
- Varies by diet, season, medications, travel and other health factors
- May not re-establish quickly after antibiotics

Transient: ~5-15% of Species

- Microbes in food, air, water, environment, etc.
- **Probiotics**



Probiotiques = populations bactériennes transitoires... il faut continuer à en prendre!



- Trois bactéries associées au fromage et aux charcuteries sont les plus répandues dans les échantillons fécaux

- Survie jusqu'à l'intestin
- Peuvent avoir été **actives**...



Les effets santé des probiotiques

Effets rares (souche-dépendants)

Effets neurologiques

Effets hormonaux

Effets immunitaires

Production de composés
bioactifs spécifiques

Effets fréquents (au niveau d'une espèce)

Synthèse de vitamines

Antagonisme direct contre les pathogènes

Renforcement de la barrière intestinale

Métabolisme des acides biliaires

Activités enzymatiques

Effets très répandus (chez toutes les espèces étudiées)

Colonisation de l'intestin

Régulation du
transit intestinal

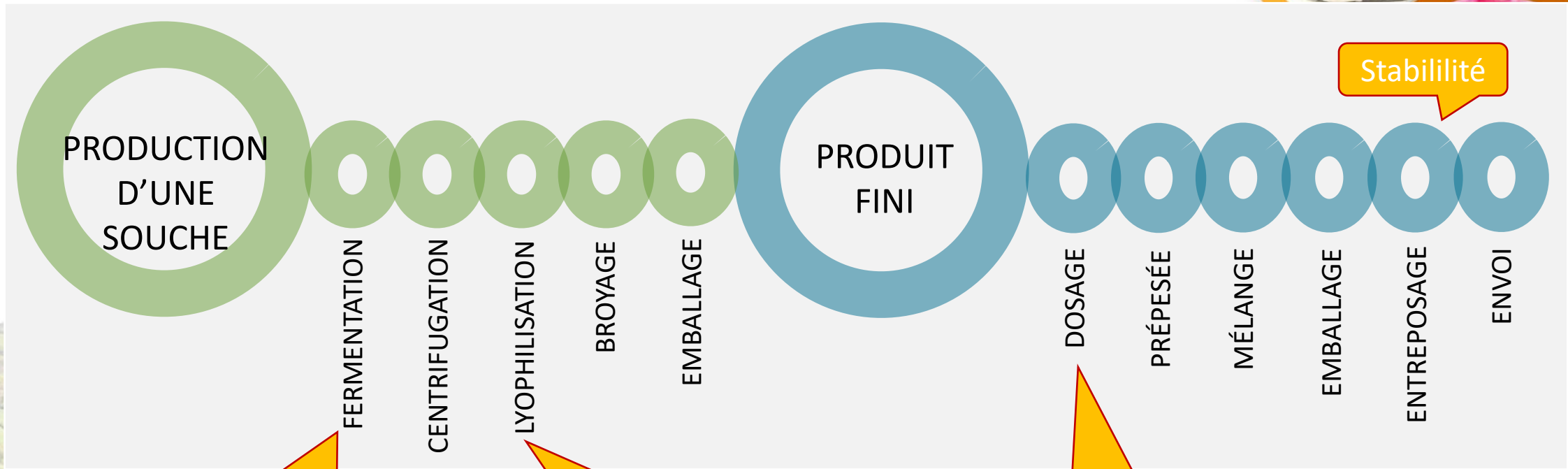
Production d'acides
organiques et d'acides gras à
courte chaîne (SCFAs)

Modulation du
microbiome intestinal
Exclusion compétitive
des pathogènes



La technologie des probiotiques

De la souche jusqu'au produit fini



Stabilité

Milieu de culture

Cryoprotection

Contrôle du CFU



Biena

POUR TOUS VOS BESOINS EN CULTURES

laitières

La technologie des probiotiques

La production des souches

1- Fermentation



Augmentation du rendement
Amélioration de la stabilité

3- Lyophilisation



2- Concentration



Augmentation
du rendement

4- Broyage



Contrôles
environnementaux



Biena

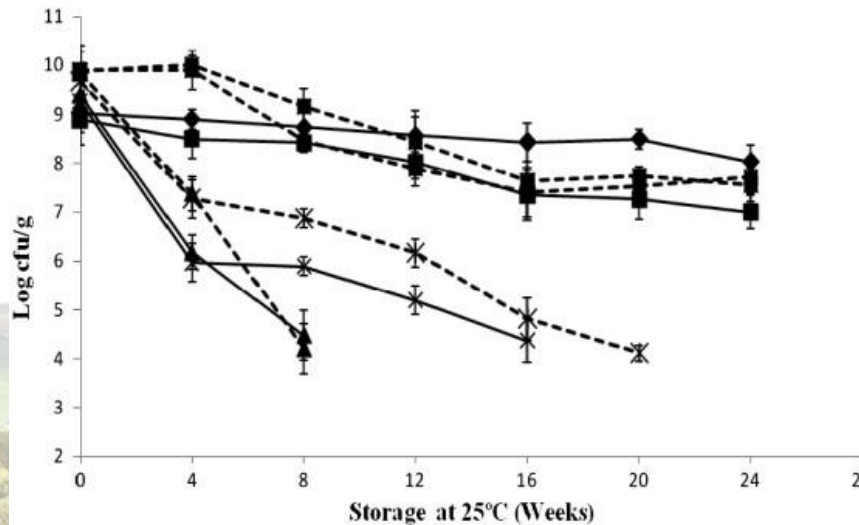
POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

La technologie des probiotiques

La stabilité dans le temps

- Tendance du marché: stabilité à **température pièce!**
- Facteurs qui influencent la stabilité:
 - Température
 - Aw / humidité
 - Emballage
 - Méthodes de production
 - Microencapsulation
 - Souches
 - **Ingrédients**
 - Synergie
 - Manipulations par les clients...



« Oui bonjour je suis en Floride et j'ai acheté votre produit pis je l'ai laissé dans mon char et les capsules ont changé de couleur... »

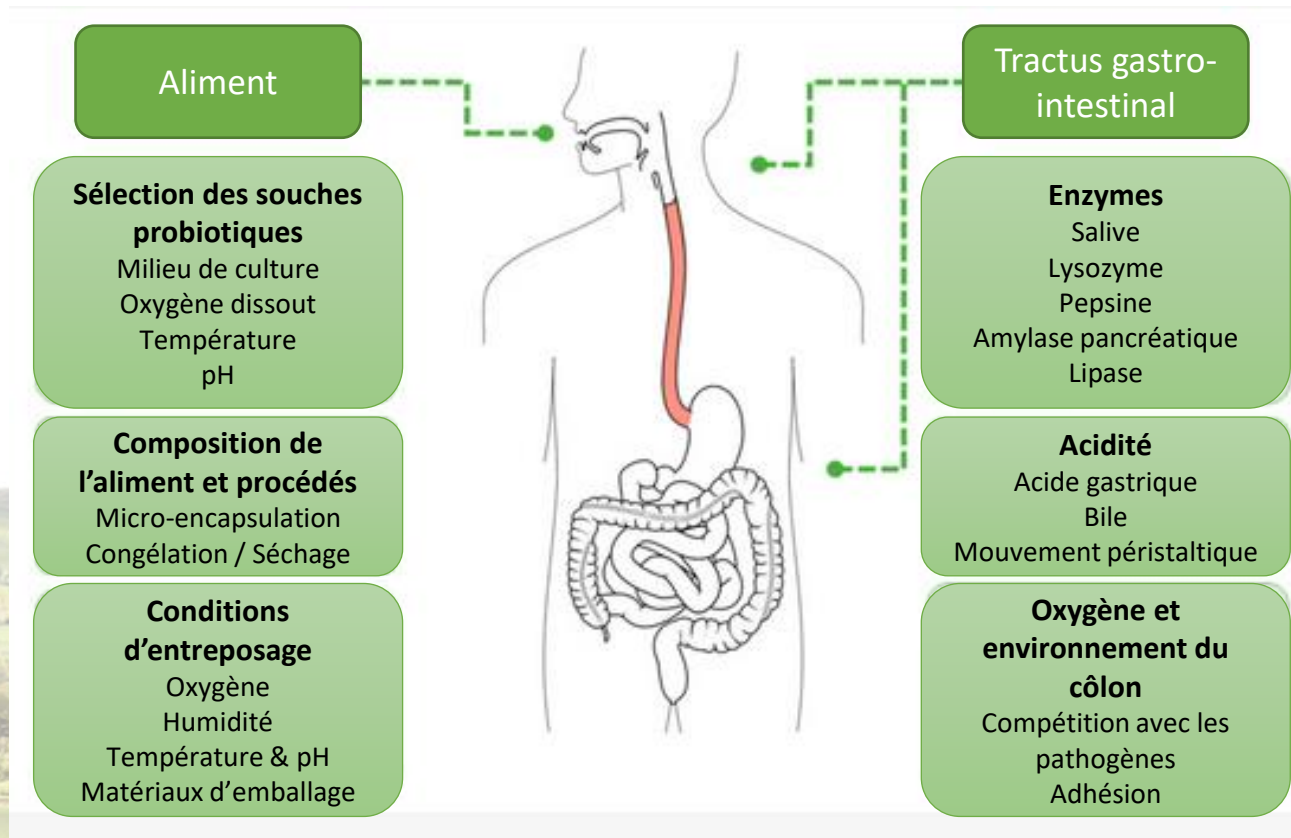


Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
laitières

Les probiotiques : De l'aliment jusqu'à l'intestin

(Adapté de Terpou et al., 2019)



Dose recommandée par Santé Canada

1 milliard par portion / 10 million par gramme



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Les probiotiques dans les aliments: Qu'est-ce qui affecte la viabilité?

Facteurs chimiques (Terpou et al., 2019)

- Additifs alimentaires (sucre, sels, saveurs, antimicrobiens)
 - Bactériocines / huiles essentielles ↓ (entreposage)
 - Prébiotiques ↑
 - Sucre ↓ (joue sur l' A_w)
 - Sel ↓ (dépend de la souche: *L. casei* + résistante)
- Niveaux d'oxygène et potentiel redox
 - Important pour les **bifidobactéries**, très peu pour les **lactobacilles**...
 - Packaging / scavengers d'oxygène (Ex: acide ascorbique)
- pH et acidité

Orange 3.8
Ananas 3.8

-0.4 log / 6 sem

+ acide citrique

Pamplemousse 3.2
Cassis 3.2

-0.6 log / 6 sem

+ composés
phénoliques

Pomme grenade <3.0
Fraise <3.0

-8 log / 6 sem



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Les probiotiques dans les aliments: Qu'est-ce qui affecte la viabilité?

Facteurs biologiques (Terpou et al., 2019)

- Choix de la souche
 - Résistance aux conditions environnementales
 - Pas d'antagonisme avec le ferment d'acidification (bactériocines)
- Microbiome naturel du produit
- Enzymes
- Post-acidification
- Présence de microorganismes d'altération ou pathogènes



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Les probiotiques dans les aliments: Qu'est-ce qui affecte la viabilité?

