

Colloque « Pain au levain, entre tradition et modernité »

Le levain, un microbiote riche de diversité

Elisa MICHEL

28/11/16

elisa.michel@supagro.inra.fr / elisa.michel@oniris-nantes.fr

www6.inra.fr/bakery



Qu'est-ce que le levain?

Réglementation : décret n° 93-1074 >

pâte à base de farine et d'eau,
fermentation de 24h naturelle

Qu'est-ce qu'un microbiote?

Ensemble des micro-organismes (bactéries,
virus, parasites, champignons...) vivant dans
un environnement spécifique

Qu'est-ce qu'une espèce?

Fondée classiquement sur le principe
d'**interfécondité**

Ou sur le niveau de **similarité des génomes** et des
ADN ribosomiques

CLASSIFICATION PHYLOGÉNÉTIQUE DU VIVANT

D'après H. Le Guyader, G. Lecointre, P. Lopez-Garcia

- = photosynthétiques
- = méthanogénétiques
- = chimiosynthétiques
- = connus seulement par leur ARNr

Eucaryotes pluricellulaires : ★

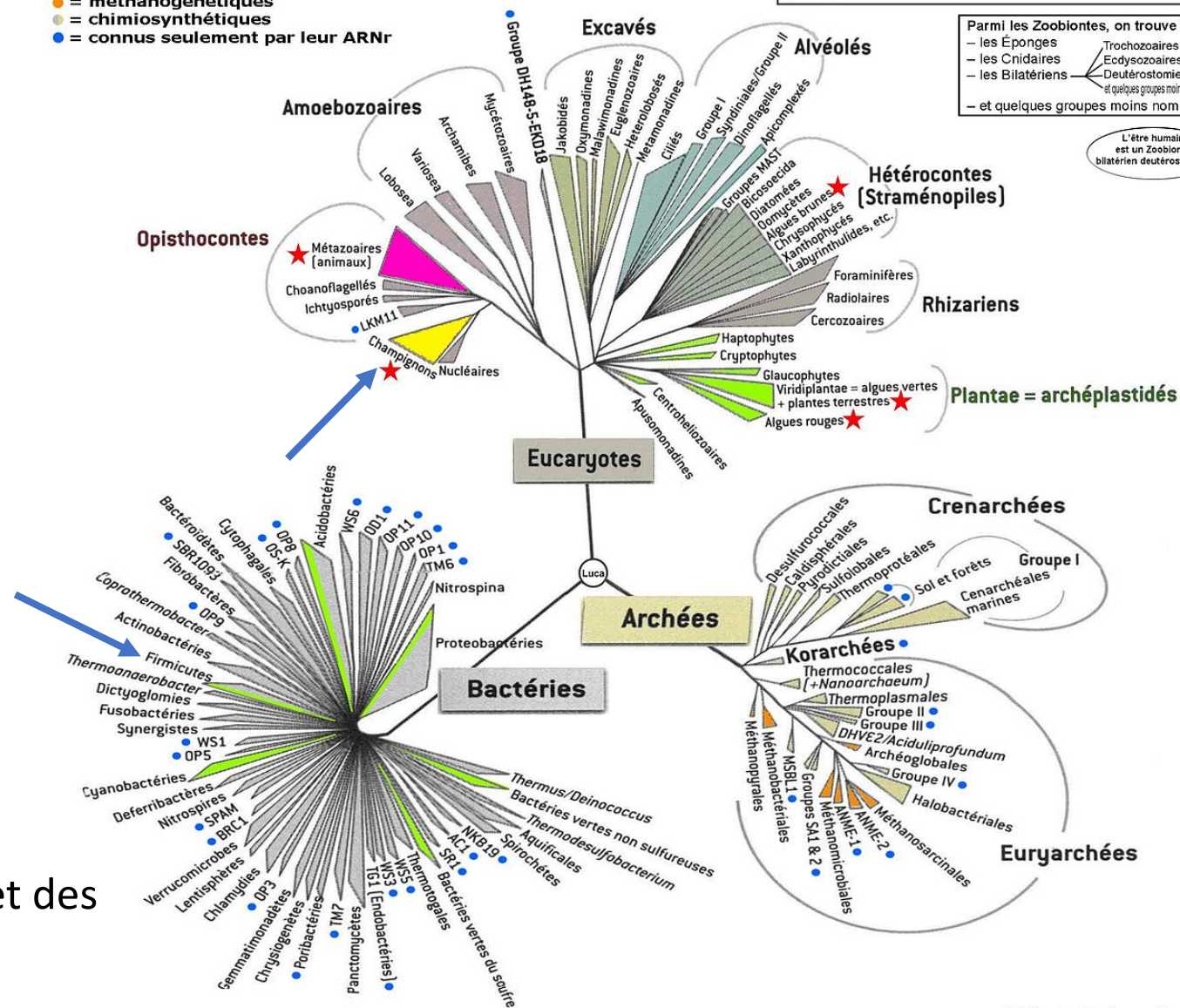
- = Zoobiontes (Animaux)
- = Mycètes (Champignons et Myxomycètes)
- = Chlorobiontes (Végétaux)

