



HAL
open science

Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante

Amandine Fessard

► To cite this version:

Amandine Fessard. Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante. Sciences agricoles. Université de la Réunion, 2017. Français. NNT : 2017LARE0033 . tel-01974108

HAL Id: tel-01974108

<https://theses.hal.science/tel-01974108>

Submitted on 8 Jan 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE

Pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université de La Réunion

Spécialité : Agroalimentaire, Biotechnologies alimentaires et Sciences des aliments

Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante

Par Amandine FESSARD

Soutenue publiquement le 27 Novembre 2017

Composition du jury :

Dr. M-C CHAMPOMIER-VERGES	Directrice de recherche, INRA	Rapporteur
Pr. Emmanuel COTON	Professeur, Université de Bretagne	Rapporteur
Dr. Christine ROBERT DA SILVA	Maître de conférences, Université de la Réunion	Examinatrice
Pr. Theeshan BAHORUN	Professeur, Université de Maurice	Examineur
Pr. Fabienne REMIZE	Professeur, Université de la Réunion	Directrice
Pr Emmanuel BOURDON	Professeur, Université de la Réunion	Co-directeur

A Fabrice et à ma famille...

Remerciements

*Ces travaux de thèse ont été réalisés au sein de l'UMR **QUALISUD** (UMR C-95, Université de La Réunion, CIRAD, Université de Montpellier, Montpellier SupAgro, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse), dirigé par Monsieur Dominique **PALLET** et ont été financés par la **Région Réunion et les fonds Européens (FEDER)**.*

Je tiens à adresser à la Région Réunion mes plus sincères remerciements pour l'obtention de cette allocation de recherche et de m'avoir permis de réaliser ce travail pendant trois ans.

A Monsieur Dominique PALLET,

*Je vous remercie de m'avoir accueilli au sein de votre UMR **QUALISUD** et de m'avoir donné un avis favorable pour mon recrutement en tant qu'ATER.*

A Madame Fabienne REMIZE,

Fabienne, je te remercie du fond du cœur d'avoir excellemment dirigé ces travaux de thèse, de m'avoir enseigné tout ce que tu sais sur les bactéries lactiques et la fermentation pendant presque 4 ans. Merci de m'avoir épaulé, soutenu et encouragé, merci d'avoir eu confiance et cru en moi, particulièrement dans les moments qui ont été difficiles pour moi. En tant que Professeur universitaire, malgré ton emploi du temps très chargé, tu as toujours été présente lorsque j'ai eu besoin de toi. J'espère travailler encore longtemps à tes côtés sur la fermentation lactique des fruits. Je t'adresse ici toute ma gratitude.

A Monsieur Emmanuel BOURDON,

Manu, je te remercie du fond du cœur d'avoir co-dirigé ces travaux, de m'avoir soutenu depuis le master jusqu'en thèse. Je te remercie pour tes nombreux conseils, tes compliments et ta positivité, qui m'ont extrêmement aidé à réaliser ce long travail. Je t'exprime ici toute ma reconnaissance.

A Monsieur Theeshan BAHORUN,

Je vous adresse mes plus sincères remerciements pour vos précieux conseils et pour avoir contribué à l'avancement de ces travaux. Je vous remercie pour votre compréhension, même si je n'ai pas pu y rester, merci de m'avoir accueilli au CBBR à Maurice.

J'exprime mes plus sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury qui ont accepté de juger ces travaux :

Madame Marie-Christine CHAMPOMIER-VERGES (INRA)

Monsieur Emmanuel COTON (Université de Bretagne Occidentale)

Monsieur Theeshan BAHORUN (Université de Maurice)

Madame Christine ROBERT DA SILVA (Université de la Réunion)

Je remercie Monsieur Yanis CARO, Madame Catherine FONTAGNE-FAUCHER et Madame Sylvie LORTAL pour avoir participé aux comités de suivi de thèse, m'avoir fait part de vos connaissances et guidé dans la poursuite de mes travaux.

Je remercie Madame Magali DELERIS-BOU et Madame Sybille KRIEGER-WEBER (LALLEMAND), Madame Stella PLANCHON (CTCPA) et Monsieur Hervé ALEXANDRE (Université de Bourgogne) pour vos souches de bactérie lactique qui ont été indispensables à la réalisation de ces travaux.

Un grand merci à Monsieur Olivier MEILLAC pour m'avoir accueilli au CYROI.

Je remercie Sophie ASSEMAT et Marina CHOPINET pour votre aide précieuse dans les analyses sensorielles. Je n'avais jamais participé à des analyses sensorielles et vos enseignements ont éveillé en moi un plaisir pour l'organisation d'analyses sensorielles.

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué à ces travaux :

Emilie Vienne et Ashish Kapour, vous avez été des stagiaires appliqués dans votre travail et je vous remercie pour cela.

Kelly Bradley et Axelle Septembre-Malaterre, je vous remercie énormément pour toute votre aide pour les jus d'ananas frais et Axelle, je te remercie énormément pour ton aide pour le test ORAC.

Philippe Rondeau, merci pour l'appareil à électrophorèse.

Jessica Patche, je te remercie pour ton aide dans l'extraction des LDLs. Aurélie Catan, merci infiniment pour les échantillons de sang, indispensables au test hémolyse.

Mathilde Hoarau, je te remercie pour ton aide dans la mise en place des analyses sensorielles et Jérôme Minier pour toute ton aide dans l'analyse HPLC des sucres.

Lynda S., je te remercie infiniment pour ton aide dans toute la partie administrative.

Je remercie également la direction de l'ESIROI pour m'avoir permis de réaliser mes expériences au sein de ses laboratoires ainsi que de m'avoir attribué un poste d'ATER au sein de son école. Et un grand merci à tout le personnel technique de l'ESIROI, Manu, Mathieu, Nicolas et spécialement Cathie pour votre soutien dans toute la partie technique.

Un grand merci à Kévin et Niresha, je n'oublierai jamais tout ce que vous avez pour moi.

A mes proches, un grand merci pour m'avoir épaulé pendant ces longues années d'étude. Même si les moments étaient parfois très difficiles, vous avez toujours été présents, spécialement toi qui es près de moi depuis ma naissance. Je n'ai pas assez de mots pour vous exprimer ma reconnaissance. Je remercie tous ceux qui sont près de Fabrice et moi, chaque jour. Ensemble, nous formons une famille soudée. A tous, je vous dis un grand merci.

Je remercie du fond du cœur M. Jean-Claude et sa famille pour tout ce que vous faites pour Fabrice et moi.

A Fabrice, la personne la plus importante de ma vie. Je ne te remercierai jamais assez pour ce que tu fais pour moi, les mots semblent si faibles pour exprimer ce que je ressens pour toi. Merci de m'avoir épaulé, soutenu, encouragé et consolé pendant ces longues années d'étude, dans les bons comme dans les mauvais moments. Merci de m'avoir écouté quand je te parlais de bactéries lactiques, encore et encore de bactéries lactiques ! Merci d'avoir cru en moi. Tu m'as toujours aidé à ne pas baisser les bras et sans toi à mes côtés, je n'y serai jamais arrivée. J'ai tellement de chance de t'avoir à mes côtés et je remercie Dieu pour ça.

Table des matières

LISTE DES FIGURES.....	1
LISTE DES TABLEAUX	2
LISTE DES ABREVIATIONS	3
INTRODUCTION GENERALE	5
PARTIE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	9
CHAPITRE I : La fermentation lactique des produits végétaux.....	11
I.1. Les aliments végétaux, sources de nutriment.....	11
I.1.1. L'eau	11
I.1.2. Nutriment essentiels : glucides, lipides et protéines.....	12
I.1.3. Les minéraux.....	12
I.1.4. Les fibres alimentaires	13
I.1.5. Les vitamines	13
I.1.6. Les caroténoïdes.....	14
I.1.7. Les composés phénoliques.....	15
I.1.8. Lutte contre les maladies métaboliques liées à un stress oxydant	16
I.2. La fermentation lactique des aliments végétaux.....	17
I.2.1. La fermentation lactique à travers le temps et l'espace	17
I.2.2. Intérêt de la fermentation lactique	18
I.2.3. Quelques produits végétaux fermentés à travers le monde.....	20
La choucroute	21
Le kimchi	21
Le kombucha	22
I.3. Les bactéries lactiques	22
I.3.1. Principales caractéristiques.....	22
La voie homo-fermentaire	23
La voie hétéro-fermentaire	23
I.3.2. Taxonomie	24
I.3.3. Les molécules d'intérêt.....	24
I.3.3.1. L'acide lactique	25
I.3.3.2. Les exo-polysaccharides	25
I.3.3.3. Les bactériocines	26
I.3.3.4. Autres substances antimicrobiennes.....	27
I.4. Bénéfices nutritionnels et effets santé des aliments végétaux fermentés	28
I.4.1. La préservation et la durée de conservation.....	28
I.4.2. L'élimination des composés antinutritionnels	29
I.4.3. L'amélioration des propriétés sensorielles.....	30
I.4.4. La préservation des minéraux et des vitamines	31
I.4.5. L'amélioration de la digestibilité	32
I.4.6. Les probiotiques.....	32
I.4.7. Augmentation des capacités antioxydantes	33
CHAPITRE II : Ecosystèmes microbiens des fruits et légumes fermentés.....	35
II.1. Pilotage de la fermentation lactique des fruits et des légumes.....	35
II.1.1. Effet du pH	35

II.1.2. Effet de la température	36
II.1.3. Effet de la teneur en sucre et en sels.....	36
II.1.4. La composition de l'aliment	37
II.1.5. Le type de fermentation choisi	37
II.2. Les fermentations spontanées.....	37
II.2.1. Définition.....	37
II.2.2. Microorganismes impliqués	38
II.2.3. Exemple de fermentation lactique spontanée de fruits et légumes.....	41
Le kimchi	41
La choucroute	41
Les olives.....	42
II.2.4. Limitation des fermentations spontanées	42
II.2.4.1. Risque de contamination.....	42
II.2.4.2. La production d'amines biogènes	43
II.3. Les fermentations contrôlées.....	44
II.3.1. Définition.....	44
II.3.2. Les ferments ou starters	44
II.3.2.1. Les starters allochtones	45
II.3.2.2. Les starters autochtones	47
II.3.2.3. Les critères de sélection	48
II.3.3. Intérêt des fermentations contrôlées	49
II.4. Émergence des starters autochtones	50
II.4.1. Émergence des jus de fruits et légumes fermentés	50
II.4.2. Propriétés fonctionnelles des starters	51
II.4.3. Exemples d'application et souche de bactéries lactiques utilisées	51
II.4.4. Du starter autochtone vers les starters commerciaux	53
CHAPITRE III : Utilisation de <i>Weissella</i> comme starters	55
<i>Revue : Why are Weissella spp. not used as commercial starter cultures for food fermentation</i>	<i>55</i>
PARTIE II : PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	89
CHAPITRE I.....	91
Diversité de la flore bactérienne lactique présente à la surface de fruits et légumes de la Réunion.....	91
Introduction.....	93
Résultats	94
<i>Article 1 : Tropically grown fruits and vegetables as a diversity pool for lactic acid bacteria.....</i>	<i>94</i>
Résultats complémentaires.....	130
Introduction	130
Matériels et méthodes.....	130
Résultats et Discussion.....	131
Discussion et perspectives	136
CHAPITRE II.....	139
Augmentation de l'activité antioxydante de préparations/boissons végétales par fermentation lactique	139
Introduction.....	141
Résultats	145
<i>Article 2 : Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas.....</i>	<i>145</i>

Résultats complémentaires.....	167
Introduction	167
Matériels et méthodes.....	167
Résultats et Discussion.....	168
Discussion et perspectives	175
DISCUSSION ET PERSPECTIVES GENERALES	177
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	183

Liste des figures

Figure 1 : Les apports alimentaires journaliers recommandés par la pyramide alimentaire [15]	11
Figure 2 : Molécule de la vitamine C (A) et de la vitamine E (α -tocophérol) (B).....	14
Figure 3 : Molécules de la vitamine A et des principaux caroténoïdes	14
Figure 4 : Les grandes familles de composés phénoliques [22].....	15
Figure 5 : Bactéries lactiques sous forme de bacilles arrondies (A), de bacilles (B) ou de coques (C), colorées au bleu de méthylène	23
Figure 6 : Stéréoisomères L(+) et D(-) de l'acide lactique	25
Figure 7 : Représentation schématique des possibles effets bénéfiques des EPS au niveau de l'organisme humain, d'après [51]	26
Figure 8 : Molécule d'acide phytique (A) et complexe formé entre l'acide phytique et les métaux (B).....	29
Figure 9 : Mécanisme de dégradation de la linamarine (GC) par la linamarase.....	30
Figure 10 : Profil sensoriel comparatif de smoothies fermentés et non fermentés [7]	31
Figure 11 : Processus de fermentation des fruits et des légumes, d'après [103]	39
Figure 12 : Succession de bactéries lactiques et évolution du pH pendant la fermentation du kimchi, d'après [9].....	41
Figure 13 : (a) Ecologie microbienne et (b) évolution du pH pendant la fermentation spontanée d'olives noires, d'après [101]	42
Figure 14 : Cinétique de formation d'amines biogènes pendant une fermentation de choucroute [10]	44
Figure 15 : Exemple de starter commercial pour la fermentation de légumes.....	45
Figure 16 : Exemple de diagramme de fabrication de fruits et légumes fermentés par des bactéries lactiques autochtones, d'après [9]	52
Figure 17 : Produits d'amplification obtenus après séquençage du gène recA pour les espèces <i>Lactobacillus</i>	132
Figure 18 : Dendrogramme des profils (GTG) ₅ d'isolats et souches du genre <i>Lactobacillus</i>	132