Facteurs physiques (Terpou et al., 2019)

- Paramètres de fabrication de la souche
 - Conditions de **lyophilisation**
- Température de fermentation
 - 30-43°C pour la plupart des bactéries lactiques
 - Jusqu'à 45°C pour *L. acidophilus*
 - 36-38°C pour *B. infantis*, *B. breve* et *B. bifidum*
 - Jusqu'à 43°C pour *B. lactis*
- Température d'entreposage
- Présence d'oxygène



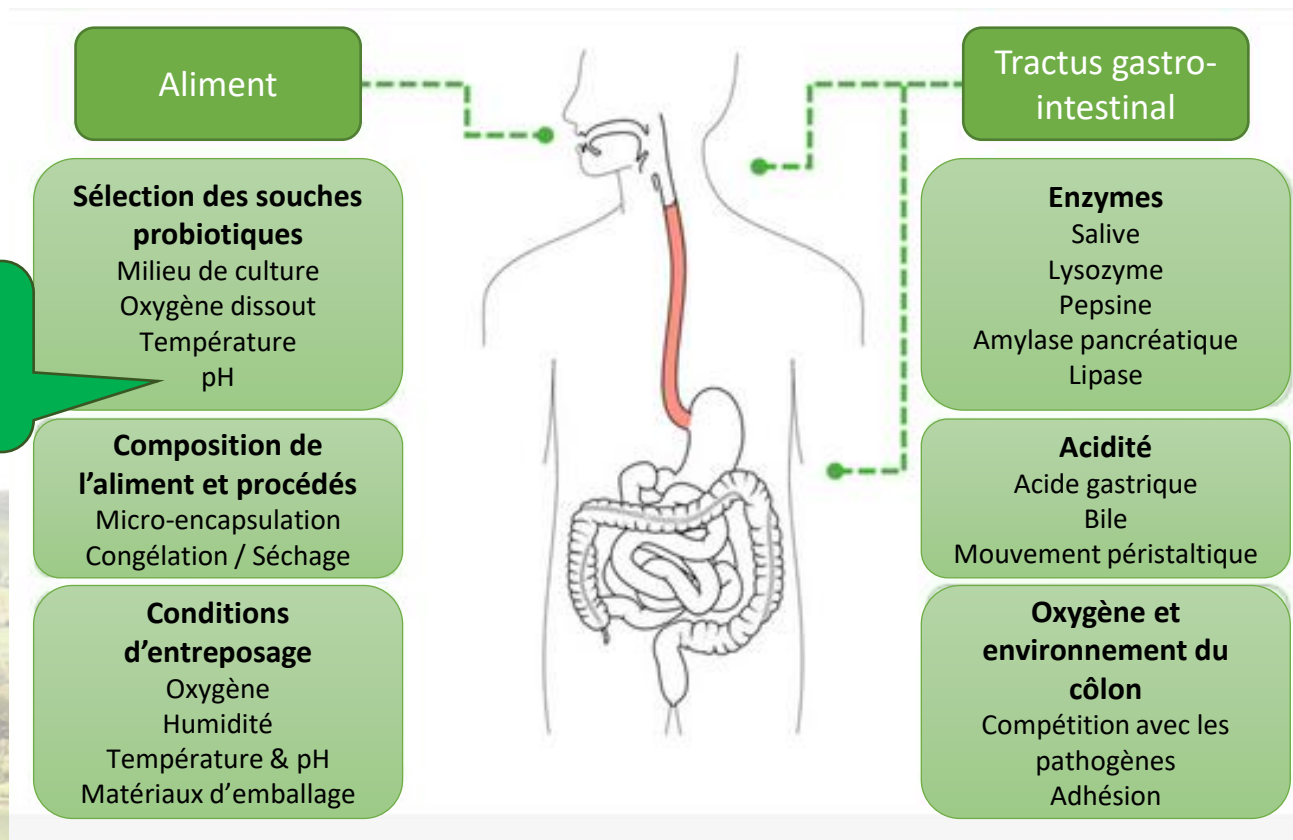
Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Les probiotiques dans les aliments: Comment améliorer la viabilité?

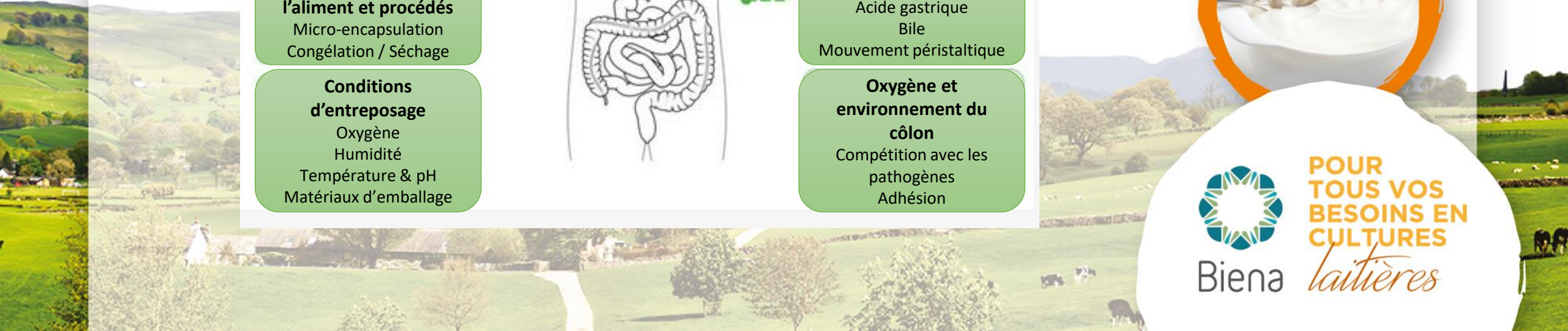
Sélection de la souche (Terpou et al., 2019)



L. plantarum
L. casei
L. acidophilus

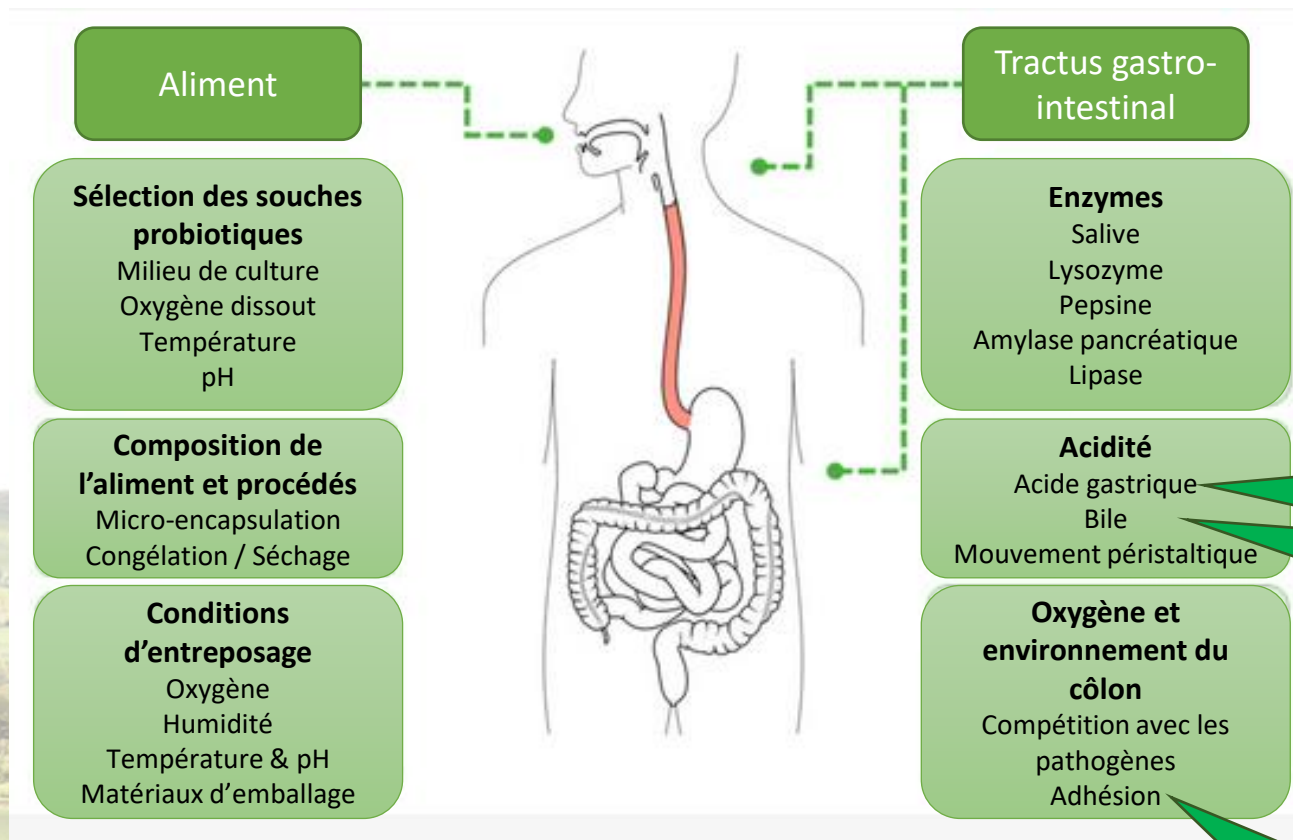


POUR TOUS VOS BESOINS EN CULTURES
laitières



Les probiotiques dans les aliments: Comment améliorer la viabilité?

Choix de la matrice alimentaire (Terpou et al., 2019)



Crème glacée
(Ranadheera et al., 2012)

Yogourt aux fruits

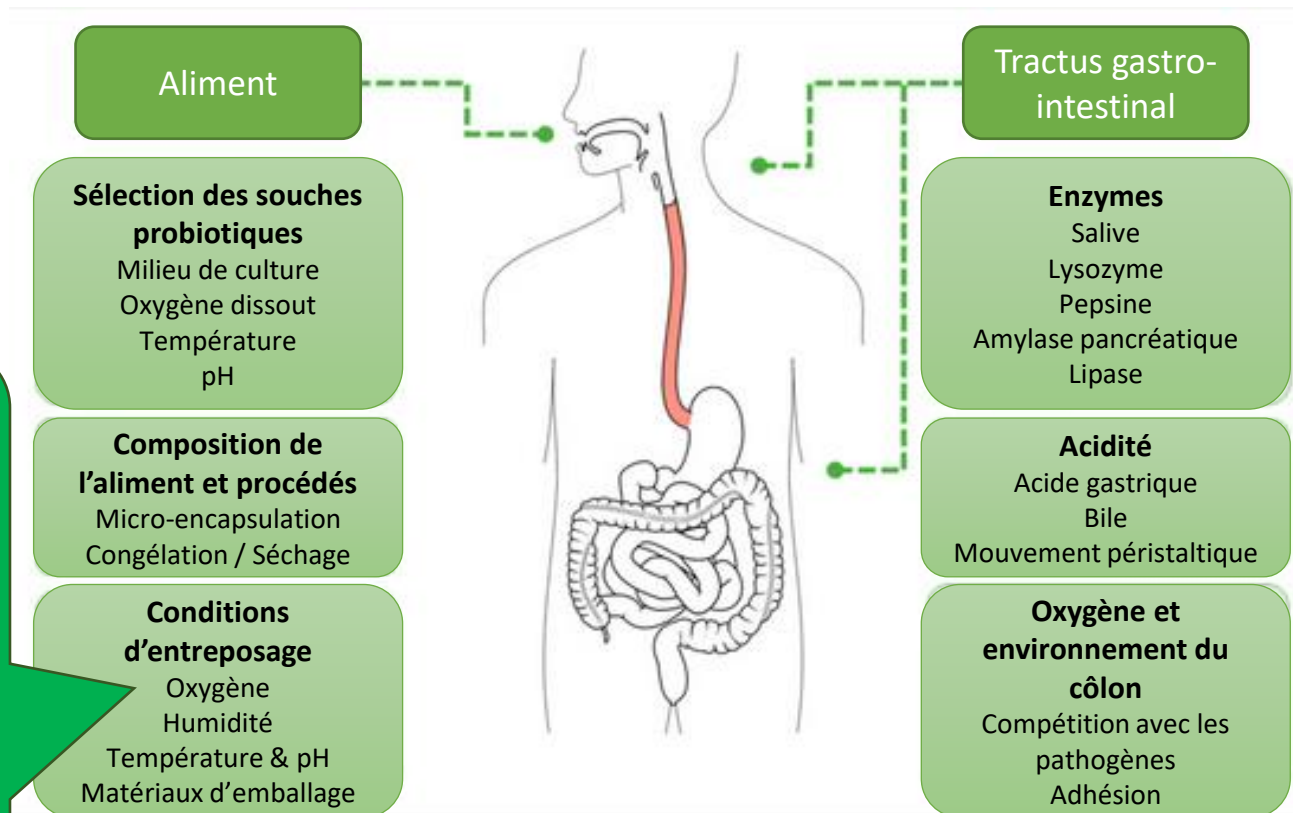


Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
laitières

Les probiotiques dans les aliments: Comment améliorer la viabilité?