Parmi les Zoobiontes, on trouve :

- les Éponges
- les Cnidaire
- les Bilatériens
- et quelques groupes moins nombreux

→ Trochozoaires
→ Ecdysozoaires
→ Déutérostomiens
et quelques groupes moins nombreux

L'être humain
est un Zoobionte
bilatérien deutérostomien



Le microbiote du levain

Bactéries lactiques (+ de 50 espèces décrites)

Lactobacillus (*L. sanfranciscensis*),
Pediococcus, *Leuconostoc*, *Weissella*

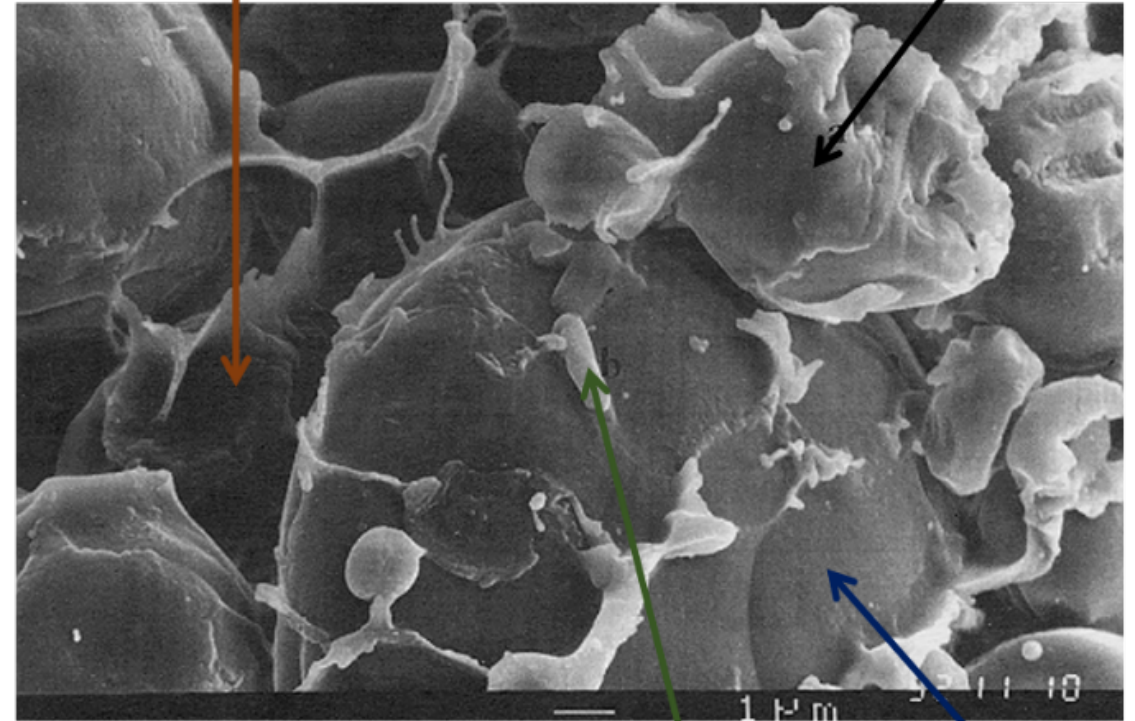
$$\text{Ratio} = \frac{100}{1}$$

Levures (29 espèces décrites)