Figure 19 : Tolérance aux sels biliaires (0,1 %) des bactéries lactiques isolées de papaye, de tomate et d'achards de la Réunion en comparaison à des souches commerciales de <i>Lactobacillus</i>	134
Figure 20 : Effet de la pasteurisation sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des jus d'ananas (A) et des pulpes de fruit (B).	170
Figure 21 : Activité anti-radicalaire ($\mu\text{M TE}$) mesurée par le test ORAC pour les jus d'ananas fermentés (A) et les pulpes de papaye fermentées (B).....	172
Figure 22 : Evolution de la teneur en composés phénoliques et de l'activité antioxydante au cours de la fermentation lactique de jus d'ananas Victoria	173
Figure 23 : Profil descriptif sensoriel des jus frais non fermentés et des jus frais fermentés par <i>W. cibaria</i> 64 et <i>Lc. pseudomesenteroides</i> 12b.....	174
Figure 24 : Métabolisme enzymatique potentiellement impliqué dans la libération de composés phénoliques au cours de la fermentation lactique de jus d'ananas	180

Liste des tableaux

Tableau 1 : Exemples de produits végétaux fermentés consommés dans le Monde	20
Tableau 2 : Bactéries lactiques impliquées dans différents types d'aliments à base de fruits et légumes obtenus par une fermentation spontanée.....	40
Tableau 3 : Critères technologiques, sensoriels, nutritionnels et sanitaires pour la sélection de starters pour la fermentation de fruits et de légumes, d'après [9]	48
Tableau 4 : Exemples de bactéries lactiques autochtones sélectionnées pour la fermentation de fruits et de légumes.....	53
Tableau 5 : Récapitulatif des isolats les plus performants aux différentes conditions testées	135
Tableau 6 : Composition en nutriments de l'ananas, la papaye, la mangue et d'infusions de thé [140,141]	143
Tableau 7 : Composés phénoliques et acides organiques présents dans l'ananas, la papaye, la mangue et les infusions de thé [137,141–144].....	144

Liste des abréviations

AAPH	2,2'-Azobis [2-methyl- propionamidin]dihydrochloride
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine diphosphate
AGE	Acide gallique équivalent
ATP	Adénosine triphosphate
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bd.</i>
CI₅₀	Concentration inhibitrice médiane
CNH	Cyanure d'hydrogène
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EFSA	European Food Safety Authority
EMP	Embden-Meyerhof-Parnas
<i>Enterococcus</i>	<i>Ec.</i>
EPS	Exo-polysaccharide
<i>Escherichia</i>	<i>E.</i>
<i>Fructobacillus</i>	<i>Fb.</i>
GC	Glucoside cyanogénique
GRAS	Generally Recognized As Safe
HePS	Hétéro-polysaccharide
HoPS	Homo-polysaccharide
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb.</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L.</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Lc.</i>
MRS	Man, Rogosa, Sharpe
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
<i>Oenococcus</i>	<i>Oc.</i>
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PAD	Phenolic acid decarboxylase
<i>Pediococcus</i>	<i>Pc.</i>
PNNS	Plan National Nutrition Santé
PSC	Polysaccharide capsulaire
QPS	Qualified Presumption of Safety
REGWQ	Ryan, Einot, Gabriel, Welch q
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Superoxyde dismutase
<i>Streptococcus</i>	<i>Sc.</i>
TE	Trolox équivalent
UFC	Unité Formant Colonie
UV	Ultraviolet
<i>Weissella</i>	<i>W.</i>

Introduction générale

La société occidentale d'aujourd'hui est une société de consommation fortement touchée par des maladies métaboliques, telles que le diabète, l'obésité ou les maladies cardiovasculaires. Ces maladies résultent de l'exposition au stress oxydant, au tabac, à la sédentarité, à la malnutrition [1]. Pour réduire l'incidence de ces maladies, la consommation des fruits et légumes et des végétaux riches en antioxydants, est recommandée. Les végétaux constituent une part essentielle d'un régime alimentaire sain : ils sont riches en minéraux, vitamines, fibres, carbohydrates et surtout en antioxydants [2]. Les antioxydants présents dans les végétaux ont la capacité de piéger les espèces réactives nocives pour les cellules humaines et qui sont présentes en trop grande quantité en condition de stress oxydant. Parmi les îles de l'Océan Indien, la Réunion est une des plus fortement touchées par le diabète et l'obésité. Le diabète est trois fois plus fréquent à la Réunion qu'en France métropolitaine [3]. Réduire les complications liées au diabète et à l'obésité est un enjeu capital pour la société réunionnaise. Ainsi, l'innovation et la conception de nouveaux produits alimentaires riches en antioxydants est l'une des voies envisagées parmi les actions déployées pour lutter contre ces maladies.

Que ce soit à la Réunion ou partout dans le monde, la plupart des fruits et des légumes que nous mangeons sont transformés. En effet, après récolte ces derniers se décomposent rapidement, à cause des microorganismes et des enzymes, naturellement présents. Leur durée de conservation étant limitée et afin de limiter les pertes, les fruits et les légumes sont très souvent transformés, que ce soit sous forme de jus, de confiture, de découpes, de préparations, etc. Dans la plupart des cas, des traitements de stabilisation sont appliqués comme le blanchiment, la pasteurisation ou le séchage. Cependant, les procédés impliquant une forte montée en température provoquent dans la majorité des cas une diminution de la teneur en composés hydrosolubles, comme les vitamines et les composés phénoliques [4,5]. Une diminution des capacités antioxydantes accompagne ainsi très souvent l'utilisation de ces procédés. D'autres procédés de transformation n'ont pas cet effet : c'est le cas de la fermentation lactique. La fermentation lactique, est un procédé de conservation et de transformation des aliments utilisé depuis des millénaires [6]. Elle joue un rôle dans les propriétés nutritionnelles des aliments, plus particulièrement celles des fruits et des légumes. La fermentation lactique est un procédé au cours duquel les sucres de l'aliment sont transformés par les bactéries lactiques en acide(s) organique(s), avec production éventuelle

d'alcool et de dioxyde de carbone. La production d'acides organiques crée un environnement stressant et inhibe la croissance d'autres microorganismes contaminants et pathogènes. Le produit fermenté obtenu est donc mieux conservé et moins riche en sucre gardant l'ensemble de ses bénéfiques nutritionnels, et présenterait un intérêt certain dans la lutte contre le diabète et l'obésité. Plusieurs études réalisées sur des fruits et des légumes, ont montré que la fermentation préservait les propriétés antioxydantes voire les augmentait [7,8]. Ainsi, la fermentation des fruits et des légumes constitue une voie à considérer dans la lutte contre les maladies liées à un stress oxydatif.

Les aliments fermentés peuvent être obtenus de deux façons différentes, soit de façon spontanée, soit par l'utilisation de ferments (ou « starters ») [9]. La fermentation spontanée est une fermentation qui met en jeu plusieurs microorganismes initialement présents à la surface du végétal. C'est une fermentation naturelle, non contrôlée et non prévisible. Le produit fermenté spontanément résulte de l'action combinée de plusieurs activités métaboliques de différents microorganismes [10,11]. Les caractéristiques et les propriétés sensorielles du produit peuvent être obtenues par « hasard » mais très souvent par les savoir-faire du préparateur. Au contraire, l'utilisation de ferments conduit à une fermentation contrôlée. La matière première est inoculée avec un ou plusieurs microorganismes dans le but d'accélérer le processus de fermentation et d'apporter des caractéristiques et des propriétés volontairement désirées [11,12]. Ce type de fermentation est plus sûr, la fermentation est suivie aisément, et les propriétés du produit obtenu sont intéressantes tant pour l'industriel que pour le consommateur. En contrepartie, la sélection préalable de ferments doit être menée. Les bactéries lactiques possèdent plusieurs actions bénéfiques que ce soit au niveau du produit obtenu ou au niveau des bénéfices pour le consommateur en améliorant les propriétés sensorielles et les propriétés nutritionnelles. Pendant la fermentation lactique, les bactéries lactiques synthétisent plusieurs molécules, telles que les acides organiques, les exopolysaccharides, les bactériocines. Par leur action enzymatique, elles libèrent également des composés phénoliques et améliorent ainsi leur biodisponibilité. Certaines bactéries lactiques sont reconnues en tant que probiotique, c'est-à-dire qu'elles possèdent plusieurs effets bénéfiques pour la santé de l'hôte. C'est pourquoi, ces dernières années, la recherche de starters de bactérie lactique s'est intensifiée, notamment pour la fermentation de fruits et de légumes, déjà riches en antioxydants. Ces dernières années ont vu également l'émergence de divers produits à base de fruits et de légumes fermentés : jus de tomate, carotte, haricots verts,

poivrons, ananas, purée de cerise [13]. Dans ce contexte, la recherche et la sélection de ferments fonctionnels et adaptés à la niche écologique ont guidé ces travaux.

Les starters utilisés dans l'industrie alimentaire sont très souvent isolés à partir de fermentations spontanées, où ces espèces se révèlent dominantes. Parmi les bactéries lactiques retrouvées dans les fermentations spontanées de fruits et légumes, on retrouve plusieurs espèces des genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Streptococcus* [14]. Dans les premières heures de fermentation, les espèces des genres *Weissella* et *Leuconostoc* sont très souvent dominantes. Les espèces de *Lactobacillus* finalisent ensuite la fermentation. Parmi les starters commercialisés pour l'industrie alimentaire, on retrouve *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Streptococcus* [12], mais pas *Weissella*, malgré le fait que ce genre soit retrouvé dominant dans plusieurs fermentations spontanées de végétaux. Nous nous sommes interrogés sur les caractères phénotypiques de ce genre en comparaison des autres bactéries lactiques et qui pourraient expliquer ce manque d'attractivité.

Ainsi, cette thèse a deux principaux objectifs :

- 1) Caractériser la flore bactérienne lactique présente sur des fruits et des légumes cultivés à la Réunion (envisagés comme matière première de fermentation), en particulier les espèces *Weissella*, connues pour être présentes à la surface de fruits et de légumes
- 2) Inventer des produits fermentés à partir de fruits tropicaux, afin d'en conserver voire d'augmenter les bénéfices nutritionnels, d'allonger la durée de conservation, et de proposer de nouveaux goûts aux consommateurs. L'élaboration de ces propriétés fonctionnelles requiert la sélection de bactéries lactiques appropriées.

Ce projet de thèse s'inscrit dans une double perspective : les fruits et les légumes sont essentiels pour la santé et indispensables pour lutter contre les troubles métaboliques, et l'utilisation de la fermentation lactique pour augmenter les propriétés nutritionnelles des fruits et des légumes, pour ainsi proposer de nouveaux goûts aux consommateurs. Nous inscrivons nos axes de recherche vers la sélection de starters autochtones capables de fermenter les fruits de l'île de La Réunion, en considérant notre niche écologique comme les fruits et les légumes cultivés à la Réunion.

La première partie de cette thèse sera consacrée à une étude bibliographique concernant la fermentation lactique des produits végétaux. Elle abordera la description des bactéries lactiques impliquées dans les fermentations de produits végétaux, les mécanismes

d'amélioration des propriétés nutritionnelles au cours de la fermentation lactique et la description du genre *Weissella*, retrouvé dans plusieurs aliments végétaux fermentés. Une revue publiée dans le journal *Fermentation* [Amandine Fessard, Fabienne Remize. Why are *Weissella* spp. not used as commercial starter cultures for food fermentation? *Fermentation* 2017, 3(3), 38; doi:10.3390/fermentation3030038] rédigée dans le cadre de nos travaux terminera cette partie.

La deuxième partie sera consacrée à la partie expérimentale. Les méthodes et les résultats seront répartis en deux chapitres. Chacun des chapitres présentera un manuscrit en préparation ou un article publié. Des résultats complémentaires seront également apportés. Une discussion générale et les perspectives qui découlent de ces travaux termineront ce manuscrit de thèse.

PARTIE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : La fermentation lactique des produits végétaux

I.1. Les aliments végétaux, sources de nutriments

Les aliments végétaux sont classés en différentes catégories : les produits amylacés (céréales et tubercules), les graines et/ou les noix, les légumes et les fruits. Les aliments d'origine végétale constituent une part importante de notre alimentation. Ils sont riches en nutriments essentiels tel que les minéraux, les vitamines, les fibres et les composés phénoliques. Le programme français PNNS (Plan National Nutrition Santé) recommande ainsi la consommation quotidienne d'au moins cinq portions de fruits ou légumes, de céréales et dérivés à chaque repas et de l'eau à volonté, selon la pyramide alimentaire représentée dans la **Figure 1**.