Choix de l'emballage (Terpou et al., 2019)



Favoriser les matériaux moins poreux (vitre) ou l'ajout de scavengers d'oxygène (moins coûteux)



Biena

POUR TOUS VOS BESOINS EN CULTURES

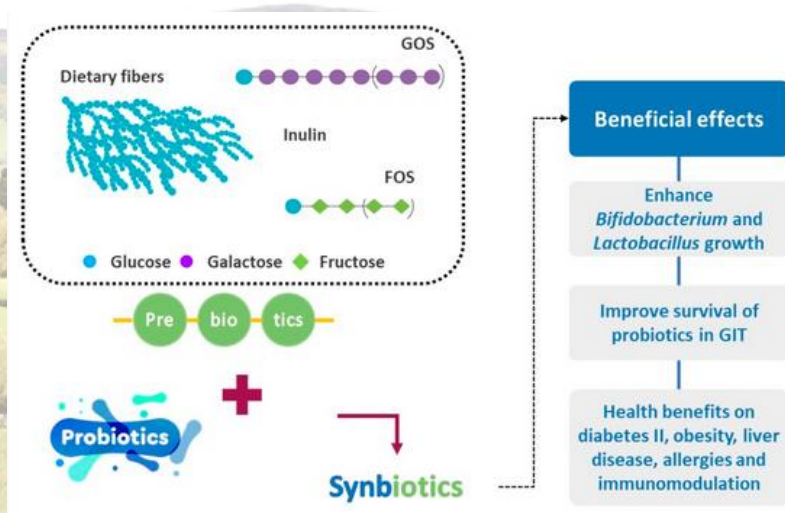
laitières

Les probiotiques dans les aliments: Comment améliorer la viabilité?

Ajout de promoteurs (Terpou et al., 2019)

- Poudre de lait / lactosérum
 - Protège contre les conditions de fabrication
- Prébiotiques
 - Substrat utilisé par les microorganismes ayant des effets bénéfiques
 - Hydrolysats de caséines : ↑ *B. lactis* jusqu'à 4 fois
 - Inuline : ↑ bifidobactéries de 55% après 4 semaines

Synbiotique =
pro +
probiotique



POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
laitières

Les probiotiques dans les aliments: Comment améliorer la viabilité?

Encapsulation (Terpou et al., 2019)

- Peut augmenter la survie des probiotiques dans les aliments
 - Les souches ont une protection de plus...
 - CFU par gramme inférieur (doit être optimisé dans l'aliment)
- Dépend de plusieurs facteurs = **beaucoup d'optimisation**
 - Souche et population initiale
 - Ingrédients utilisés pour encapsuler (polysaccharides, protéines, lipides)
 - Méthode (atomisation, extrusion, émulsion, etc...)
 - pH
 - **Aliment ciblé**



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières



ÉTUDE DE CAS :
ALIMENTS
FONCTIONNELS
AVEC



ÉTUDE DE CAS: — WCFS1

LACTOBACILLUS PLANTARUM —

La souche la plus étudiée de **façon indépendante**

La science:

Premier génome de *Lactobacillus* complètement séquencé

Plus de 200 études sur son potentiel probiotique

- 7 études *in vivo*
- 4 études cliniques chez les humains

Bienfaits pour la santé **gastrointestinale** et **immunitaire**

Effets sur le **cholestérol**, le **diabète** et la **gestion du poids**

La souche:

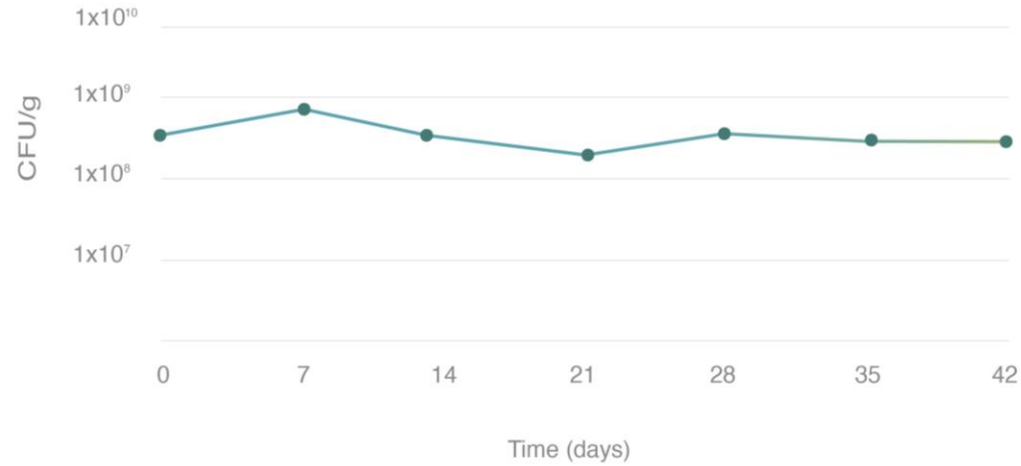
Marque déposée de Biena

- Végane, Non-GMO Project Verified
- Biologique
- Sans allergène (Lait, Soya, Gluten)
- Certification **Tru-ID** (Génome vérifié)
- Fabriquée dans une usine **100% BPF**
- **Stable à température pièce pour 24 mois**



LAIT

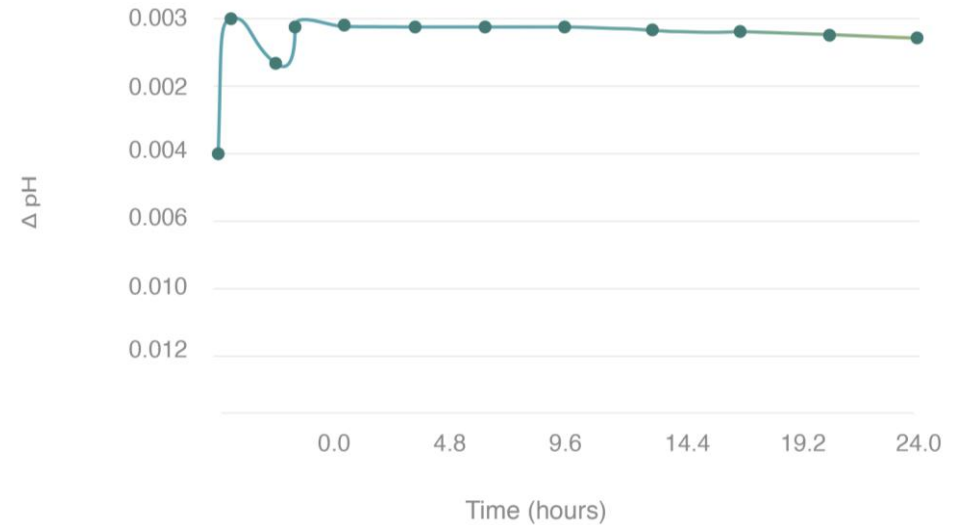
Stability of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 in refrigerated milk



Plus de 95% de survie après 42 jours (lait de vache)

Stable à 37°C pour 24 heures

Acidification in milk at 37°C



ÉTUDE



Dose

1 Billion
/ 225 mL

2 Billion
/ 225 mL

5 Billion
/ 225 mL

10 Billion
/ 225 mL

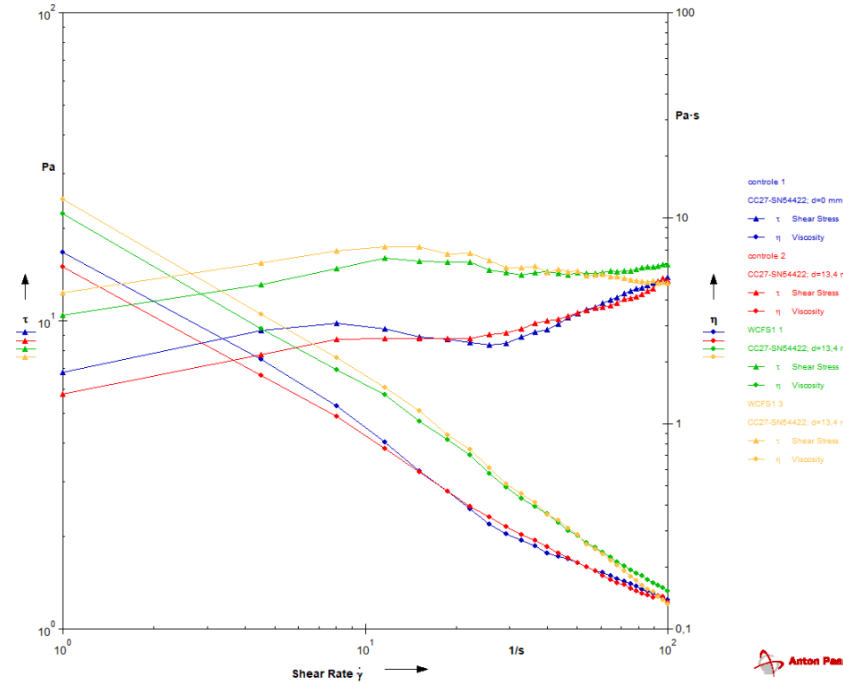
Paramètres

Fermentation
CFU
pH / acidité
Organoleptique
Fermeté
Viscosité

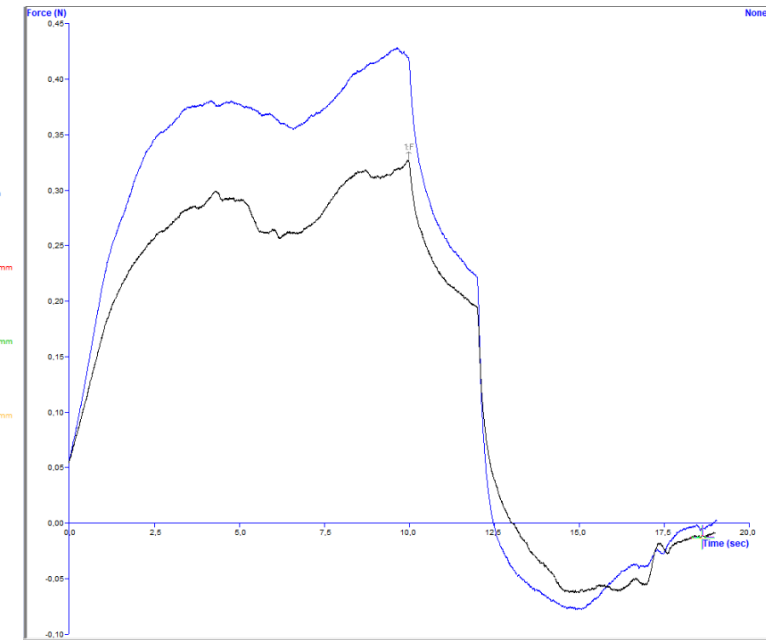


TEXTURE

Viscosité



Fermeté



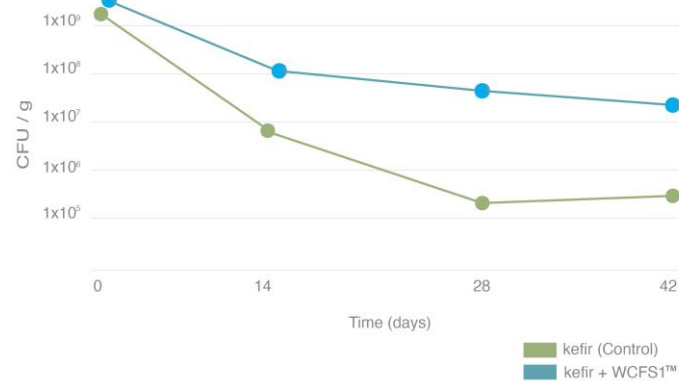
	Contrôle	WCFS1	P value
Fermeté (N/cm ²)	1.033	1.087	0.0081**
Viscosité at 50 s ⁻¹	0.228	0.296	0.072