Saccharomyces (*S. cerevisiae*), *Kazachstania*,
Wickerhanomyces, *Pichia*, *Torulaspora*

Réseau de gluten

Levure



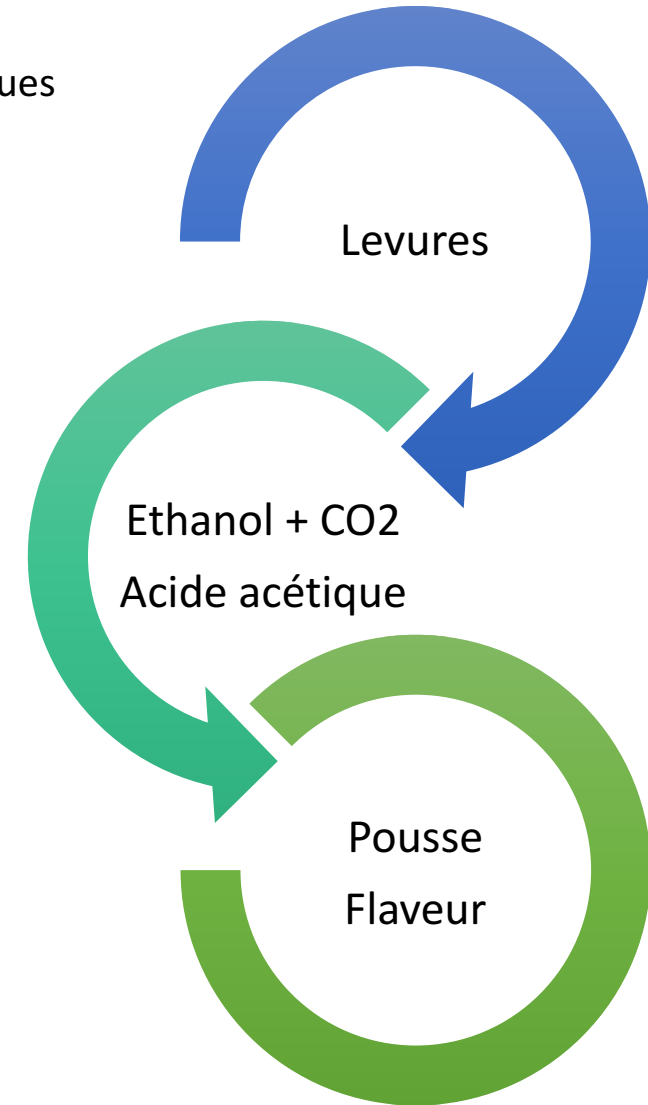
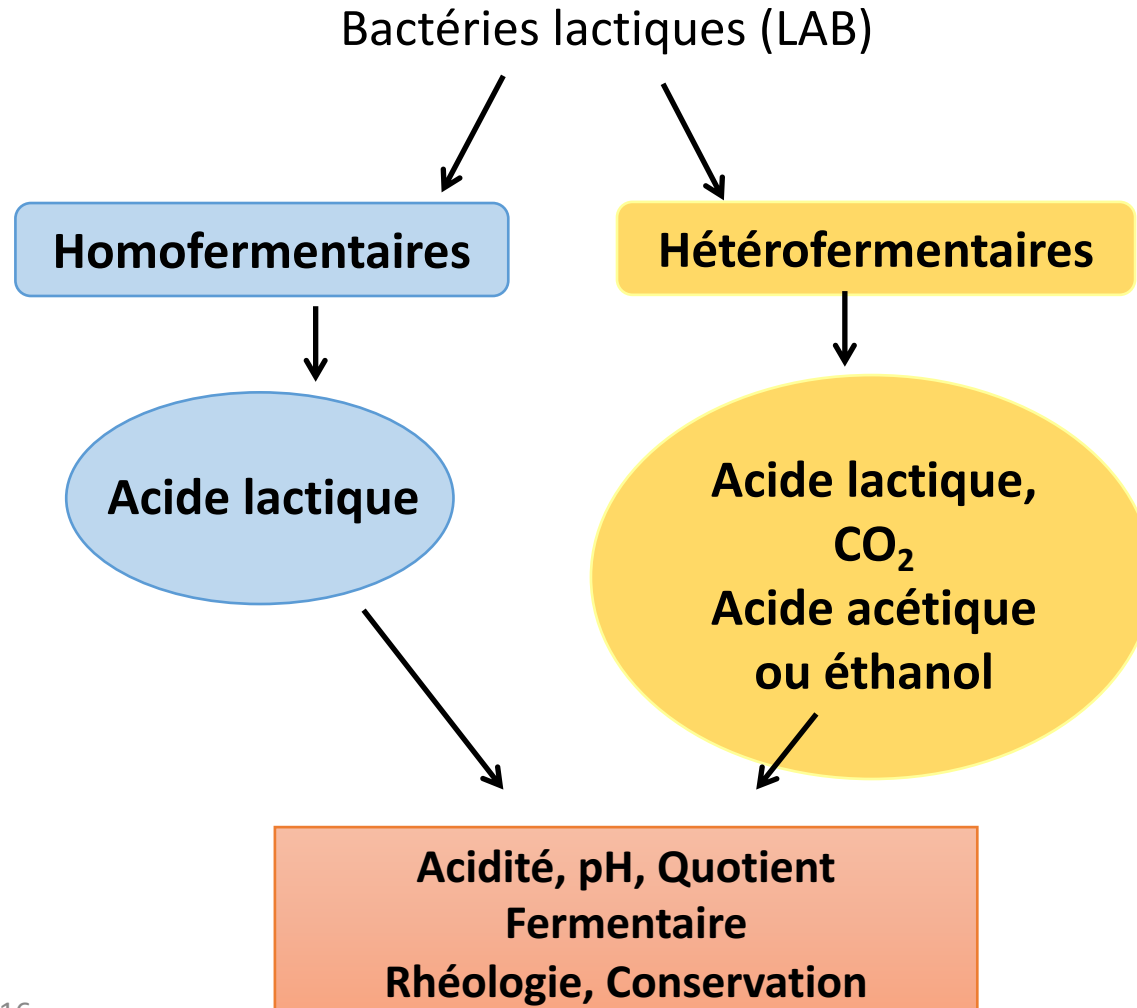
Bactérie