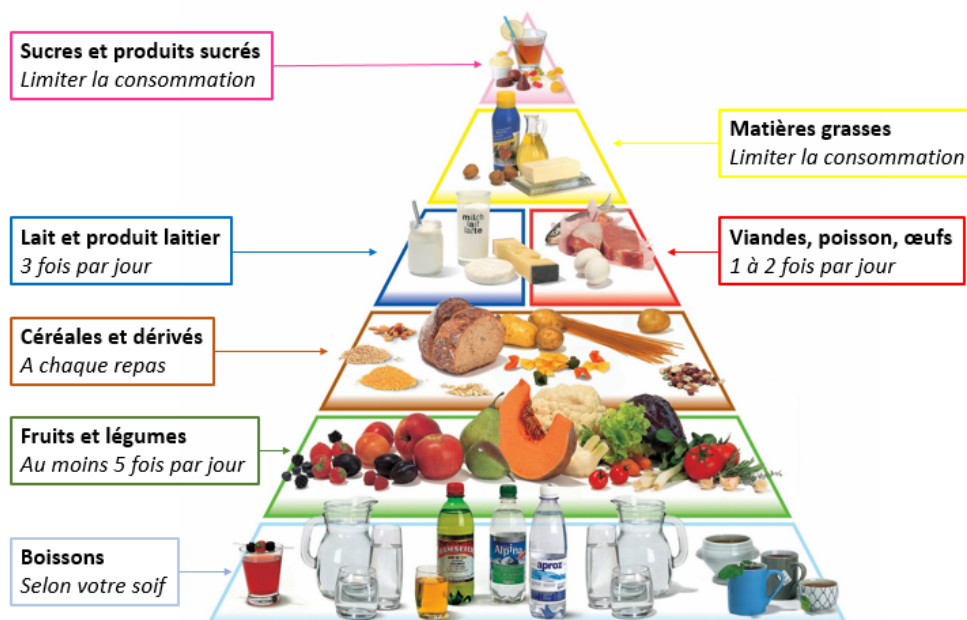


Figure 1 : Les apports alimentaires journaliers recommandés par la pyramide alimentaire [15]

I.1.1. L'eau

L'eau est le composé majoritairement présent dans les végétaux, soit plus de 90 % de la masse totale. L'eau est également le constituant quantitativement le plus important de l'organisme humain. Toutes les réactions métaboliques de notre organisme se déroulent en milieu aqueux. Les molécules d'eau aident également à stabiliser les structures des protéines. Et en tant que principal fluide de notre corps, l'eau sert de transporteur pour les minéraux, les vitamines, les sucres, les acides aminés et autres nutriments [16].

I.1.2. Nutriments essentiels : glucides, lipides et protéines

Les glucides, les lipides et les protéines sont également des nutriments essentiels. Ce sont les sources d'énergie de l'organisme et ils permettent d'assurer l'entretien de la vie cellulaire, la synthèse ou la réparation de certains constituants cellulaires et le fonctionnement de l'organisme (activité cérébrale, respiration, digestion). Ces composés sont principalement apportés par les aliments d'origine animale mais aussi par certains végétaux. Les fruits, les légumes et les céréales sont riches en glucose, fructose, saccharose, amidon et fibres alimentaires. Les acides gras essentiels, tels que l'acide linoléique (oméga 6) et l'acide α -linoléique (oméga 3) sont apportés par des huiles végétales telles que les huiles de noix ou de colza. Les acides gras essentiels sont importants car ils entrent dans la composition des lipides membranaires et jouent un rôle dans la fluidité membranaire. Enfin, certains végétaux sont riches en protéines végétales comme le sarrasin, le quinoa, les noix ou les haricots.

I.1.3. Les minéraux

Les minéraux sont des éléments indispensables au fonctionnement de l'organisme. L'organisme ne pouvant pas les synthétiser, ils doivent être apportés par l'alimentation. Les végétaux apportent à notre organisme des quantités considérables en minéraux. Selon leur importance quantitative dans le corps humain, les minéraux sont classés en trois catégories : les macroéléments, les microéléments et les oligoéléments. Les macroéléments sont ceux retrouvés en plus grande quantité dans l'organisme et regroupent le sodium (Na), le potassium (K), le calcium (Ca), le magnésium (Mg), le phosphore (P), le chlore (Cl) et l'azote (N). Les microéléments sont retrouvés en plus faible quantité et regroupent le fer (Fe), le cuivre (Cu), le cobalt (Co), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), l'iode (I), le fluor (F), le soufre (S) et le sélénium (Se) [17]. Les oligoéléments sont souvent classés avec les microéléments et sont plus retrouvés sous forme de traces dans l'organisme, c'est le cas du Cu, du Se, du Mn et du Co. Les minéraux sont indispensables à l'activité du corps humain, ils sont incorporés dans les membranes cellulaires, participent à la structure osseuse et sont essentiels à l'activité de certaines hormones, protéines et enzymes. Les noix, les bananes, les légumes verts, les herbes, les abricots sont riches en minéraux.

I.1.4. Les fibres alimentaires

Les fibres alimentaires appartiennent à la catégorie des glucides, plus précisément à la classe des polysides (composés de plus de 10 sucres). Ce sont les constituants de la paroi des cellules végétales. Les fibres alimentaires sont classées sous forme de glucides non assimilables car elles ne sont pas digérées par les enzymes du tube digestif et sont hydrolysées uniquement par la microflore du colon [18]. La pectine, la cellulose, l'hémicellulose, les hydrocolloïdes, les β -glucanes et les amidons résistants sont quelques fibres alimentaires consommées par l'Homme [19]. Les céréales, les légumineuses et les fruits sont très riches en fibres alimentaires. Les fibres absorbent les lipides et le cholestérol et facilitent leur élimination dans les selles, permettant de réduire les risques de maladie cardio-vasculaire. Elles permettent également de réguler la glycémie car elles retardent l'absorption des sucres et évitent l'augmentation trop rapide du taux de glucose dans le sang après les repas.

I.1.5. Les vitamines

Les vitamines sont des molécules organiques indispensables au développement et la croissance de l'être humain. L'organisme ne peut les synthétiser (excepté pour la vitamine D) et elles doivent être apportées en quantité suffisante par l'alimentation. A ce jour, il existe 13 vitamines, le groupe des vitamines B comprenant la vitamine B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 (niacine), B5 (acide pantothénique), B6 (pyridoxine), B7 (biotine), B9 (acide folique), B12 (cobalamine), la vitamine C (ou acide ascorbique), la vitamine A, la vitamine D, la vitamine E et la vitamine K. Elles sont classées en fonction de leur solubilité dans l'eau, les vitamines hydrosolubles comprennent la vitamine C et le groupe des vitamines B et les vitamines liposolubles comprennent les vitamines A, D, E et K. Les vitamines B sont les précurseurs de plusieurs coenzymes ayant une action bien spécifique et agissent en synergie dans l'organisme pour assurer les fonctions métaboliques [20]. Les vitamines C et E (**Figure 2**), de par leurs propriétés réductrices, sont de puissants antioxydants capables de piéger les espèces réactives. La vitamine C, hydrosoluble, protège les parties aqueuses alors que la vitamine E, liposoluble, protège les lipides membranaires de la peroxydation lipidique. La vitamine C est principalement apportée par les fruits frais (orange, citron pamplemousse, fraise, cassis, ananas). La vitamine E est principalement apportée par les huiles végétales et les noix. La vitamine D peut être apportée par les huiles de foie de poisson ou la chair de poissons gras, mais très rarement par les végétaux. Elle est la seule vitamine que l'organisme est capable de synthétiser. Elle peut être formée au niveau de la peau à partir du 7-

dehydrocholestérol sous l'action des rayons ultraviolets (UV) [21]. Elle est importante dans le processus de minéralisation des os car elle y favorise la fixation du calcium. La vitamine K est apportée par certains légumes verts comme les choux ou les épinards. Elle joue le rôle d'activateur des facteurs impliqués dans la coagulation sanguine. La vitamine A est apportée sous forme de caroténoïdes à l'organisme. Elle est indispensable à la vision et est un agent anti-infectieux.

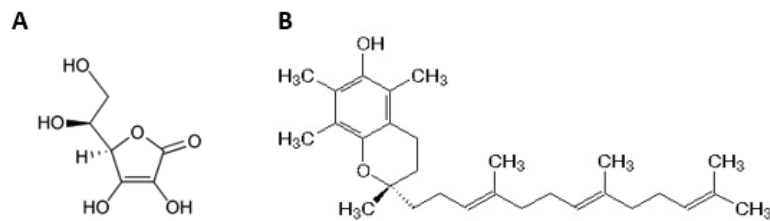


Figure 2 : Molécule de la vitamine C (A) et de la vitamine E (α-tocophérol) (B)

I.1.6. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels responsables de la couleur jaune orangé de certains fruits et légumes. Ce sont de puissants antioxydants capables de piéger les radicaux libres. Les caroténoïdes les plus importants sont le β-carotène, l'α-carotène, le lycopène, la lutéine, la zeaxanthine et la β-cryptoxanthine (**Figure 3**). Le β-carotène, l'α-carotène et la β-cryptoxanthine sont métabolisés au niveau du foie pour donner de la vitamine A. Les carottes, les épinards, les citrouilles, les tomates, les papayes, les mangues, les patates douces et les poivrons rouges sont riches en β-carotène [2].

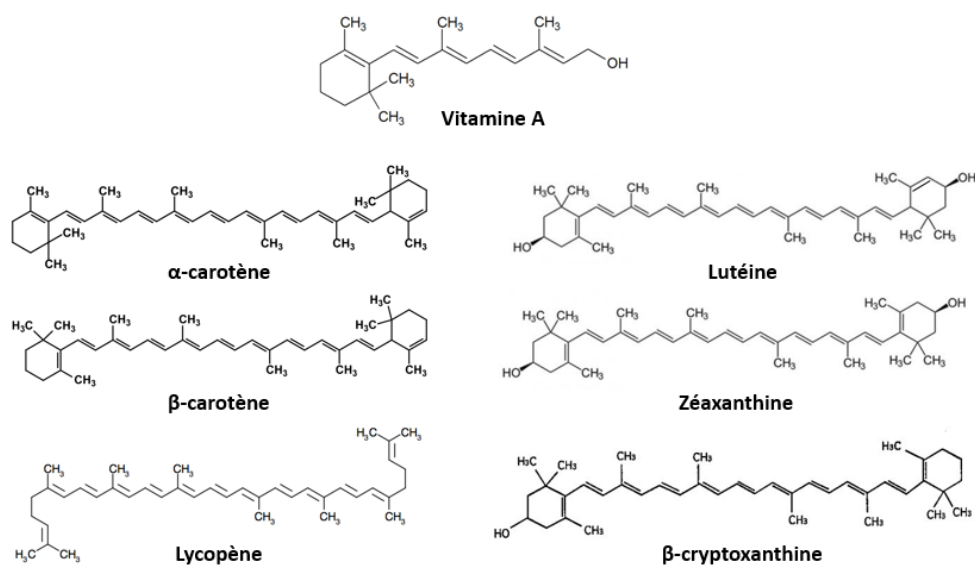


Figure 3 : Molécules de la vitamine A et des principaux caroténoïdes

I.1.7. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent un large groupe de molécules classées en tant que métabolites secondaires chez les plantes. Ces molécules sont synthétisées pendant le développement de la plante et sont utilisées en tant que moyens de défense contre certaines conditions de stress comme les UV ou les radiations. Les composés phénoliques sont classés en plusieurs familles selon leurs structures : les acides phénoliques, les tanins, les lignanes, les flavonoïdes, les stilbènes, les coumarines et les curcuminoïdes, montrés en **Figure 4** [22]. Les acides phénoliques sont classés en deux catégories : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques. Les acides hydroxycinnamiques tels que l'acide férulique, l'acide sinapique, l'acide caféique et l'acide *p*-coumarique sont soit liés de façon covalente à la membrane cellulaire soit retrouvés sous forme soluble dans le cytoplasme des cellules végétales [23]. Les acides hydroxybenzoïques, tel que l'acide gallique, peuvent être retrouvés sous forme estérifiée avec une molécule de glucose pour former des polymères aux structures complexes, appelés tanins hydrolysables. Les flavonoïdes constituent la plus grande famille de composés phénoliques et certains flavonoïdes peuvent être sous forme de glycosides, comme les quercétines glucosides. Les composés phénoliques sont de puissants antioxydants : ils sont capables de piéger les radicaux libres ou espèces réactives. Cette activité antioxydante dépend du nombre et de la position de leurs groupements hydroxyles (OH) [24]. Les principales sources de composés phénoliques sont les fruits, les légumes, les graines dont les légumineuses et les boissons (thé, café, vin, jus).