KÉFIR

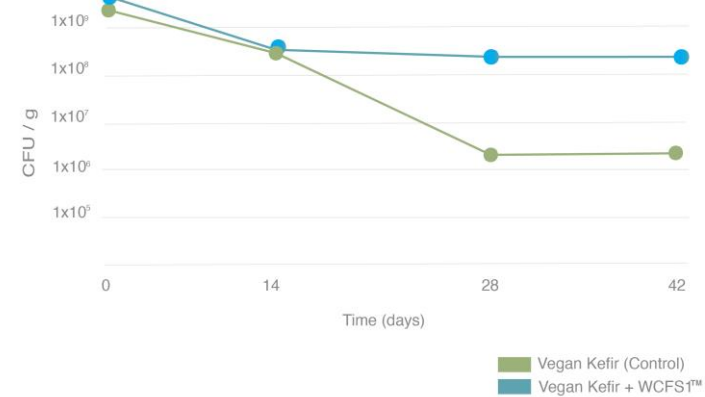


Total viable Lactobacilli count in cow milk kefir during refrigerated storage



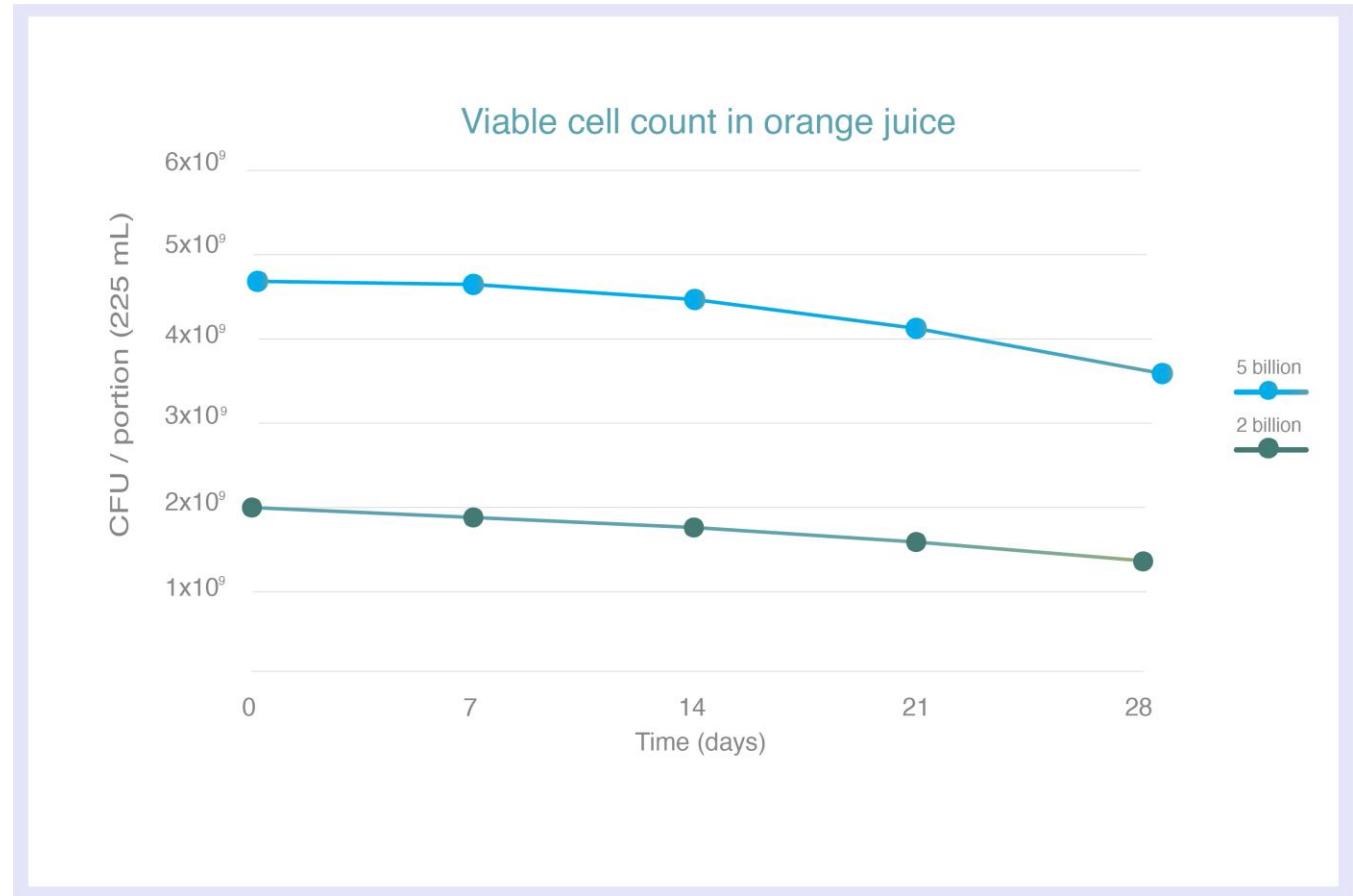
Lactobacillus plantarum WCFS1 inoculé à 2 milliards par portion

Total viable Lactobacilli count in soy milk kefir during refrigerated storage





JUS D'ORANGE



Plus de 70% de survie après 4 semaines

Pas d'effet de WCFS1 (2 ou 5 milliards par portion) sur le goût



Probiotiques : conclusion

- Favorisent la **diversité** du microbiome intestinal
- Doivent être **caractérisés** pour leur potentiel santé et leur résistance dans les aliments
- Le procédé de fabrication influence leur **stabilité** pendant l'entreposage et dans les aliments
- La stabilité dans les aliments est **souche-dépendante**

**Probiotiques + aliments fermentés =
aliments fonctionnels par excellence!**



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

En bref...



- **Partie III : Les cultures protectrices**
 - Les mécanismes d'action
 - Les études de cas



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

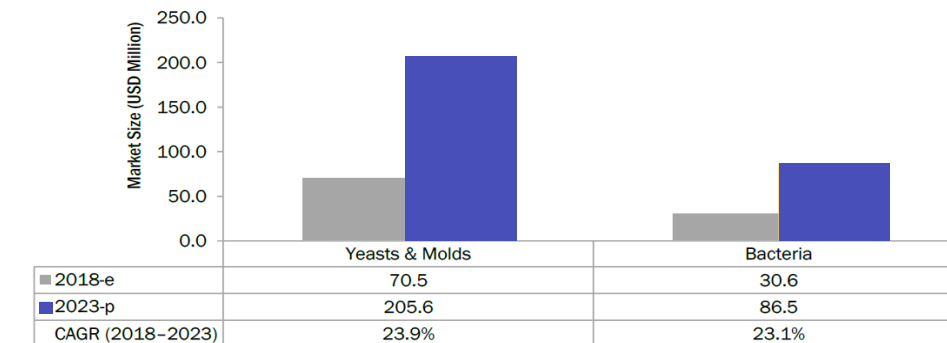
L'altération des aliments

Selon la FAO, **30% des aliments sont gaspillés**, car ils se détériorent avant leur date de péremption...

- Mauvaise perception des consommateurs
- Nécessite de trouver des solutions 'Clean Label'
 - Pas d'antibiotiques ou d'antifongiques «non naturels»...

On prévoit une augmentation de **21,5%** de la vente des cultures protectrices d'ici 2028.