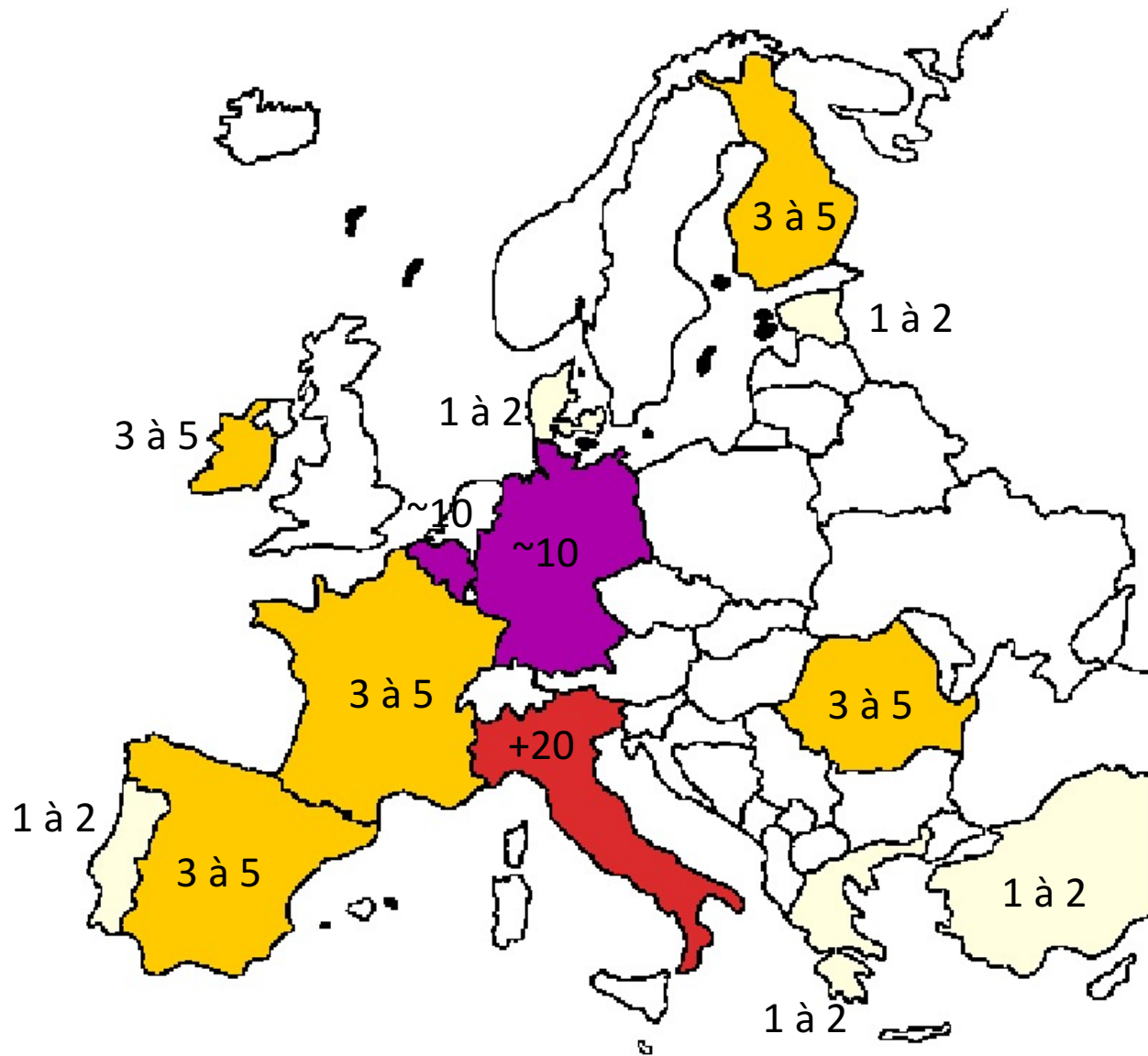
Grain d'amidon

Le rôle du microbiote des levains

Substrats pré-existants : **Glucose, Saccharose, Fructose**, ...et acides organiques

Substrat issu activité amylase : **Maltose**





Nombre de publications

Diversité du microbiote
dans les levains
européens



Et le levain français ?



Projet
ANR
Bakery

Boulangers de l'étude

Utilisation levains naturels et de
farines issues agriculture intégrée ou
biologique

30 boulangers

Région
géographique

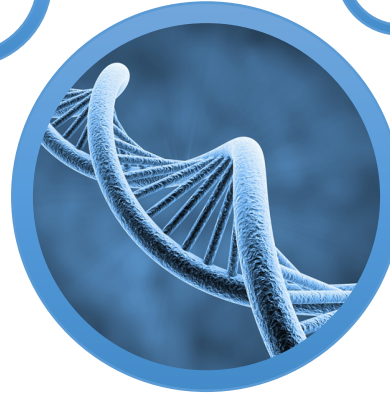
Pratiques boulangères
Artisan boulanger
Paysan boulanger
PME



Méthodes d'analyse du levain

Microbiologie classique

Dénombrements
Identifications des isolats
par séquençage Sanger



Biologie Moléculaire

Extraction de l'ADN total du levain
Séquençage
Analyses bio-informatiques
PCR quantitative



Analyses Physicochimiques

pH, TTA
Acide lactique, acétique
Quotient fermentaire

Dénombrements

Bactéries

Moyenne: **$1,23 \cdot 10^9$ UFC/g**

Compris entre $3,60 \cdot 10^5$ et $4,17 \cdot 10^9$

Levures

Moyenne: **$2,16 \cdot 10^7$ UFC/g**

Compris entre $3,58 \cdot 10^5$ et $9,23 \cdot 10^7$

Analyses physico-chimiques

pH

Moyenne: **3,80**

Compris entre 3,54 et 4,03

TTA

Moyenne: **17,44 mL de NaOH 1N**

Compris entre 13 et 27,2

Quotient fermentaire

Moyenne : **5,32**

Compris entre 1,99 et 10,3

$$\frac{(Acide\ lactique * 60)}{(Acide\ acétique * 90)}$$

Espèces bactériennes détectées dans les 30 levains

- 498 isolats identifiés
- 19 espèces différentes
- Par levain, 1 à 5 espèces

- Essentiellement du genre *Lactobacillus*
- Trois espèces majoritaires :
Lactobacillus sanfranciscensis,
Lactobacillus curvatus
Lactobacillus brevis