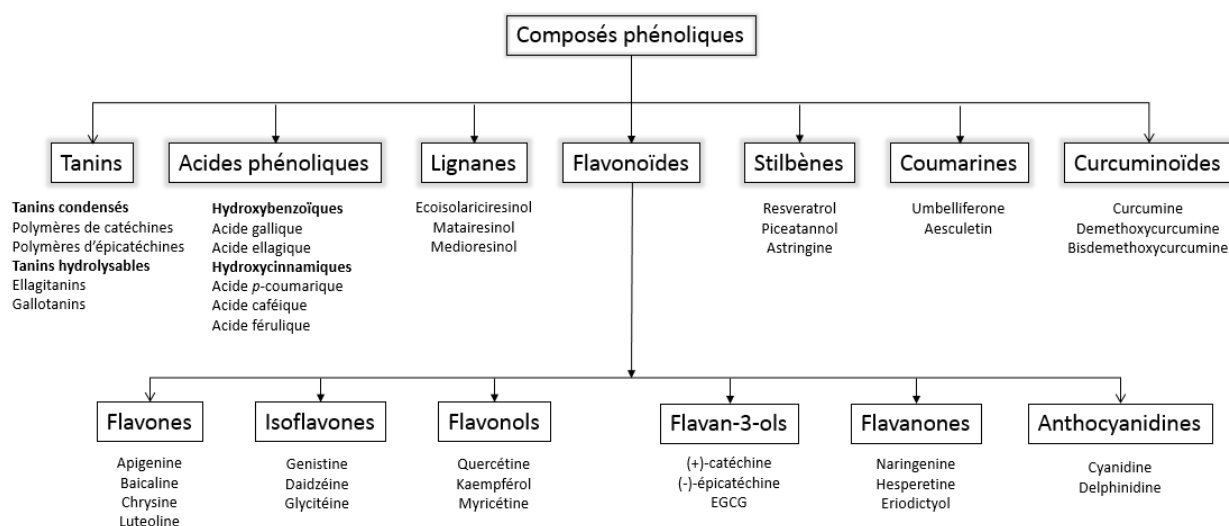


Figure 4 : Les grandes familles de composés phénoliques [22]

I.1.8. Lutte contre les maladies métaboliques liées à un stress oxydant

Le stress oxydatif est provoqué par un déséquilibre dans l'organisme entre les espèces réactives (ou radicaux libres) et les défenses antioxydantes de l'organisme. Les espèces réactives ou radicaux libres peuvent être classées en deux catégories : celles dérivées de l'oxygène que l'on appelle couramment les ROS (« Reactive Oxygen Species ») et celles dérivées de l'azote, appelées RNS (« Reactive Nitrogen Species »). Les espèces réactives peuvent provenir de sources endogènes comme les mitochondries, les microsomes, les péroxysomes, les cytochromes et certaines enzymes cytosoliques telles que la superoxyde dismutase (SOD), la xanthine oxydase et les NADPH oxydases. En effet, la xanthine oxydase et la SOD peuvent former de l' H_2O_2 , qui peut être neutralisé par la catalase ou la peroxydase. Des sources exogènes comme les UV, les radiations, les pesticides et le tabac peuvent être à l'origine de la formation des espèces réactives [25]. En condition physiologique normale, les espèces réactives sont neutralisées par les défenses antioxydantes de l'organisme (SOD, glutathion, catalase, etc). Mais lorsque les espèces réactives deviennent trop nombreuses et que les défenses antioxydantes de l'organisme ne peuvent plus les neutraliser, l'organisme est en situation de stress oxydant [26].

Les radicaux libres présents en trop grande quantité, peuvent causer des dommages au niveau de l'ADN, des protéines ou des lipides et sont responsables de plusieurs maladies dégénératives et chroniques, telles que le diabète, l'obésité, le cancer, les maladies neurodégénératives ou les maladies cardio-vasculaires [1]. Ces troubles métaboliques sont étroitement liés et définis par le syndrome métabolique. Le syndrome métabolique fait référence à la coprésence de facteurs à risque cardio-vasculaire, tels que la résistance à l'insuline, l'obésité, la dyslipidémie athérogène et l'hypertension artérielle [27–29]. Le syndrome métabolique est donc associé à un stress oxydant [30]. Les antioxydants endogènes ou exogènes sont capables de piéger et de neutraliser les espèces réactives, et donc de réduire les risques de ces troubles métaboliques. Les végétaux, plus particulièrement les fruits et légumes, étant très riches en antioxydants, sont indispensables pour lutter contre ces maladies. Afin de répondre aux attentes des consommateurs, désireux de nouveaux produits sains aux bénéfices nutritionnels améliorés, la recherche d'aliments ou de compléments alimentaires riches en antioxydants s'est intensifiée ces dernières années.

I.2. La fermentation lactique des aliments végétaux

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

I.2.1. La fermentation lactique à travers le temps et l'espace

La fermentation lactique est utilisée par l'Homme depuis l'Antiquité dans le but de conserver les aliments facilement périssables mais aussi d'apporter de nouveaux goûts, des arômes et de la texture. A cette époque, les seuls moyens de conservation des aliments étaient le séchage, le fumage, le salage et la fermentation. Les premiers aliments végétaux fermentés étaient à base de céréales et de fruits. La fermentation alcoolique de l'orge en bière et des raisins en vin remonterait entre 6000 et 1700 ans avant Jésus-Christ en Mésopotamie et en Egypte [6]. D'autre part, d'autres boissons alcooliques à base de riz, de miel et de fruits étaient produites en Chine 7000 ans av. J.-C. [31]. Les concombres fermentés sont apparus 2000 av. J.-C. au Moyen-Orient [32]. Les légumes fermentés (chou, radis, navets, concombres, betteraves) sont apparus en Chine 300 ans av. J.-C., et servaient de repas aux ouvriers surtout pour survivre aux périodes hivernales lors de la construction de la Muraille de Chine [33]. Il semblerait que la choucroute européenne proviendrait de Chine, et que la « recette » fut emmenée lors de l'invasion de l'Europe centrale par les Mongols au XIII^{ème} siècle [32].

A l'époque, les aliments fermentaient naturellement, sans aucune maîtrise du processus de fermentation. La connaissance des microorganismes impliqués dans le processus de fermentation est apparue bien plus tard avec la découverte de Von Leeuwenhoek et Hooke en 1665 [34]. Puis, John Lister démontra, en 1877, le rôle d'une bactérie *Bacterium lactis* (aujourd'hui *Lactococcus lactis*) dans les laits fermentés. Par la suite, la fermentation sera définie par Louis Pasteur comme « La vie sans l'air ». Avec la connaissance des microorganismes, la révolution industrielle et la concentration de fortes populations dans les grandes villes, la production et la commercialisation d'aliments fermentés ont connu une croissance exponentielle. Ainsi, différents types d'aliments fermentés à base de viande, légumes, fruits, lait, poissons, céréales ont vu le jour et restent aujourd'hui encore, largement

consommés et très appréciés partout dans le monde. Les légumes fermentés les plus consommés en Europe et aux Etats-Unis sont les cornichons, les olives et la choucroute. La choucroute a été importée aux Etats-Unis par les immigrants venant d'Allemagne et d'autres pays de l'Europe. Plusieurs aliments à base de fruits ou de légumes fermentés sont consommés également en Asie, comme le kimchi.

I.2.2. Intérêt de la fermentation lactique

La valeur nutritionnelle des végétaux, en particulier celle des fruits et des légumes, dépend de plusieurs facteurs : du type de végétal, du cultivar, des conditions climatiques, du stade de maturité, des conditions de récolte, de la façon dont on le prépare (frais, surgelé, cuisiné, transformé, etc) et des conditions de stockage après transformation. Après récolte, les fruits et les légumes se décomposent très rapidement, ils perdent ainsi plusieurs de leurs propriétés (couleur, odeur, apparence, texture). Pendant et après récolte, les végétaux peuvent subir différents types d'altération : physique, chimique, biochimique et microbiologique [28]. Après récolte, certains fruits continuent à mûrir. Au cours de la maturation, différentes réactions conduisent à la destruction de la paroi cellulaire, qui provoque une déstructuration des tissus et des cellules et donc un ramollissement du fruit. D'autres processus biochimiques sont à l'origine de la détérioration des végétaux, comme le brunissement enzymatique. Ce phénomène se traduit par l'apparition de pigments bruns ou noirs et correspond à l'oxydation des composés phénoliques en quinones par la polyphénol oxydase, en présence d'oxygène. Le brunissement enzymatique n'est pas une réaction spontanée, le végétal doit avoir subi un stress ou un processus de détérioration (déchirure de la peau). Les fruits et les légumes présentent à leur surface différents types de microorganismes. Avec des conditions favorables, ces derniers, en particulier les moisissures et les champignons se développent et conduisent ainsi à un pourrissement du végétal. Les fruits et légumes sont aussi sensibles à des attaques d'insectes et les pertes sont augmentées lorsque les fruits ou légumes subissent des chocs mécaniques. Ainsi, les fruits et légumes récoltés avec une forte saisonnalité sont souvent associés à de grosses pertes de production. A cause de leur faible durée de conservation, les fruits et les légumes sont, dans la plupart des cas, transformés afin de réduire les pertes de production. Les fruits et les légumes peuvent être transformés sous forme de jus, de confiture, de purée, de concentré, de soupe, de salade, préparés en morceaux, hachés, en conserves ou séchés. Ces procédés ont pour but d'allonger la durée de conservation des fruits et des légumes et de les rendre disponibles à la consommation sur une période étendue.

Cependant, les procédés de transformation peuvent affecter la valeur nutritionnelle des végétaux, de façon positive ou négative, que ce soient les procédés thermiques (blanchiment, pasteurisation, stérilisation, séchage) ou non (fermentation, ultrasons, ultraviolet, haute pression, champ électrique pulsé), de préparation (lavage, épluchage, cuisson) ou de conservation (conserves, séchage) [35]. Les composés hydrosolubles (vitamines C et B et certains composés phénoliques) sont fortement affectés lors des traitements thermiques. Ainsi, une diminution de l'activité antioxydante est souvent observée après transformation. De la purée de fraise traitée à 70°C pendant 2 min a perdu 22,6 % de sa teneur en vitamine C et 25 % de son activité antioxydante, mais aucune perte n'a été observée pour les composés phénoliques [4]. La cuisson de fleurs de brocoli au microondes pendant 300 s a montré des pertes de 71,9 % en composés phénoliques, 65,9 % en vitamine C et 22,9 % en caroténoïdes [5]. En revanche, une augmentation de l'activité antioxydante et de la teneur en lycopène a été observée pour des tomates traitées à 88°C pendant 30 min [36]. Ces effets peuvent varier en fonction du processus de transformation mais aussi en fonction du végétal.

Pour réduire les pertes nutritionnelles lors de la transformation des végétaux, de nouvelles technologies sont développées, comme les traitements à haute pression, les radiations par ionisation et les champs électriques pulsés, qui conduisent à une diminution moins marquée des composés nutritionnels en comparaison avec les traitements thermiques [4,9].

Parmi les autres procédés de transformation permettant de réduire les pertes nutritionnelles, la fermentation lactique, un procédé non thermique, mérite d'être exploité pour l'obtention d'aliments végétaux à haute valeur nutritionnelle. La fermentation lactique est un processus métabolique réalisé par les bactéries lactiques permettant de convertir les glucides de l'aliment en acide lactique ou un mélange d'acide lactique, d'acide acétique, d'éthanol et de CO₂. La production de ces composés permet d'allonger la durée de conservation en limitant la croissance des microorganismes contaminants et pathogènes. La fermentation lactique permet de mieux préserver les minéraux, les vitamines et les composés phénoliques, préservant ainsi les propriétés antioxydantes de l'aliment. Elle permet de dégrader les composés antinutritionnels ou les composés difficilement assimilables par l'organisme, comme l'acide phytique ou les tanins. Il a été démontré que la fermentation lactique d'une légumineuse (*Vigna sinensis*) permettait d'augmenter la concentration de plusieurs composés phénoliques (acide gallique, acide vanillique, quercétine, acide férulique, acide hydroxybenzoïque) [37]. La fermentation lactique permet de mieux préserver la teneur en vitamine C, en glutathion, en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante de smoothies et de jus de tomate

[7,38]. La fermentation lactique a permis également d'augmenter la teneur en vitamine C, en composés phénoliques et l'activité antioxydante de jus de grenade [39], de jus de carotte, d'haricot et de courgette [40] et de lait de soja [41]. La fermentation lactique est donc un procédé technologique pour l'obtention d'aliments végétaux riches en antioxydants, et entre parfaitement dans le concept de la lutte contre le diabète et l'obésité, constituant également une voie alternative pour la transformation des végétaux.