FIGURE 1 PROTECTIVE CULTURES MARKET SNAPSHOT, BY TARGET MICROORGANISM, 2018 VS. 2023



e - Estimated; p - Projected

Source: Secondary Literature, Expert Interviews, and MarketsandMarkets Analysis



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

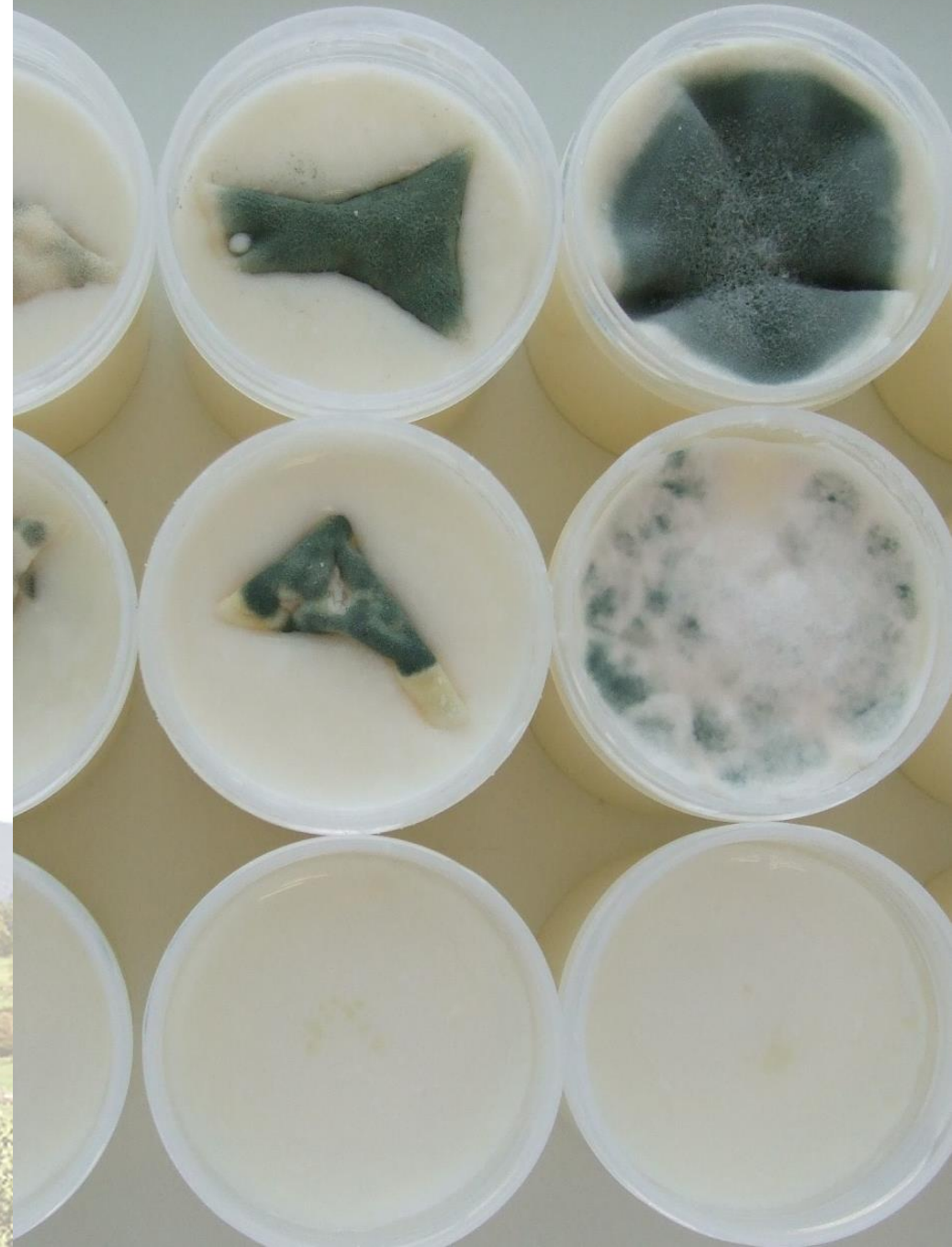
Les effets protecteurs des BL

Occupation
de l'espace

Compétition
pour les
nutriments

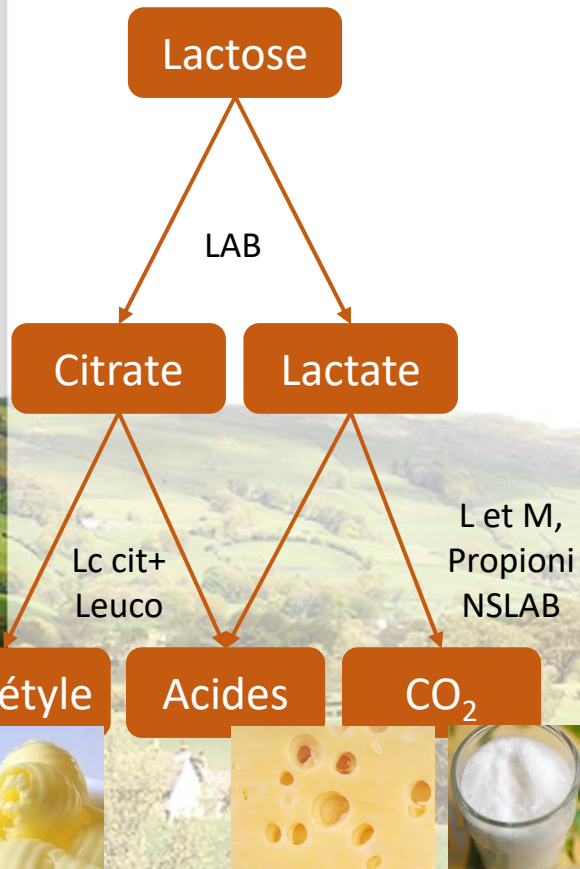
Production
de
molécules
inhibitrices

(métabolites comme les
bactériocines, acides
organiques et peptides)

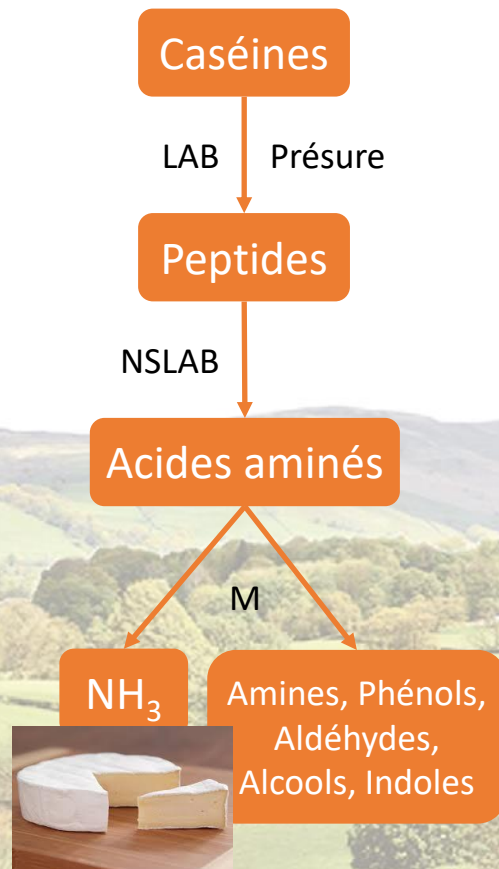


La fermentation du lait

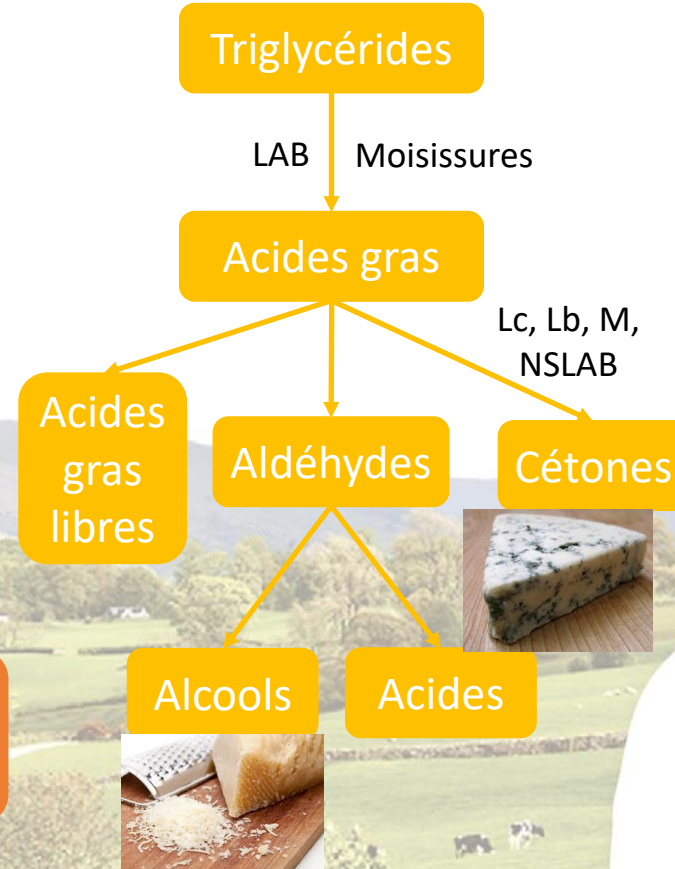
Dégradation des glucides



Dégradation des protéines



Dégradation des lipides

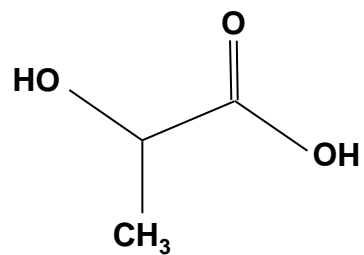


Biena

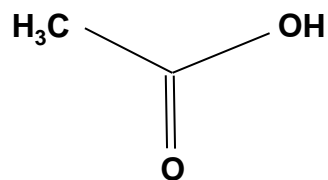
POUR TOUS VOS BESOINS EN CULTURES

laitières

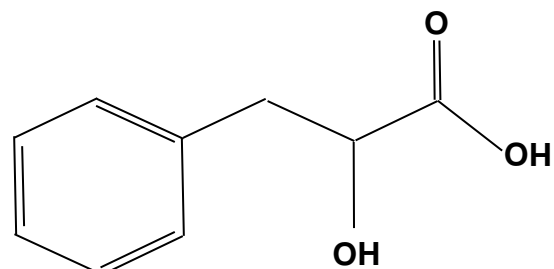
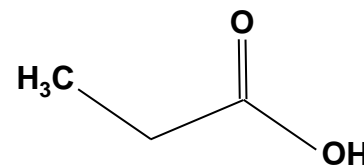
Les acides organiques



Acide lactique

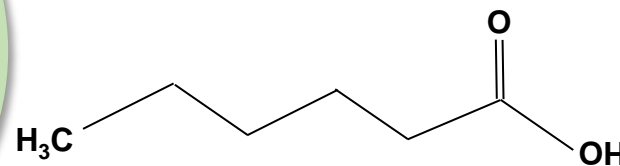


Acide propionique

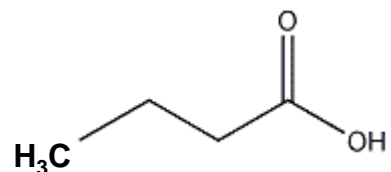


Acide phénylacétique

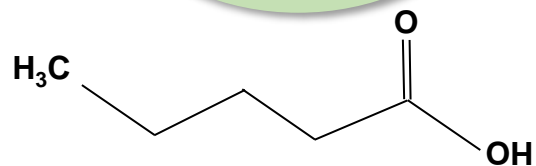
Production
de
molécules
inhibitrices



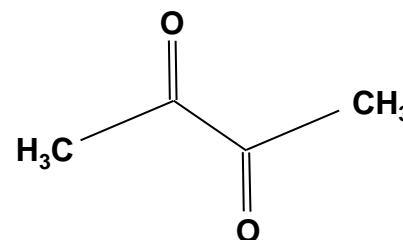
Acide caproïque



Acide butyrique



Acide pentanoïque



Diacétyle



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

Laitières

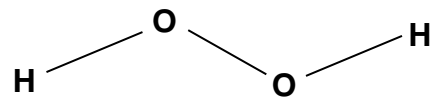
Les bactériocines et autres composés

Table 1 | **Suggested classification scheme for bacteriocins**

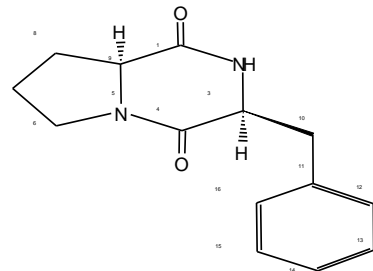
Classification*	Remarks/suggestions	Examples
Class I		
Lanthionine-containing bacteriocins/lantibiotics	Includes both single- and two-peptide lantibiotics; up to 11 subclasses have been proposed ¹⁹	Single-peptide: nisin , mersacidin, lactacin 481; two-peptide: lactacin 3147, cytolyisin
Class II		
Non-lanthionine-containing bacteriocins	Heterogeneous class of small peptides; includes pediocin-like (subclass a bacteriocins), two-peptide (subclass b bacteriocins), cyclic (subclass c; formerly class V), non-pediocin single linear peptides (subclass d)	Class IIa: pediocin PA1, leucocin A; class IIb: lactacin F; class IIc: enterocin AS48, reuterin ; class IId: lactococcin A, divergicin A
Bacteriolysins		
Non-bacteriocin lytic proteins [‡]	Large, heat-labile proteins, often murein hydrolases	Lysostaphin, enterolysin A

* Class IV bacteriocins (bacteriocins with non-proteinaceous moieties) are not included as no members have been demonstrated.

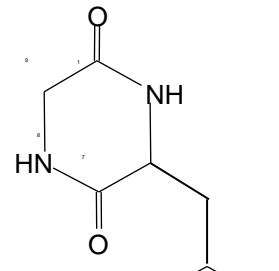
‡ Suggested that these are no longer considered bacteriocins (see main text).