L. sanfranciscensis
L. curvatus
L. pentosus
L. kimchi
L. sakei
L. hammesii
L. plantarum
L. brevis
L. paralimentarius
L. pontis
L. paracasei
L. diolivorans
L. parabuchneri
L. xiangfangensis
L. heilongjiangensis
L. koreensis
Leuconostoc citreum
Pediococcus pentosaceus
Weissella sp

Espèces de levures détectées dans les 30 levains

- 923 isolats identifiés
- 10 espèces différentes
- Par levain, 1 à 4 espèces

- Essentiellement des genres *Saccharomyces* et *Kazachstania*
 - Trois espèces majoritaires : *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania humilis* et *Kazachstania bulderi*

Saccharomyces cerevisiae
Saccharomyces bayanus
Kazachstania unispora
Kazachstania servazzii
Kazachstania bulderi
Kazachstania barnettii
Torulaspora delbruecki
Kazachstania saulgeensis
Kazachstania humilis
Issatchenkia orientalis

Conclusion

- ❖ Première étude sur la diversité des levains de blé « BIO »
- ❖ 1421 souches analysées de 30 levains différents
- ❖ Identification de 10 espèces de levures et 19 espèces de bactéries dont une nouvelle espèce de levure (Jacques *et al.*, 2016)
- ❖ Pas d'effet géographique
- ❖ Effet de la pratique boulangère

La France conserve une
diversité du microbiote des
levains !

Remerciements

www6.inra.fr/bakery

- Les collaborateurs du projet Bakery
- L'équipe brésilienne: *Kazachstania saulgeensis*
- Les étudiants: Emilie Lhomme, Charlotte Urien, Yoann Robert, Josette Bessière, Johan Ramsayer, Candice Aulard, Clarisse Montfort, Marion Deffrasnes, Héloïse Debroise
- Jacques N, Sarilar V, Urien C, Lopes MR , Morais CG, Uetanabaro APT, Tinsley CR, Rosa CA, Sicard D, and S Casaregola. 2016. Three novel ascomycetous yeast species of the Kazachstania clade, *Kazachstania saulgeensis* sp. nov., *Kazachstania serrabonitensis* sp. nov. and *Kazachstania australis* sp. nov. Reassignment of *Candida humilis* to *Kazachstania humilis* f. a. comb nov and *Candida pseudohumilis* to *Kazachstania pseudohumilis* f. a. comb. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. doi: [10.1099/ijsem.0.001495](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001495)
- Michel E, Monfort C, Deffrasnes M, Guezenec S, Lhomme E, Barret M, Sicard D, Dousset X and B Onno. 2016 Characterization of relative abundance of lactic acid bacteria species in French organic sourdough by cultural, qPCR and MiSeq high-throughput sequencing methods, International Journal of Food Microbiology, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.034>
- Lhomme E, Onno B, Chuat V, Durand K, Orain S, Valence F, Dousset X, and M-A Jacques. 2016. Genotypic diversity of *Lactobacillus sanfranciscensis* strains isolated from French organic sourdoughs. International Journal of Food Microbiology, Volume 226, Pages 13-19
- Lhomme E, Urien C, Legrand J, Dousset X, Onno B and D Sicard. 2016. Sourdough microbial community dynamics: An analysis during French organic bread-making processes. Food Microbiology, Volume 53, Pages 41-50, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.014>
- Lhomme E, Orain S, Courcoux P, Onno B and X Dousset 2015. The predominance of *Lactobacillus sanfranciscensis* in French organic sourdoughs and its impact on related bread characteristics. International Journal of Food Microbiology. Volume 213, Pages 40-48, <http://dx.doi.org.gate1.inist.fr/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.010>

Colloque « Pain au levain, entre tradition et modernité »

Le levain, un microbiote riche de diversité

Elisa MICHEL

28/11/16

elisa.michel@supagro.inra.fr / elisa.michel@oniris-nantes.fr

www6.inra.fr/bakery