I.2.3. Quelques produits végétaux fermentés à travers le monde

Les aliments fermentés à base de végétaux sont consommés partout dans le monde, d'une part grâce à leur saveur et goûts uniques et d'autre part grâce à leurs effets bénéfiques pour notre organisme. Ils peuvent être classés en plusieurs catégories en fonction de leur composition :

- Les produits à base de fruits et légumes (olives, chou, chou-fleur, radis, concombre)
- Les produits à base de céréales (maïs, riz, millet)
- Les produits à base de légumineuses (soja, haricots)
- Les produits à base de racines et tubercules (manioc, patate douces)
- Les boissons (thé, riz, céréales)

Quelques exemples de ces aliments les plus connus sont présentés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Exemples de produits végétaux fermentés consommés dans le Monde

Produit fermenté	Pays	Fruit/Légume/Légumineuse/Végétal
Almagro	Espagne	Aubergine
Choucroute	Monde entier	Chou
Concombres	Europe, Etats-Unis	Concombre
Dhamuoi	Vietnam	Chou et autres légumes
Fu-tsai	Taiwan	Moutarde
Fufu	Nigéria	Manioc
Gari	Afrique de l'Ouest	Manioc
Gundruk	Népal, Inde	Chou, radis, moutarde, chou-fleur
Jiang-gua	Taiwan	Concombre
Khalpi	Népal	Concombre
Kimchi	Corée	Chou chinois, radis, gingembre, autres légumes
Kanji (boisson)	Inde	Racines de betterave et carotte
Kombucha (boisson)	Chine	Thé
Kocho	Ethiopie	False banana
Lafun	Nigéria	Manioc
Olive	Monde entier	Olives
Ogi	Nigéria	Mais, sorgo, millet

Sinki	Inde, Népal	Radis
Suan-tsai	Taiwan	Chou chinois, chou, feuilles de moutarde
Tempoyak	Malaisie	Durian
Yan-taozih	Chine, Taiwan	Pêches
Yan-tsai-chin	Taiwan	Brocoli
Tursu	Turquie	Concombre, chou, tomates vertes, poivrons verts et autres légumes

La choucroute

La choucroute est obtenue par fermentation lactique de chou blanc (*Brassica oleracea var. capitata* L. f. *alba*). Le chou blanc émincé est mélangé avec du sel puis le tout est pressé dans une cuve appropriée. Le mélange peut être couvert par un film alimentaire sur lequel de l'eau est versée pour empêcher l'air d'entrer dans la cuve. La choucroute est obtenue de façon naturelle en laissant le chou fermenter spontanément en anaérobiose. Le jus issu de la pression du chou et du sel sert de substrat pour la croissance de bactéries lactiques présentes naturellement à la surface du chou. Les espèces *Lc. mesenteroides*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum* et *Pc. cerevisiae* sont responsables de la fermentation de la choucroute. Cette fermentation conduit à une rapide diminution du pH et conduit ainsi aux propriétés sensorielles caractéristiques de la choucroute. La quantité de bactéries lactiques présentes initialement à la surface du chou doit être suffisamment importante pour permettre une croissance rapide des bactéries et une rapide diminution du pH.

Le kimchi

Le kimchi est un des aliments fermentés à base de légumes les plus consommés en Corée et autres pays asiatiques, comme la Chine et le Japon. Le kimchi est un aliment traditionnel coréen obtenu par la fermentation de légumes comme du chou chinois (*Brassica rapa subsp. pekinensis*), du radis, des concombres avec plusieurs autres ingrédients comme du sel, de la poudre de poivron rouge, du gingembre, de l'ail et des poireaux. La fermentation du kimchi est conduite par des bactéries lactiques qui produisent divers composés comme des acides organiques, du CO₂, de l'éthanol, des vitamines, des composés antimicrobiens et des composés aromatiques [42]. Le kimchi est fermenté par plusieurs espèces des genres *Leuconostoc*, *Weissella*, *Lactobacillus* et *Pediococcus*, mais les espèces *Lc. mesenteroides* et *Lb. plantarum* sont dominantes. Le kimchi est également connu pour ses propriétés antioxydantes, antidiabétiques et ses effets contre l'obésité, le cancer et l'athérosclérose [43].

Le kombucha

Le kombucha est une boisson rafraichissante originaire de Chine, obtenue par fermentation du thé (*Camelia sinensis*) et du sucre par un mélange de bactéries acétiques et de levures. Les espèces présentes appartiennent aux genres *Acetobacter* et *Gluconobacter* pour les bactéries acétiques et *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Torulospora*, *Koleckera*, *Pichia*, *Mycotorula* et *Mycoderma* pour les levures [44]. Les feuilles de thé sont plongées dans de l'eau bouillante et sont laissées infuser pendant 10 min. Les feuilles sont ensuite enlevées et du saccharose est ajouté. Le mélange est refroidi puis introduit dans un grand récipient, du vinaigre ou du Kombucha déjà préparé est ajouté au mélange. Le mélange est incubé à température ambiante (entre 20°C et 30°C) pendant une à huit semaines. Pendant cette période de fermentation, les champignons se développent à la surface. Après fermentation, l'amas de champignon est enlevé et la boisson est stockée à 4°C [45].

I.3. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques constituent l'un des groupes de microorganismes le plus largement utilisé dans la production de divers types d'aliments fermentés. Le groupe des bactéries lactiques est un groupe de microorganismes très diversifiés caractérisés par la formation d'acide lactique en tant que métabolite primaire du métabolisme des sucres.

I.3.1. Principales caractéristiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes capables de fermenter les sucres (principalement le glucose) en acide. Le principal produit de la réaction est l'acide lactique. Elles sont à Gram positif, ne forment pas de spores, se présentent sous forme de coques, de bacilles ou de bacilles arrondis (**Figure 5**) et possèdent dans leur ADN une faible proportion de bases guanine – cytosine (GC % < 50). Les bactéries lactiques sont généralement catalase négative, mais certaines possèdent une pseudo-catalase. Elles sont anaérobies mais aérotolérantes. Elles requièrent la présence d'acides aminés, d'acides gras, de vitamines et de minéraux pour leur croissance. Elles fermentent différents types de substrats : lait, fruits, légumes, céréales, poisson, viandes etc. Elles peuvent être retrouvées dans l'estomac et les intestins d'animaux et des êtres humains ou dans l'environnement. Leur capacité d'adaptation et de survie à une grande variété d'environnement est sans doute à l'origine de leur grande

diversité de métabolismes. Elles sont classées en deux catégories selon leur voie de métabolisation des glucides : homo-fermentaire (ou homolactique) ou hétéro-fermentaire (ou hétéro-lactique).

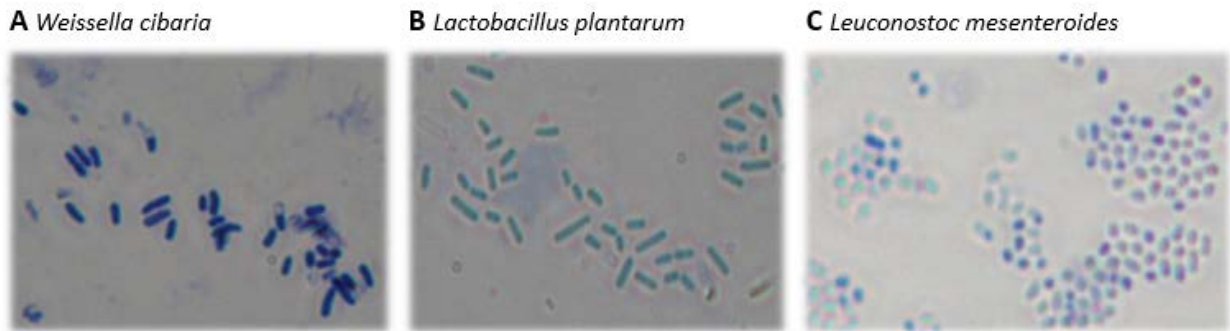
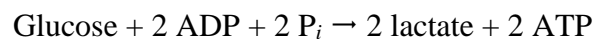


Figure 5 : Bactéries lactiques sous forme de bacilles arrondies (A), de bacilles (B) ou de coques (C), colorées au bleu de méthylène

La voie homo-fermentaire

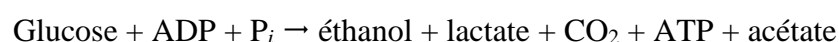
Dans la voie homo-fermentaire, le principal produit final est le lactate. La voie homo-fermentaire emprunte la voie de la glycolyse ou voie de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). Lors de cette étape, le glucose est converti en deux molécules de pyruvate, avec phosphorylation de deux molécules d'ADP en ATP. Le pyruvate est ensuite converti en lactate par la lactate déshydrogénase, ce qui permet la réoxydation des cofacteurs. La réaction bilan est la suivante :



Les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Pediococcus* constituent quelques genres de bactéries lactique homo-fermentaires [46,47]. Selon l'espèce, les *Lactobacillus* peuvent être soit homo-fermentaires soit hétéro-fermentaires. Par exemple, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus* sont quelques espèces *Lactobacillus* homo-fermentaires.

La voie hétéro-fermentaire

Dans la voie hétéro-fermentaire, en plus de l'acide lactique, du dioxyde de carbone (CO₂), de l'éthanol ou de l'acétate peuvent être également produits. La voie hétéro-fermentaire emprunte la voie des pentoses phosphate pour convertir le glucose. Le bilan de la réaction est le suivant :



Parmi les bactéries hétéro-fermentaires, on retrouve les genres *Leuconostoc*, *Weissella*, *Oenococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus*. *Lb. brevis*, *Lb. hilgardii* sont parmi les espèces *Lactobacillus* hétéro-fermentaires. *Lb. plantarum*, *Lb. paraplantarum* et *Lb. pentosus* sont hétéro-fermentaires facultatives. L'éthanol est le composé le plus important pour l'obtention de boissons alcoolisées, telles que le vin ou la bière. La production de dioxyde de carbone apporte des caractéristiques sensorielles particulières au produit, comme un effet pétillant ou rafraichissant. Le CO₂ participe également à la levée de la pâte à pain pendant la fermentation et permet d'obtenir une texture aérée. Certaines bactéries lactiques sont capables de produire une part d'acide acétique également.

I.3.2. Taxonomie

Les bactéries lactiques appartiennent au phylum XIII des *Firmicutes*, la classe I des *Bacilli* et l'ordre II des *Lactobacillales*. Il existe plus de 500 espèces de bactéries lactiques classées sous forme de genres répartis en six grande familles [48] :

- ***Lactobacillaceae*** qui comprend les genres *Lactobacillus* et *Pediococcus*.
- ***Aerococcaceae*** qui comprend les genres *Abiotrophia*, *Aerococcus*, *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella* et *Ignavigranum*.
- ***Carnobacteriaceae*** qui comprend les genres *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Atopostipes*, *Carnobacterium*, *Desemzia*, *Dolosigranulum*, *Granlucateella*, *Isobaculum*, *Lacticigenium*, *Marinilactibacillus*, *Pisciglobus* et *Trichococcus*.
- ***Enterococcaceae*** qui comprend les genres *Bavariicoccus*, *Catelicoccus*, *Enterococcus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*.
- ***Leuconostocaceae*** qui comprend les genres *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus* et *Weissella*.
- ***Streptococcaceae*** qui comprend les genres *Lactococcus*, *Lactovum* et *Streptococcus*.

I.3.3. Les molécules d'intérêt

Pendant la fermentation, les bactéries lactiques synthétisent un certain nombre de composés qui permettent d'allonger la durée de conservation de l'aliment et d'améliorer les propriétés sanitaires, sensorielles et nutritionnelles.

1.3.3.1. L'acide lactique

L'acide lactique, de formule chimique $C_3H_6O_3$, devient en solution aqueuse l'ion lactate $CH_3CH(OH)COO^-$, son pK_a est de 3,86. Deux isomères d'acide lactique peuvent être produits pendant la fermentation, l'isomère D(-) ou l'isomère L(+) (**Figure 6**). L'isomère L(+) est assimilé par les cellules intestinales et utilisé pendant les activités métaboliques chez l'humain. Au contraire, l'isomère D(-) n'est pas assimilé et est éliminé par les reins sous forme de sels [48]. Les acides organiques ont un effet antimicrobien et assurent une sécurité sanitaire des produits fermentés. Sous forme non ionisée, ils entrent dans les cellules par diffusion simple. Aux pH intracellulaires, ils sont ionisés et ne peuvent plus sortir de la cellule par diffusion. Ils interfèrent avec le maintien du potentiel de la membrane cellulaire, en inhibant le transport actif, en réduisant le pH intracellulaire et en inhibant certaines fonctions métaboliques [49].

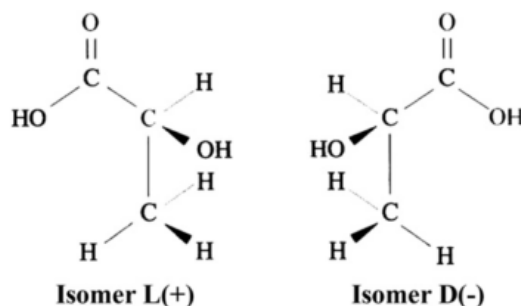


Figure 6 : Stéréoisomères L(+) et D(-) de l'acide lactique

1.3.3.2. Les *exo-polysaccharides*

Pendant la fermentation, les bactéries lactiques peuvent synthétiser des polysaccharides de surface. Ces polysaccharides sont soit excrétés dans leur milieu environnant, et sont appelés *exo-polysaccharides* (EPS). Soit, ils restent attachés à la surface de la cellule sous forme de capsules et sont appelés *polysaccharides capsulaires* (PSC) [50]. Ce sont des polymères de sucres classés en deux catégories : les *hétéro-polysaccharides* (HePS) et les *homo-polysaccharides* (HoPS). Les HePS sont composés de plusieurs types de sucres comme du glucose, du galactose, du rhamnose, du mannose, du *N*-acétylglucosamine ou de l'acide glucuronique. Les HoPS sont composés d'un seul type de monosaccharide et sont classés en quatre catégories : les α -D-glucanes, les β -D-glucanes, les fructanes et les polygalactanes [51]. Les espèces *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Lactococcus* et *Streptococcus* sont connues pour synthétiser des EPS.