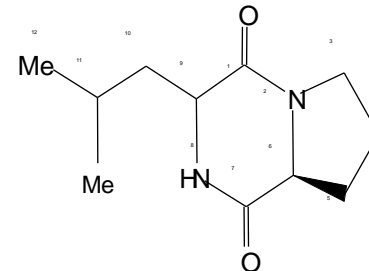
Péroxyde d'hydrogène



Cyclo (L-Phe-L-Pro)



Cyclo (Gly-Leu)



Cyclo (L-Leu-L-Pro)



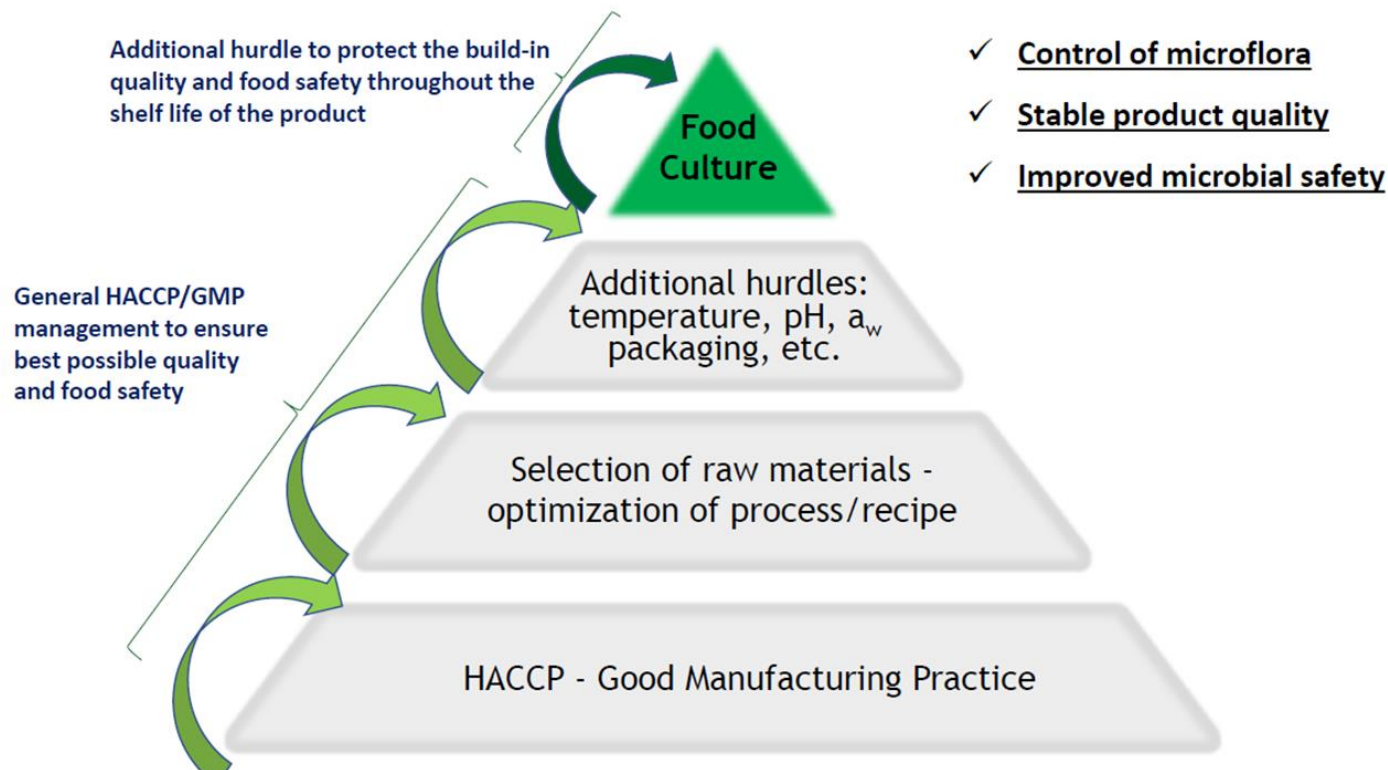
Biena

POUR TOUS VOS BESOINS EN CULTURES

Laitières

Est-ce miraculeux?

Les cultures protectrices **ne peuvent pas agir seules...** elles ajoutent une **barrière!**



EFFCA
European Food & Feed Cultures Association

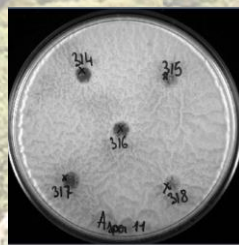
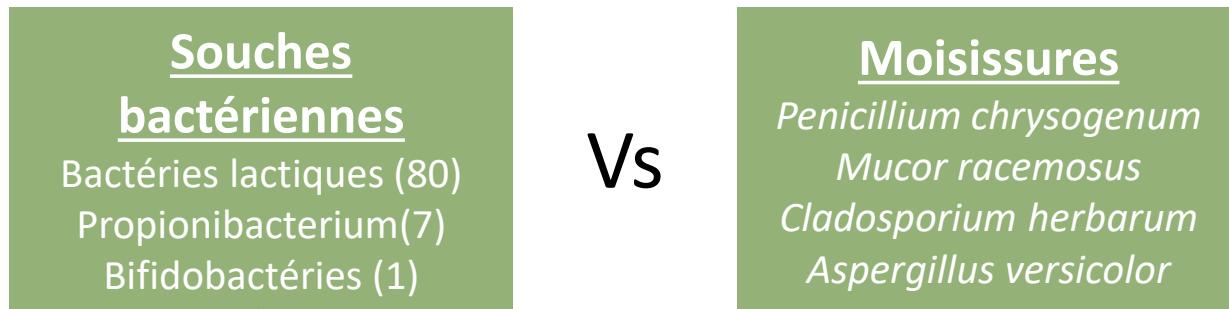


Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES
Laitières

Trouver des cultures protectrices

1) Sélection des souches pour leur effet antagoniste



Fernandez et al., 2017



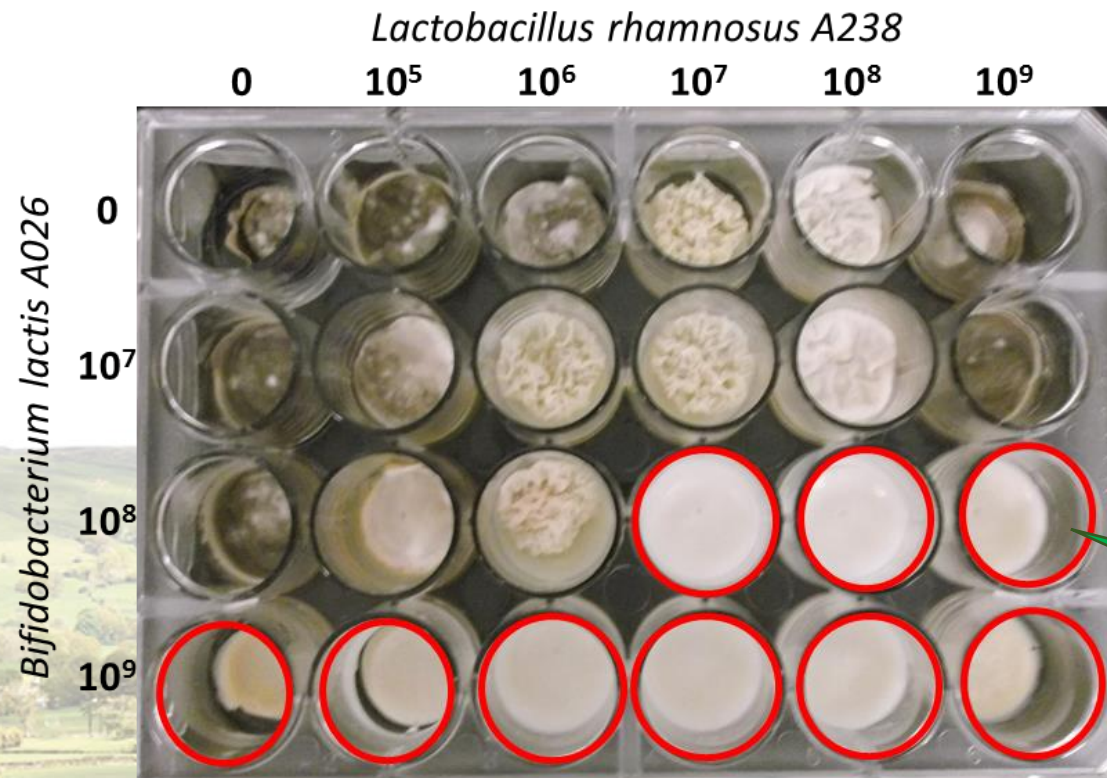
Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

Laitières

Trouver des cultures protectrices

2) Déterminer la concentration optimale de bactéries



Synergie
démontrée



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Trouver des cultures protectrices

3) Tester en conditions industrielles

Fromage
contrôle



Fromage test



Les options



DuPont™ Danisco® HOLDBAC® protective cultures ensure that more fresh, nutritious dairy food makes it into people's homes.

CHR HANSEN

Improving food & health

FRESHQ®

Keep it great with fermentation-enabled bioprotection



LALCULT® PROTECT LC1

A PATENTED SOLUTION TO CONTROL *LISTERIA MONOCYTOGENES* CONTAMINATIONS



4 PROTECTION

Food Cultures with Protective Effect

SACCO
system

Sacco has 4 lines of products dedicated to the protection of dairy products:

Anti Yeasts and Moulds **AYM**

Anti *Listeria monocytogenes* **AL**

Anti Clostridia **AC**

Anti Other Spoilage Microorganisms **AOSM**



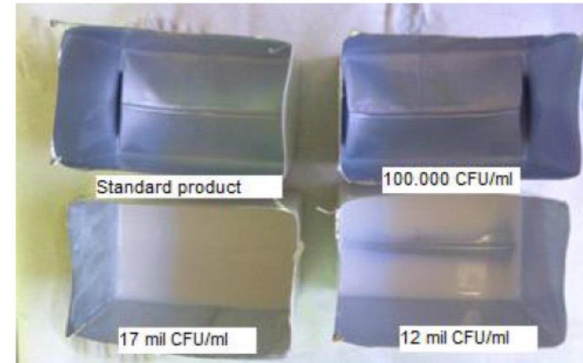
Biena

POUR TOUS VOS BESOINS EN CULTURES

laitières

Étude de cas : Les psychrotrophes

- Aérobes
- Peuvent croître $< 5^{\circ}\text{C}$
- Sensibles à la chaleur MAIS produisent des **enzymes thermorésistantes** (protéases et lipases)
= impact sur le **goût** et la stabilité du lait
= réduction du **rendement**



UHT milk based on raw material with different number of psychrotropic bacteria after 2.5 month storage at ambient temperature 22-23 °C.