Les EPS dans l'industrie alimentaire

Dans l'industrie alimentaire les bactéries lactiques productrices d'EPS sont utilisées pour augmenter la viscosité et améliorer la texture. Les EPS produits agissent en tant qu'agent gélifiant, épaississant, émulsifiant et stabilisant. Ils sont utilisés pour améliorer la texture des produits laitiers tels que les yaourts, les fromages, les crèmes etc. [52]. Un dextrane (autre nom de glucane) produit par *Leuconostoc mesenteroides* a bénéficié d'un avis positif de l'EFSA (European Food Safety Authority – Autorité européenne de sécurité des aliments) mais n'est pas encore inscrit dans la liste positive des additifs alimentaires autorisés en France.

Bénéfices nutritionnels des EPS

Le rôle des EPS pour les bactéries lactiques n'est pas encore clairement compris mais ils serviraient de moyens de défense contre des conditions de stress (stress osmotique, antibiotiques, molécules toxiques) [53]. Plusieurs études ont montré l'effet antioxydant des EPS, capables de neutraliser les ROS [54–56]. De plus, les EPS ont montré plusieurs effets bénéfiques pour l'Homme, au niveau du système immunitaire, de l'estomac, du sang et de l'intestin, schématisés en **Figure 7**.

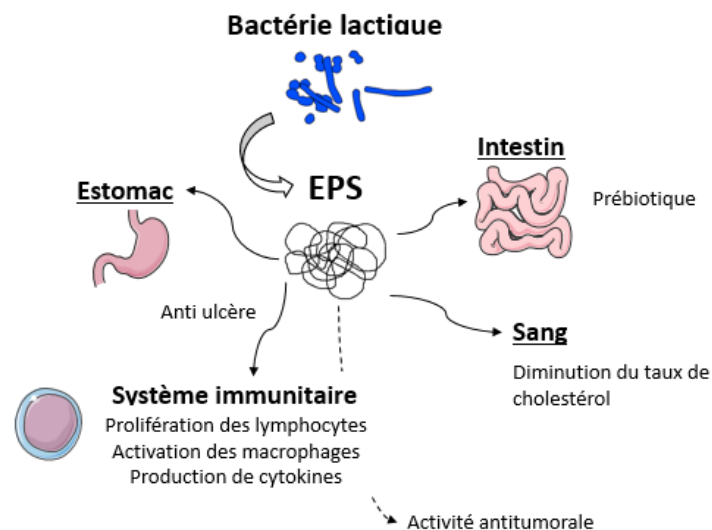


Figure 7 : Représentation schématique des possibles effets bénéfiques des EPS au niveau de l'organisme humain, d'après [51]

1.3.3.3. Les bactériocines

Les bactériocines sont des protéines ou peptides antibactériens produites par certaines bactéries lactiques qui inhibent la croissance de certaines bactéries à Gram (+) ou (-). Elles

peuvent être également actives contre les bactéries lactiques. Les bactériocines sont classées en trois classes en fonction de leur composition et de leur structure [57,58] :

- Classe I : Les lantibiotiques. Ce sont de petits peptides (< 5 kDa) stables à la chaleur contenant des acides aminés tels que la lanthionine ou la méthyllanthionine. La nisine (E234), qui est actuellement la seule bactériocine autorisée comme additif dans l'industrie alimentaire appartient à cette classe.
- Classe II : Les non-lantibiotiques. Les bactériocines de classe II sont de petits peptides (< 10 kDa), relativement stables à la chaleur ne contenant pas de lanthionine. Elles sont divisées en quatre sous-classes : IIa, IIb, IIc et IId. La classe IIa comprend de petits peptides thermiquement stables, synthétisés sous forme de précurseurs et actifs contre *Listeria*. La classe IIb comprend les bactériocines composées de deux différents peptides. La classe IIc comprend les bactériocines formant une structure circulaire, les deux extrémités N et C-terminales étant liées de façon covalente. La classe IId inclut les autres bactériocines de classe II ne pouvant pas être incluses dans les précédentes sous-classes, les bactériocines ne possédant pas de peptides signales et les bactériocines *sec*-dépendantes. Celles-ci possèdent le peptide signal *sec* qui leur permet de traverser la membrane cytoplasmique par la voie *sec*-dépendante.
- Classe III : Grosses molécules sensibles à la chaleur (> 30 kDa).

Les bactéries lactiques appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et *Weissella* sont connues pour produire des bactériocines. Les bactériocines sont généralement nommées en fonction de l'espèce. Par exemple, les leucocines, les pédiocines, les entérocoques et les weissellicines sont les bactériocines produites par les genres *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et *Weissella*, respectivement.

1.3.3.4. Autres substances antimicrobiennes

Pendant le processus de fermentation, les bactéries lactiques produisent d'autres composés antimicrobiens qui inhibent la croissance d'autres microorganismes potentiellement pathogènes ou contaminants, comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le CO₂, le diacétyl. Les acides organiques, tels que l'acide lactique ou l'acide acétique possèdent une action antimicrobienne contre les levures et les bactéries à gram positif ou négatif [59]. Le cofacteur NAD peut réagir avec l'oxygène pour former du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) [60]. Le peroxyde d'hydrogène est toxique pour les bactéries à Gram positif y compris pour les bactéries lactiques, elles-mêmes. La peroxydation des lipides

membranaires et l'oxydation des acides nucléiques bactériens peuvent être à l'origine de la toxicité du H₂O₂. Le diacétyl contribue aux propriétés sensorielles caractéristiques du beurre et des fromages. Il possède une action antimicrobienne contre les bactéries à Gram négatif et les levures, et plus faiblement contre les bactéries à Gram positif [61]. En revanche, le diacétyl possède un seuil de perception très bas et n'est pas désirable dans certains aliments, comme la bière [61].

I.4. Bénéfices nutritionnels et effets santé des aliments végétaux fermentés

I.4.1. La préservation et la durée de conservation

La durée de conservation d'un aliment est définie comme la période pendant laquelle l'aliment reste consommable, sûr pour la santé, sans aucun risque pathogène (innocuité) et gardant l'ensemble de ses propriétés sensorielles et nutritionnelles (salubrité). Plusieurs facteurs peuvent affecter la durée de conservation d'un aliment comme le pH, l'activité de l'eau, la quantité d'oxygène disponible et la microflore de l'aliment. D'autre part, les fruits et les légumes frais sont associés à plusieurs dangers pathogènes, tels que les salmonelles ou *E. coli*.

L'augmentation de la durée de conservation est le principal objectif de la fermentation lactique. La production d'acide pendant la fermentation diminue le pH et crée un environnement acide non propice à la croissance des autres microorganismes contaminants et pathogènes. Une étude réalisée sur de la purée de poire fermentée par *Lc. mesenteroides* a montré que la purée fermentée se conservait à 4°C pendant 21 jours. Contrairement à la purée fermentée, la purée témoin (non fermentée) a été caractérisée par un développement important de levures et d'entérobactéries [62]. Les mêmes résultats ont été observés pour un smoothie à base de fruits et/ou légumes fermentés par *W. cibaria* et des souches *Lactobacillus* après 30 jours de conservation à 4°C [7]. De plus, la production de bactériocines par certaines bactéries lactiques joue un rôle considérable dans la préservation du produit. La biopréservation, aussi appelée bioconservation, est une méthode de préservation des aliments par des microorganismes, appelés cultures protectrices [63]. Cette méthode consiste à inoculer l'aliment avec un microorganisme non pathogène, capable d'inhiber la croissance des microorganismes indésirables tout en préservant les caractéristiques sensorielles du produit. De par leurs propriétés antibactériennes (bactériocines et autres composés antimicrobiens) et leurs effets bénéfiques pour la santé, les bactéries lactiques sont de potentiels candidats pour la biopréservation des aliments [64].

I.4.2. L'élimination des composés antinutritionnels

Les végétaux peuvent contenir plusieurs facteurs antinutritionnels comme les saponines, les tanins, les inhibiteurs enzymatiques (anti-protéase, anti-amylase, anti-invertase, anti-trypsine), les oxalates, l'acide phytique, les lectines ou les glucosides cyanogéniques [65]. Ils sont appelés antinutritionnels car ils interfèrent avec l'absorption des nutriments. L'acide phytique est présent dans les céréales et les graines oléagineuses et constitue, chez les plantes, la forme de stockage principale de phosphore. Avec ses six groupements phosphate, l'acide phytique peut former des complexes avec les ions métaux (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+}) (**Figure 8**), diminuant ainsi la biodisponibilité de ces minéraux. Par cette caractéristique, l'acide phytique est considéré comme un facteur antinutritionnel [66,67].

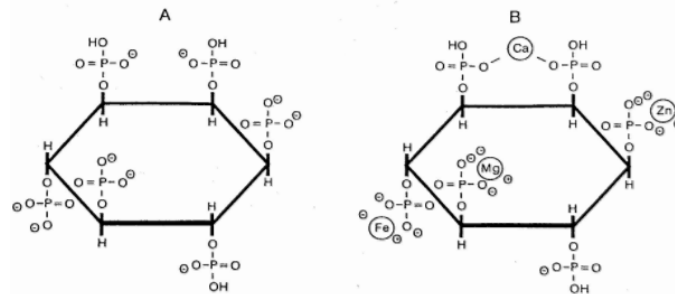


Figure 8 : Molécule d'acide phytique (A) et complexe formé entre l'acide phytique et les métaux (B)

La teneur en acide phytique est passée de $11,6 \mu\text{mol.g}^{-1}$, $14,7 \mu\text{mol.g}^{-1}$ et $12,9 \mu\text{mol.g}^{-1}$ à $0,2 \mu\text{mol.g}^{-1}$, $0,1 \mu\text{mol.g}^{-1}$ et $7,2 \mu\text{mol.g}^{-1}$ dans des graines de seigle, de blé et d'avoine, respectivement, après 24 h de fermentation lactique [66]. La fermentation a permis d'éliminer 85,5 % en inhibiteur anti-trypsine présent dans les flocons de soja [68]. Une diminution de 80 à 90 % en acide phytique a été observée après fermentation d'une pâte à pain par des bactéries lactiques (*Lb. plantarum*, *Lb. brevis* et *Lb. curvatus*) [69].

Les glucosides cyanogéniques (GC) (linamarine et lotaustraline), présents naturellement dans le manioc, sont considérés comme des facteurs antinutritionnels. Le manioc est consommé en Afrique, en Amérique latine et en Asie comme aliment de base. Il est transformé avant consommation à cause de la forte toxicité des cyanogènes [70,71]. Plusieurs aliments obtenus par fermentation du manioc, comme le Gari, le Fufu ou le Lafun sont consommés en Afrique. Une réduction de 77,53 % en GC a été observée après fermentation lactique de manioc [72]. Au bout de 29 h de fermentation de manioc par une souche de *Lb. plantarum*, tous les GC étaient dégradés [73]. La dégradation des GC est possible grâce à une enzyme, la linamarase (ou β -glucosidase). Cette enzyme dégrade la linamarine en cyanhydrine, qui une fois

hydrolysée libre du cyanure d'hydrogène (CNH) (**Figure 9**). Le CNH est volatil et donc rapidement éliminé lors de la transformation du manioc. La linamarase est présente naturellement dans le manioc mais est active à pH 5,5 [70]. La fermentation lactique permet de maintenir un environnement acide qui est favorable à l'activité de cette enzyme. De plus, certaines bactéries lactiques possèdent l'enzyme β -glucosidase, qui permet de réduire le taux de GC pendant la fermentation [73]. La fermentation lactique est donc un procédé permettant de réduire considérablement la quantité de facteurs antinutritionnels présents dans les végétaux.

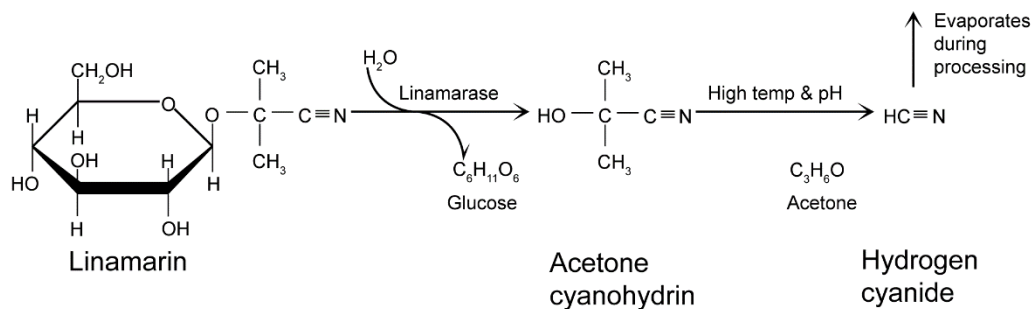


Figure 9 : Mécanisme de dégradation de la linamarine (GC) par la linamarase

En général, les composés antinutritionnels sont majoritairement présents dans les céréales, les graines et les tubercules, les fruits et les légumes ne contiennent que très peu de composés antinutritionnels. En revanche, les tanins présents sous forme de gros polymères aux structures complexes peuvent être considérés comme des composés antinutritionnels. La biodisponibilité des tanins dépend de leur degré de polymérisation et leur absorption au niveau de l'intestin [74].

I.4.3. L'amélioration des propriétés sensorielles

Les produits fermentés sont caractérisés par des textures, des saveurs, des odeurs et des goûts uniques. Les propriétés sensorielles des aliments fermentés résultent des molécules et des métabolites produits pendant la fermentation (EPS, composés aromatiques, acides organiques etc). Les composés aromatiques formés pendant la fermentation peuvent être des alcools, des aldéhydes, des cétones, des esters, des acides gras ou des composés sulfurés [75], issus du catabolisme des glucides, des protéines et des lipides de l'aliment. Des smoothies fermentés ont été préférés comparés aux non fermentés grâce à leur saveur, leur douceur et leur texture [7]. Les profils sensoriels des smoothies fermentés et non fermentés sont illustrés dans la **Figure 10**. Il a été démontré que la fermentation lactique de jus de tomate augmentait sa viscosité et produisait des composés aromatiques, tels que des alcools, des esters, des cétones,

des alcanes et des terpènes [38]. Une fermentation lactique avec des souches *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Weissella*, productrices d'EPS, a augmenté la viscosité de purée de carotte de 80 % à 280 %, la rendant ainsi plus épaisse et plus élastique [76].

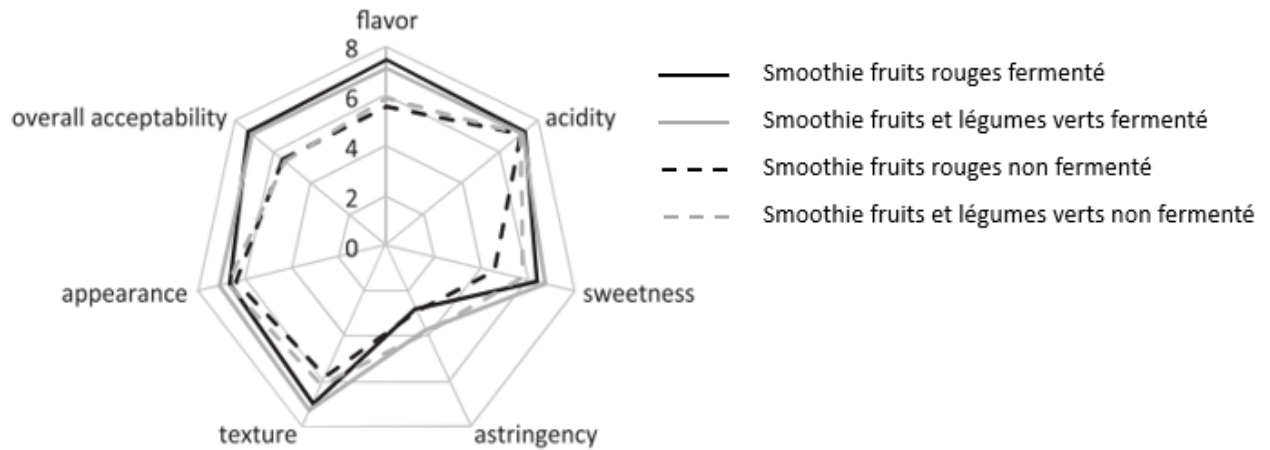


Figure 10 : Profil sensoriel comparatif de smoothies fermentés et non fermentés [7]

I.4.4. La préservation des minéraux et des vitamines

En dégradant l'acide phytique, la fermentation lactique conduit ainsi à une meilleure biodisponibilité des minéraux. Une souche de *Lc. mesenteroides* a été utilisée pour fermenter un milieu contenant de la farine de blé entier et de l'eau. Au cours de la fermentation, les concentrations en ions Ca^{2+} et Mg^{2+} solubles augmentaient, corrélées à une nette diminution de la teneur en acide phytique [77]. La fermentation de lait de soja par des souches de *Lactobacillus* a conduit à une meilleure biodisponibilité du calcium, du magnésium et du zinc. De plus, la concentration en vitamines B, riboflavine et niacine augmentait au cours de la fermentation [78]. Les effets de différents processus de transformation de maïs sur la biodisponibilité du fer ont été étudiés. Le maïs a été chauffé pour obtenir du porridge, décortiqué pour obtenir des galettes (arepa), fermenté pour obtenir un produit appelé ogi et nixtamalisé (cuisson dans une solution alcaline) pour obtenir des tortillas. La fermentation est le seul procédé où l'augmentation de la biodisponibilité du fer a été significative (12 %) [79]. Les bactéries lactiques sont également capables de synthétiser des vitamines (essentiellement du groupe des vitamines B), et l'utilisation de cette capacité est une voie intéressante pour obtenir des aliments aux propriétés nutritionnelles améliorées [20,80].

I.4.5. L'amélioration de la digestibilité

Certaines bactéries lactiques possèdent plusieurs enzymes intracellulaires et extracellulaires permettant de mieux digérer les aliments comme les α -amylases, les pectinases, les phytases et les protéinases. Ces bactéries lactiques utilisent l' α -amylase pour hydrolyser l'amidon, et transforment les molécules de glucose ainsi libérées en acide lactique au cours de la fermentation [81]. Les protéases permettent d'hydrolyser les protéines végétales pendant la fermentation et certains composés indigestes comme les composés sulfurés.

I.4.6. Les probiotiques

Ces dernières années, la recherche d'aliments bénéfiques pour la santé s'est intensifiée. Les fibres alimentaires intéressent de plus en plus les scientifiques. Les fibres alimentaires sont fermentées par la microflore intestinale et constituent donc une source d'énergie pour ces bactéries. De récentes études ont montré que la composition et la croissance des bactéries intestinales pouvaient être influencées par la quantité et le type de fibre alimentaire ingérée par l'organisme [82]. De par ces observations, le terme prébiotique a été créé. Un prébiotique est défini comme un ingrédient qui modifie la composition et/ou l'activité du microbiote intestinal en apportant des effets bénéfiques pour la santé de l'hôte. Parmi les ingrédients utilisés en tant que prébiotiques, on retrouve les galacto-oligosaccharides ou les fructo-oligosaccharides [83]. Les travaux portant sur l'étude du microbiote intestinal se sont multipliés et certains aliments fermentés, comme le yaourt, ont été associés à des effets bénéfiques pour le transit intestinal. Ces effets bénéfiques sont associés plus précisément aux bactéries lactiques présentes dans ces aliments et le terme probiotique leur a été attribué. Un probiotique est un organisme vivant qui, une fois ingéré en quantité suffisante, exerce plusieurs activités bénéfiques pour l'hôte, en particulier sur le transit intestinal [84]. Plusieurs espèces de bactéries lactiques sont considérées comme des probiotiques telles que : *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Lb. casei*, *Lb. fermentum*, *Lb. helveticus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bb. longum*, *Bb. infantis* ou encore *Lactococcus lactis*. Ces espèces sont souvent retrouvées dans les aliments fermentés, mais un aliment fermenté ne contient pas forcément des probiotiques. Les propriétés bénéfiques des probiotiques incluent : une action antimicrobienne contre les agents pathogènes, ne pas être reconnu comme un corps étranger par le système immunitaire de l'hôte, posséder des propriétés antimutagène et anticarcinogène et améliorer le transit intestinal.

I.4.7. Augmentation des capacités antioxydantes

L'augmentation de l'activité antioxydante observée pendant la fermentation lactique est principalement due à la dépolymérisation de composés phénoliques [8]. Pendant la fermentation lactique des végétaux, les bactéries lactiques sont capables d'hydrolyser les composés phénoliques présents sous forme de polymères, libérant ainsi des molécules bioactives en augmentant leur biodisponibilité. Plusieurs enzymes impliquées dans ces mécanismes d'hydrolyses ont été caractérisées, telles que la féruloyl estérase, la β -glucosidase, la tanase et la phenolic acid decarboxylase (PAD) [85]. Les β -glucosidases hydrolysent les liaisons β -glucosidiques des oligosaccharides, des pigments, des glucosides cyanogéniques. La tanase hydrolyse les liaisons ester présentes dans les gallotanins, les polymères de tanins et les esters d'acide gallique [86]. Les féruloyl estérases hydrolysent les liaisons esters présentes dans les polymères d'acides hydroxycinnamiques, libérant ainsi de l'acide férulique, de l'acide caféique ou de l'acide ρ -coumarique [87]. La PAD catalyse la décarboxylation des acides hydroxycinnamiques (acide caféique, acide ρ -coumarique, acide férulique) en leur dérivés vinyl (vinylcatéchol, ρ -vinylphénol, vinylguaiacol, respectivement) [88].

Une métabolisation des composés phénoliques corrélée à une augmentation de l'activité antioxydante a été observée pendant la fermentation lactique du thé [89]. La métabolisation des acides protocatechique, caféique et ρ -coumarique en catéchol, vinyl catechol, acide dihydrocaféique et ρ -vinylphénol par des espèces *Lactobacillus* a été démontrée [90]. L'activité feruloyl estérase a été détectée chez certaines bactéries lactiques, essentiellement des *Lactobacillus* : *Lb. plantarum*, *Lb. reuteri* et *Lb. fermentum* [23,91]. Après fermentation lactique du niébé (ou cornille, espèce végétale originaire d'Afrique), plusieurs nouveaux composés phénoliques qui n'étaient pas présent à l'origine dans le produit frais, sont apparus tels que le tyrosol et la quercétine. De plus, la teneur de certains glycosides de quercétine a diminué [37].

CHAPITRE II : Ecosystèmes microbiens des fruits et légumes fermentés

Après avoir décrit les principaux aspects de la fermentation lactique des végétaux, nous allons à présent nous intéresser davantage à la fermentation lactique des fruits et des légumes, les paramètres qui influencent la fermentation et les microorganismes responsables de cette fermentation, plus particulièrement les bactéries lactiques. Deux types de fermentation lactique seront présentés dans ce chapitre en expliquant le rôle des bactéries lactiques.

Les fruits et les légumes fermentés peuvent être classés selon les catégories suivantes :

- Les légumes-racines : carottes, navets, betterave, radis, cèleri, patate douce, pousses de bambou
- Les légumes-fruits : concombres, olives, tomates, poivrons, gombo, les pois verts
- Les légumes-feuilles : chou, chou-fleur, brocoli, feuilles de moutarde, épinard, laitue
- Les fruits : pomme, poires, mangues immatures, citrons, banane

Ils peuvent être fermentés entiers, ou émincés, en saumure ou sous forme de jus ou de smoothies. Les smoothies ou frappés aux fruits sont des boissons à base de fruits et/ou de légumes mixés (avec les fibres), parfois mélangés à des jus de fruits. Indépendamment du type de produit, plusieurs paramètres environnementaux sont à prendre en compte avant même de commencer le processus de fermentation : le pH, la température, la teneur en sucres et en sels, la composition de l'aliment et le type de fermentation choisi.

II.1. Pilotage de la fermentation lactique des fruits et des légumes

II.1.1. Effet du pH

L'acidité est une des caractéristiques principales des produits fermentés (choucroute, olive, vin, etc). Comme nous l'avons vu précédemment, il s'agit d'un facteur clé dans la préservation et la conservation des aliments fermentés. Cependant, certains végétaux sont très acides (ananas, orange, citron, pomme, groseille, tomate, etc). La fermentation de ces types de végétaux peut constituer une forme de stress pour les bactéries lactiques, certaines bactéries lactiques étant plus tolérantes que d'autres. La plupart des bactéries lactiques requiert un pH entre 5 et 9 pour leur croissance [92], mais certaines espèces des genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella* et *Enterococcus* sont capables de croître à un pH inférieur à 4. Du jus d'ananas ayant un pH proche de 3,5, a été fermenté par des souches *Lb. plantarum* et

Lb. rossiae, diminuant ainsi le pH du jus à 2,93 [93]. Des souches *Lb. plantarum*, *W. cibaria/confusa*, *Ec. faecium/faecalis* ont été capables de croître dans du jus de tomate à pH 4,3 et d'y survivre pendant 40 jours à un pH proche de 3,5 [38]. *Oenococcus (Oc.) oeni* est une bactérie lactique très tolérante à un faible pH, elle est responsable de la fermentation malolactique du vin (pH 3 à 3,5). Le pH est donc un facteur important à prendre en considération pour la fermentation lactique de fruits et de légumes. Le pH joue également un rôle sur l'aspect sensoriel du produit. Selon l'acide organique présent, la perception sensorielle sera différente.