ALCALIGENES

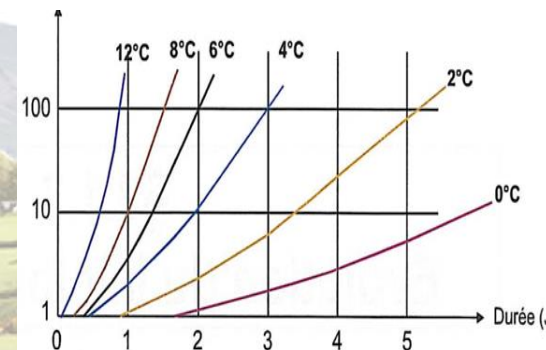


SERRATIA



LISTERIA

Espèces: *Pseudomonas* (10%), *Alteromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Brochothrix*, *Listeria*, *Yersinia*, *Aeromonas*



Biena

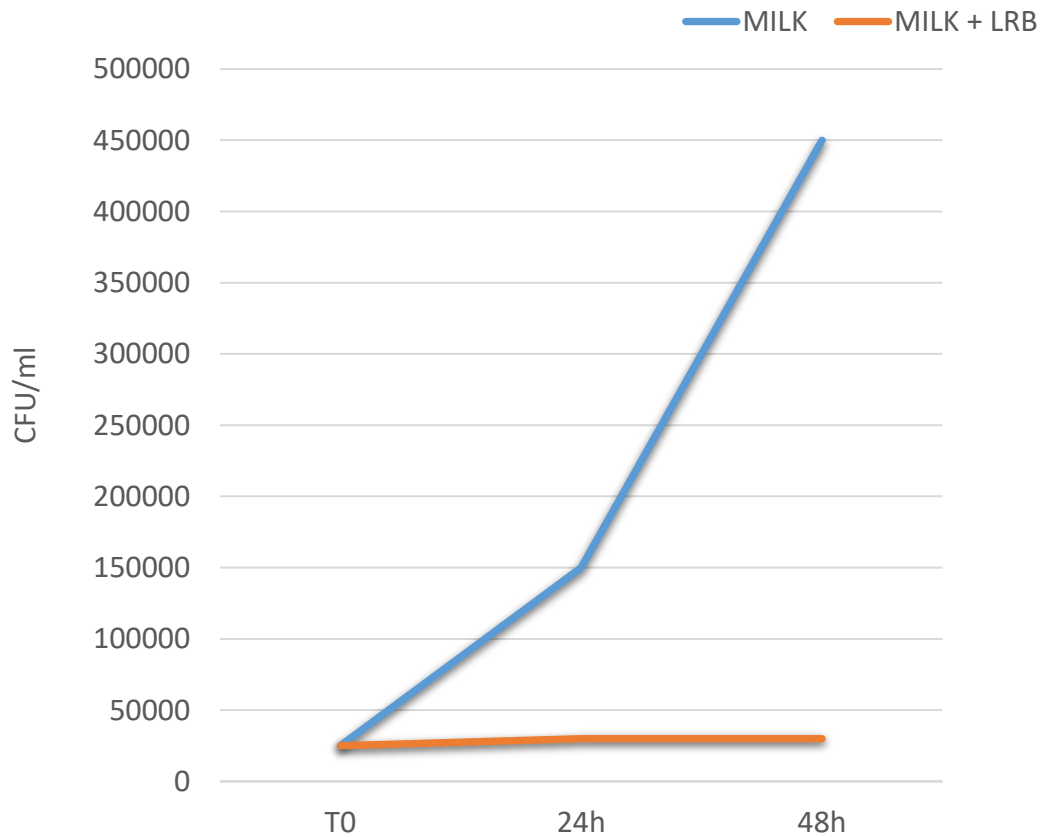
POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

Laitières

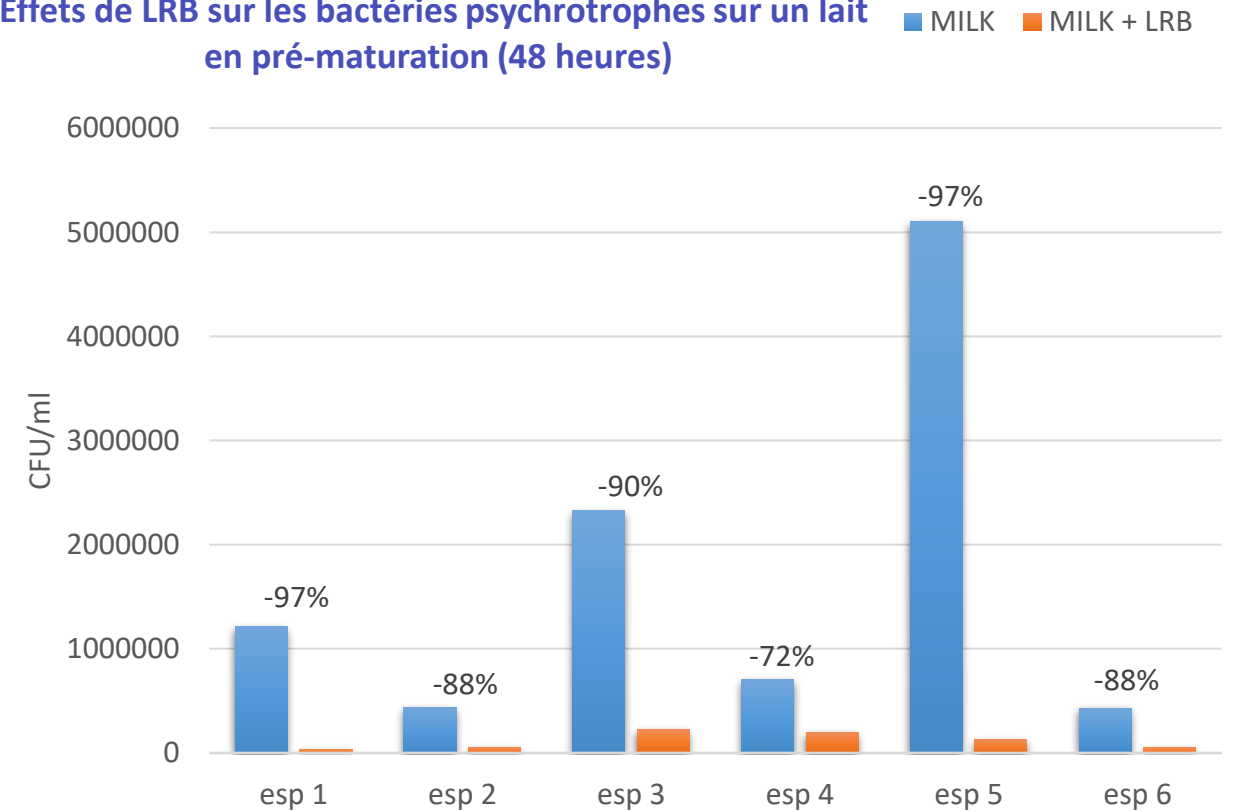
Étude de cas :

Lyofast LRB vs psychrotrophes

Croissance des bactéries psychrotrophes dans le lait cru à 4° C



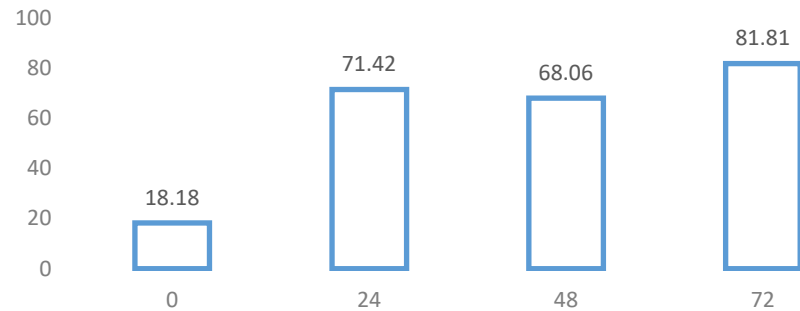
Effets de LRB sur les bactéries psychrotrophes sur un lait en pré-maturation (48 heures)



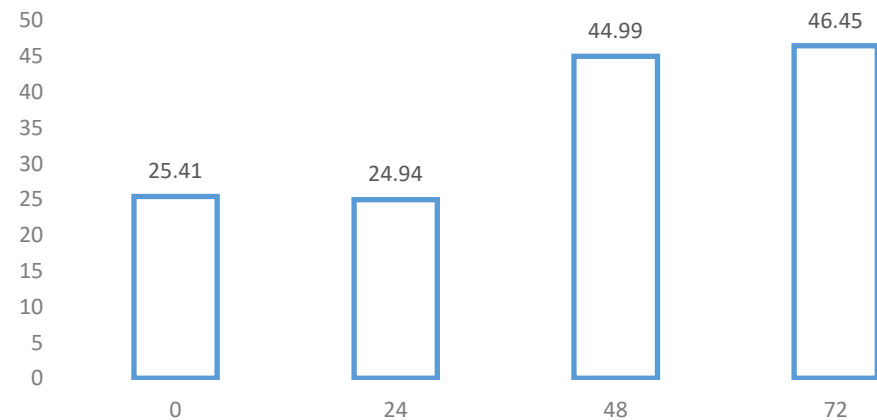
Étude de cas :

Lyofast LRB vs psychrotrophes (sur 11 000 litres)

% RÉDUCTION DES PSYCHROTROPHES



% DE RÉDUCTION DES COLIFORMES



Tiempo de conservación (hrs.)	COMP 1 SC	COMP 1 110 DOSIS
0	1.760.000	1.440.000
24	1.820.000	520.000
48	1.910.000	610.000
72	1.760.000	320.000

Tiempo de conservación (hrs.)	COMP 1 SC	COMP 1 110 DOSIS
0	4.170.000	3.110.000
24	4.490.000	3.370.000
48	5.290.000	2.910.000
72	4.930.000	2.640.000

Étude de cas : Les Gram -



� Famiglia delle **Campylobacteraceae**

- o Genere **Campylobacter**
 - ☞ Specie **Campylobacter coli**
 - ☞ Specie **Campylobacter concisus**
 - ☞ Specie **Campylobacter jejuni**
 - ☞ Specie **Campylobacter C. rectus**
- o Genere **Arcobacter**
 - ☞ Specie **Arcobacter butzleri**
 - ☞ Specie **Arcobacter cryaerophilus**

� Famiglia del **Enterobacteriaceae** :

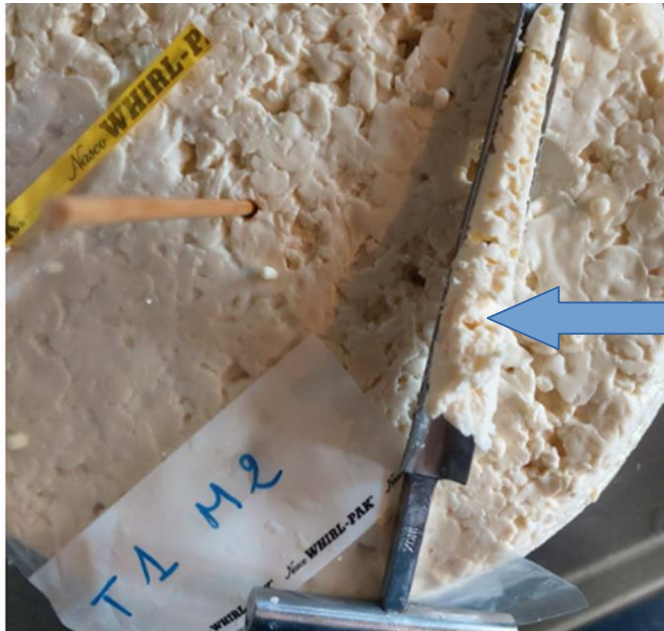
- o Genere **Citrobacter**
 - ☞ Specie **Citrobacter amalonaticus**
 - ☞ Specie **Citrobacter braakii**
 - ☞ Specie **Citrobacter farmeri**
 - ☞ Specie **Citrobacter freundii**
 - ☞ Specie **Citrobacter gillenii**
 - ☞ Specie **Citrobacter koseri**
- o Genere **Enterobacter**
 - ☞ Specie **Enterobacter aerogenes**
 - ☞ Specie **Enterobacter agglomerans**
 - ☞ Specie **Enterobacter cloacae**
 - ☞ Specie **Enterobacter cowanii**
 - ☞ Specie **Enterobacter gergoviae**

- o Genere **Escherichia** ←
 - ☞ Specie **Escherichia coli**
- o Genere **Klebsiella**
- o Genere **Morganella**
 - ☞ Specie **Morganella Morganii**
- o Genere **Proteus**
 - ☞ Specie **Proteus vulgaris**
 - ☞ Specie **Proteus mirabilis**
- o Genere **Shigella** ←
 - ☞ Specie **Shigella dysenteriae** (responsabile della **dissenteria bacillare**)
- o Genere **Salmonella**
 - ☞ Specie **Salmonella typhi** (responsabile della **febbre tifoide**)
- o Genere **Yersinia** ←
 - ☞ Specie **Yersinia pestis** (responsabile della **peste**)
 - ☞ Specie **Yersinia pseudotuberculosis**
 - ☞ Specie **Yersinia enterocolitica**
- o Specie **Serratia marcescens**
 - ☞ Specie **Aerobacter aerogenes**
 - ☞ Specie **Enterobacter sakazakii**

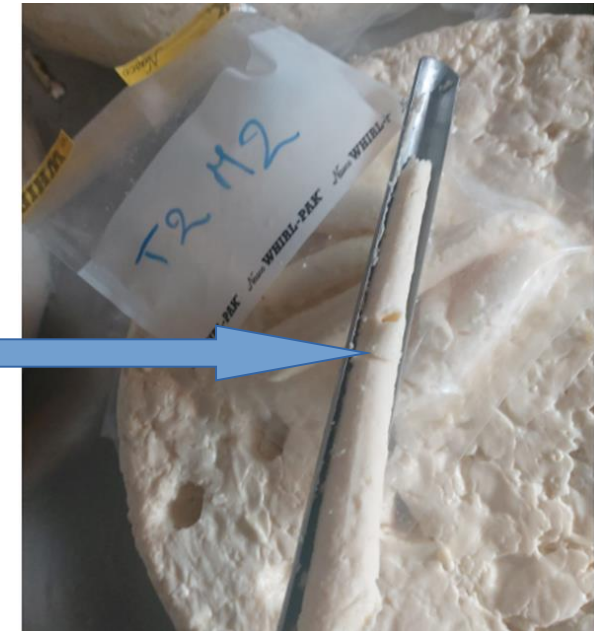
Étude de cas :

Lyofast CPR4P1 vs Gram – (coliformes et *E. coli*)

Id. Muestra	LECHE ANTES DE CUAJAR		SALIDA DE PRENSA*		A LAS 96 HORAS	
	C. totales ufc/mL	E.coli ufc/mL	C. totales ufc/g	E.coli ufc/g	C. totales ufc/g	E.coli ufc/g
T1M2 sin cultivo	>1.5 x 10 ⁵	3.9 x 10 ⁴	>1.5 x 10 ⁵	1.0 x 10 ⁴	9.5 x 10 ⁶	3.2 x 10 ⁶
T1 M2 30 dosis/1000	>1.5 x 10 ⁵	1.0 x 10 ³	>1.5 x 10 ⁵	1.3 x 10 ⁵	3.4 x 10 ⁴	1.1 x 10 ⁴



T1 M2	T2 M2
Contrôle	30 doses/1000L CPR4P1



Étude de cas : Clostridium

Ferments disponibles:

- M41/91MON4P01 } *Lactococcus lactis*
- M41/91MOL4P03 } *Lactococcus lactis*
- M91LC4P1 ➔ *L. paracasei*
- M91LCP4P2 ➔ *L. paracasei* + *L. plantarum*
- M91LCR4P06 ➔ *L. paracasei* + *L. rhamnosus*

Production
de
molécules
inhibitrices



10 doses Lyofast
LCR4P06/1000 L



Étude de cas : Levures et moisissures

LP AL + SP1– Queso Fresco

25°C / 15 dias			
Sans culture protectrice		Avec cultures protectrices	
Moisissures	Levures	Moisissures	Levures
< 100	38.000	0	530

Batch n°	Isolate code	LRB	LSK23	LPAL	LP01	LR4PD	SP 1	CNBAL
29010101	M-1A1	+++	++	+++	+++	++	+++	-
	M-1A2	+++	+	+++	+++	++	+++	-
	M-1A3	3+	++	+++	++	++	++	-
29010102	M-2A1	++	-	+++	+++	++	++	-
	M-2A2	++	-	++	+++	++	++	-
	M-2A3	++	-	++	+++	++	++	-
	Y-2B1	-	+	+	+	-	+	-
	Y-2B2	-	+	+	+	-	+	-
	Y-2B3	-	+	+	+	-	+	-

Compétition pour les nutriments
(Ex : Mn)

Production de molécules inhibitrices
(métabolites comme les bactériocines, acides organiques et peptides)

Étude de cas : Listeria

Souches **acidifiantes** efficaces contre *Listeria*

S. thermophilus qui produit de la Thermophiline

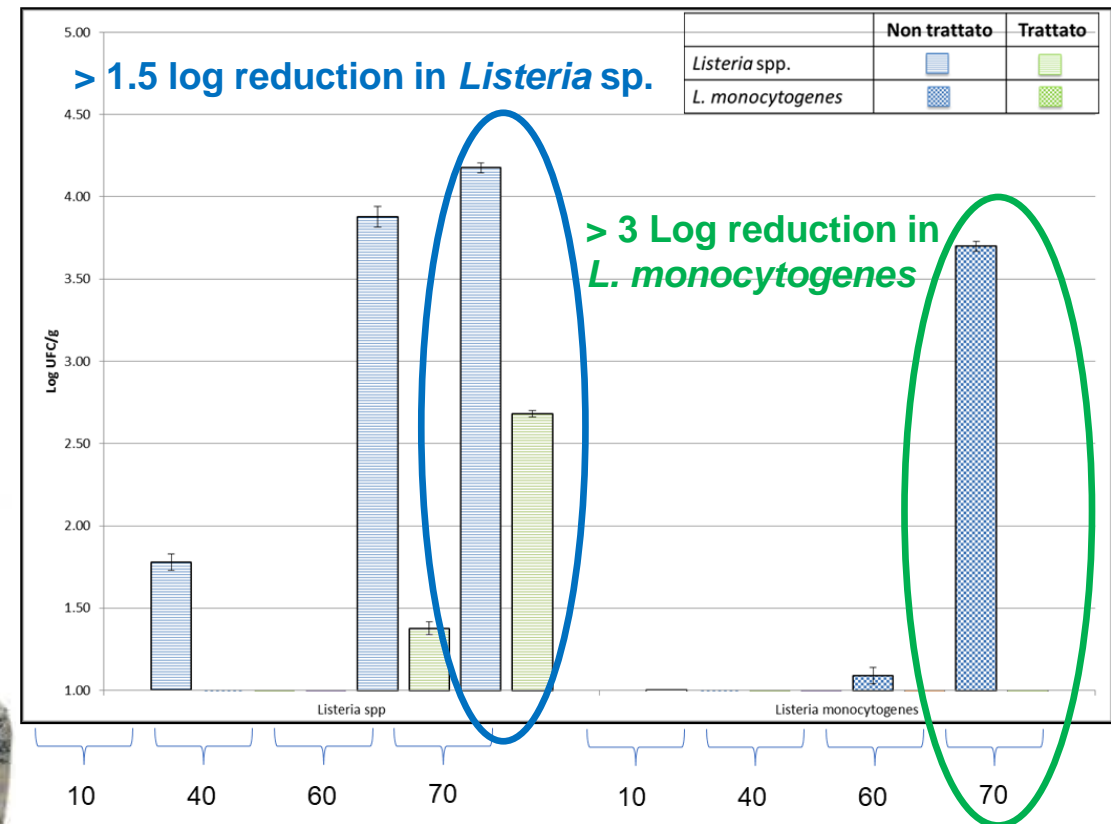
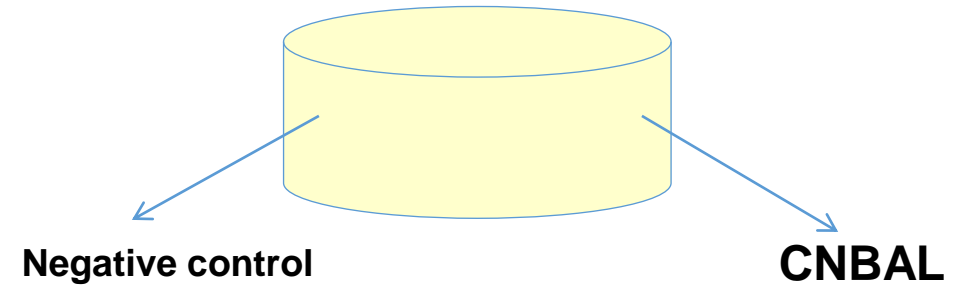
Lactococcus lactis qui produit de la Nisin/Lactococcin

NSLAB efficaces contre Listeria

Carnobacterium sp.: CNBAL

L. plantarum: LPAL

Production
de
molécules
inhibitrices
(bactériocines)



Cultures protectrices : conclusions

- Les aliments fermentés ont de nombreux bienfaits santé, plusieurs étant liés aux **microorganismes** présents et à leur effet sur le **microbiome intestinal**
- Ces microorganismes peuvent être caractérisés pour leur **potentiel probiotique**, mais plusieurs bienfaits santé sont **espèce-dépendants** et non pas seulement souche-dépendants
- Les probiotiques peuvent être ajoutés aux aliments en autant qu'ils soient testés dans les **mêmes conditions**
- Les bactéries lactiques peuvent aussi être utilisées comme **cultures protectrices**, mais ça ne réglera pas **tous les problèmes...**



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Conclusions générales

- Les aliments fermentés ont de nombreux bienfaits santé, plusieurs étant liés aux **microorganismes** présents et à leur effet sur le **microbiome intestinal**
- Ces microorganismes peuvent être caractérisés pour leur **potentiel probiotique**, mais plusieurs bienfaits santé sont **espèce-dépendants** et non pas seulement souche-dépendants
- Les probiotiques peuvent être ajoutés aux aliments en autant qu'ils soient testés dans les **mêmes conditions**
- Les bactéries lactiques peuvent aussi être utilisées comme **cultures protectrices**, mais ça ne réglera pas **tous les problèmes...**



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

Remerciements

- Le CEFQ
- Mon équipe chez Biena
- Mon microbiome



Biena

POUR
TOUS VOS
BESOINS EN
CULTURES

laitières

A photograph showing approximately 20 rectangular blocks of yellow cheese, possibly cheddar, arranged in a circular pattern on a stainless steel surface. The blocks are oriented with their long sides facing outwards, creating a ring. The center of the ring is empty. The lighting is bright, casting soft shadows. In the background, a white pipe is visible. The overall scene suggests a food preparation or presentation setup.

Questions?

CAUSERIE FROMAGÈRE

CEFR



6 juin 2023

De 14h00-15h30

**Les effets de la supplémentation lipidique
de la vache laitière sur les propriétés du
beurre et du fromage**

**Julien Chamberland, Rachel Gervais et Guillaume
Brisson**