II.1.2. Effet de la température

La température est aussi un facteur critique pour la fermentation de végétaux. Les bactéries lactiques ont généralement une température optimale de croissance aux alentours de 30°C mais certaines espèces sont tolérantes aux basses températures. En fonction du produit désiré, la température devra être optimisée afin de permettre une croissance optimale des microorganismes et une cinétique d'acidification adaptée. Après fermentation, le produit peut être pasteurisé ou réfrigéré pour être conservé [92]. Ainsi les bactéries lactiques peuvent être exposées à des températures très basses. Des souches de *Lb. sakei* ont été capables de croître à 4°C [94]. Plusieurs souches de *W. cibaria* et *W. confusa* (population initiale de 10^8 UFC.g⁻¹) ont été capables de survivre après 5 min à 60°C mais très peu survivent après 5 min à 70°C et aucune ne survit après 3 min à 80°C [95].

II.1.3. Effet de la teneur en sucre et en sels

Dans l'industrie alimentaire, le sel et le sucre sont souvent présents ou ajoutés en grande quantité. Le salage est une étape importante dans la fermentation lactique des légumes. La concentration en chlorure de sodium (NaCl) varie entre 20 et 80 g.L⁻¹ [13], soit entre 2 % et 8 % pendant la fermentation lactique de végétaux. Les bactéries lactiques sont particulièrement tolérantes au sel. Plusieurs souches de *Lb. plantarum*, *Lb. sakei* et *Lb. curvatus* ont montré une tolérance à 6,5 %, 8 % et 10 % en NaCl [94]. Des souches de *W. confusa* ont été capables de croître en présence de 8 % en NaCl [95]. La teneur en sel dans les plats cuisinés est d'environ 1 % et peut monter jusqu'à 30 % pour les olives.

II.1.4. La composition de l'aliment

Les bactéries lactiques ont besoin de plusieurs nutriments pour leur croissance, tels que des sucres, des acides aminés, des minéraux et des vitamines. La composition de l'aliment est donc un paramètre important pour une bonne fermentation. Les végétaux sont très riches en composés phénoliques, or, une concentration trop forte en composés phénoliques peut inhiber la croissance des bactéries lactiques. Les effets de plusieurs types de composés phénoliques sur la croissance de plusieurs bactéries lactiques (*Lb. hilgardii*, *Pc. pentosaceus* et *Oc. oeni*) ont été testés [96]. Les flavonols et les stilbènes ont montré une forte action inhibitrice sur la croissance des bactéries lactiques (CI₅₀ entre 0,160 et 0,855 g.L⁻¹). Les flavan-3-ols (catéchine et épicatechine) n'ont eu aucun effet sur les souches testées. Les stilbènes sont présents dans la peau des raisins, le vin et le jus de raisin. Les catéchines sont majoritairement présentes dans le thé vert.

II.1.5. Le type de fermentation choisi

Certaines bactéries lactiques croissent plus rapidement que d'autres et s'adaptent mieux que d'autres. Cela dépend de l'espèce utilisée, de la souche utilisée mais aussi de l'origine de la souche et de son état physiologique. Dans certains types de fermentation lactique, les bactéries lactiques sont souvent accompagnées de levures, c'est le cas des fermentations spontanées, où l'on laisse les végétaux fermenter naturellement. Ce type de fermentation peut affecter la fermentation dans un bon ou un mauvais sens, selon le métabolisme et la croissance des microorganismes mis en jeu. La concentration initiale en bactéries lactiques est aussi très importante, elle doit être suffisante pour permettre une croissance rapide des bactéries lactiques. Certains types de fermentation impliquent l'utilisation d'une ou plusieurs souches de bactéries lactiques bien spécifiques. Cette application est basée sur plusieurs critères et la souche doit être correctement choisie pour obtenir les propriétés sensorielles et nutritionnelles désirées. Le type de fermentation choisi est donc un facteur important selon la qualité du produit désiré.

II.2. Les fermentations spontanées

II.2.1. Définition

La fermentation spontanée est définie comme étant la résultante des activités compétitives entre plusieurs microorganismes qui dérivent de la surface du végétal ou de l'environnement

[11]. La surface des fruits et des légumes est caractérisée par une flore microbienne très diversifiée composée de bactéries à Gram positif (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, bactéries lactiques, bactéries formant des spores des genres *Bacillus* ou *Clostridium*), ou négatif (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Escherichia*, *Enterobacter*) pathogènes ou non, des levures et des champignons. La population microbienne varie entre 5,0 et 7,0 log UFC.g⁻¹ et est largement dominée par les bactéries à Gram négatif et les levures [9,97]. En effet, la population de levures varie entre 2 et 6 log UFC.g⁻¹. Les bactéries lactiques ne représentent qu'une toute petite partie, entre 2 et 4 log UFC.g⁻¹ [9]. Les bactéries lactiques ont besoin de nutriments, d'acides aminés, de minéraux et d'acides gras pour leur croissance, la surface des végétaux n'est pas un milieu adapté pour leur croissance. Par exemple, les bactéries lactiques ne représentaient que 16,7 % de la flore totale présente à la surface de différents types de laitue, alors que les levures et les entérobactéries représentaient 46,9 % et 36,5 %, respectivement [98].

Cependant, quand les conditions de température, d'oxygène et en nutriments sont optimales, les fruits et/ou légumes entreprennent une fermentation lactique, largement prédominée par les bactéries lactiques : c'est une fermentation spontanée. Les fermentations spontanées de légumes sont caractérisées soit par l'ajout de sel au végétal préalablement lavé et coupé pour développer une saumure ou soit en immergeant le produit frais dans une solution salée, ce qui permet de protéger le mélange de la lumière et de l'oxygène [99]. Avec cette étape de salage, les bactéries à Gram négatif sont inhibées dès le début de la fermentation. Avec des conditions de température, d'humidité et d'oxygène idéales, les bactéries lactiques, étant très tolérantes au sel et plus rapides à se développer, dominent les fermentations spontanées. Les autres bactéries restent inhibées par la production d'acide lactique. Les fruits sont généralement fermentés sans l'ajout de sel (**Figure 11**).

II.2.2. Microorganismes impliqués

Les fermentations spontanées de fruits et de légumes font intervenir des bactéries, essentiellement des bactéries lactiques ainsi que des levures.

Les bactéries lactiques dominent les fermentations spontanées de fruits et légumes (légumes à feuilles, chou, chou-fleur, radis, olives, concombres, brocoli etc.) car elles sont caractérisées par un plus fort taux de croissance et sont plus tolérantes au sel que les autres microorganismes. Les genres *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Enterococcus* et *Lactococcus* sont les plus majoritairement retrouvés [14] mais les

Lactobacillus restent prédominants (**Tableau 2**). *Lc. mesenteroides* est généralement l'espèce prédominante au début des fermentations de végétaux, créant un environnement propice pour la succession d'autres bactéries lactiques. Les *Lactobacillus* terminent en général les fermentations lactiques de végétaux, car ils sont plus tolérants à un faible pH. Les fermentations spontanées de fruits et légumes peuvent être caractérisées également par la présence de certaines levures. Les levures sont présentes généralement au début de la fermentation et disparaissent avec la production d'acide lactique par les bactéries lactiques [100]. Cependant, les levures sont essentielles et indispensables dans la fermentation de certains fruits et légumes. Par exemple, les bactéries lactiques et les levures sont responsables de la fermentation des olives noires [101]. Les levures ont été également retrouvées dans la fermentation du kimchi [102].

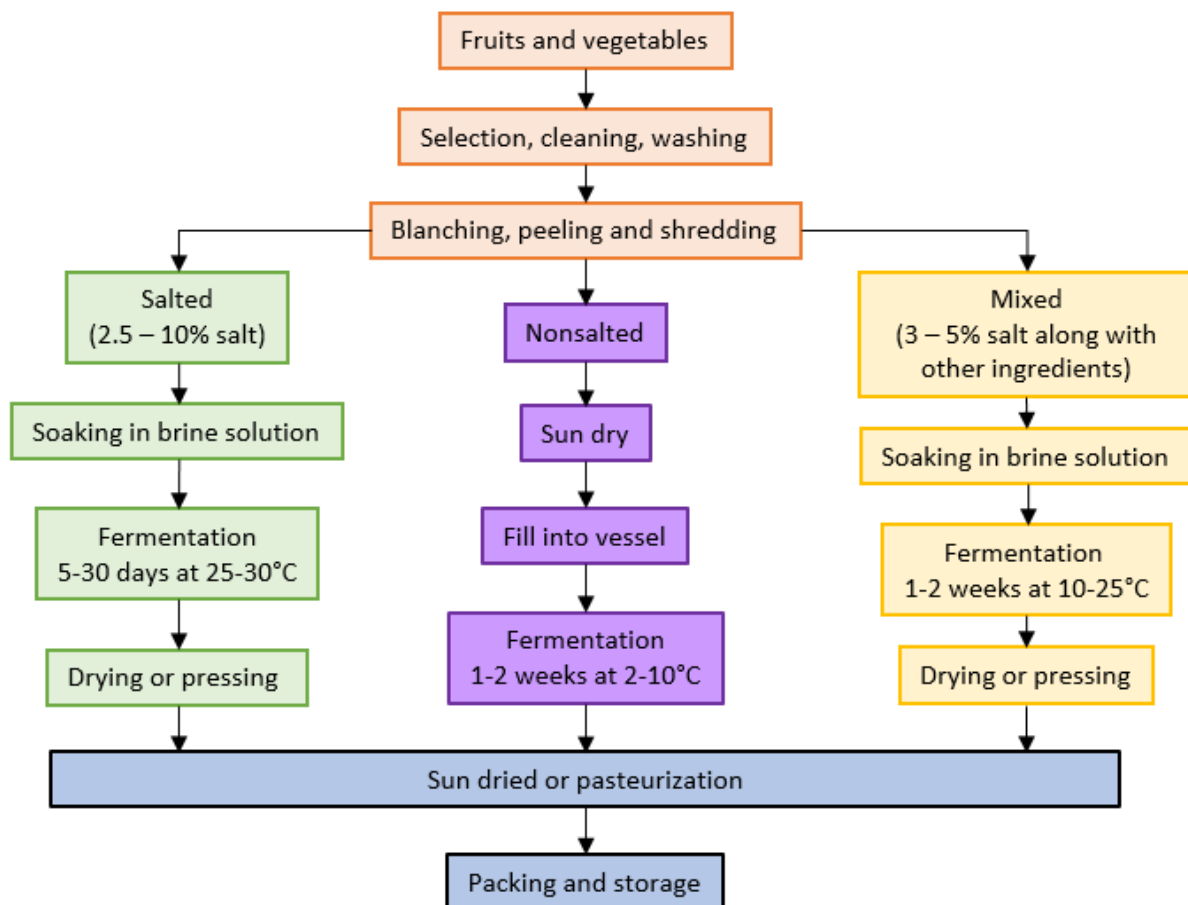


Figure 11 : Processus de fermentation des fruits et des légumes, d'après [103]

Tableau 2 : Bactéries lactiques impliquées dans différents types d'aliments à base de fruits et légumes obtenus par une fermentation spontanée

Produit	Matière première	Bactéries lactiques impliquées	Référence
Almagro	Aubergines	<i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i>	[104]
Mezcal	Plante agave (<i>Agave salmiana</i>)	<i>Lb. farraginis</i> , <i>Lb. kefir</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pontis</i> , <i>Weissella cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[105]
Kimchi	Chou chinois, radis, gingembre etc.	<i>Leuconostoc citreum</i> , <i>Lc. carnosum</i> , <i>Lc. gasicomitatum</i> , <i>Lc. gelidum</i> , <i>Lc. inhae</i> , <i>Lc. kimchii</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i> , <i>W. koreensis</i> , <i>Lb. curvatus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. sakei</i>	[106]
Olives	Olive	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Pediococcus cerevisiae</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> , <i>Lc. lactis</i>	[13]
Yan-dong-gua	Courge	<i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[107]
Yan-taozih	Pêches	<i>Lc. mesenteroides</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>W. minor</i> , <i>Lb. brevis</i>	[108]
Jiang-gua	Concombre	<i>W. cibaria</i> , <i>W. hellenica</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Ec. casseliflavus</i>	[109]
Gundruk	Chou, radis, moutarde, chou-fleur	<i>Lb. brevis</i> , <i>Pc. pentosaceus</i> , <i>Lb. plantarum</i> ,	[100]
Khalpi	Concombre	<i>Lc. fallax</i> , <i>Pc. pentosaceus</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i>	[100]
Choucroute	Chou	<i>Lc. mesenteroides</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> ,	
Pobuzihi	Cummingcordia	<i>Lb. pobuzihii</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>Pc. pentosaceus</i>	[110]
Tempoyak	Durian	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. sp.</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>Pc. acidilactici</i>	[111]
Sunki	Feuilles de navet	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Pc. pentosaceus</i>	[103]
Yan-jiang	Gingembre	<i>Lb. sakei</i> , <i>L. lactis</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>Lb. plantarum</i>	[112]
Yan-tsai-shin	Brocoli	<i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. minor</i> , <i>W. hellenica</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> , <i>L. lactis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i>	[113]
Ekung	Pousses de bambou	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. casei</i>	[14]
Hom-dong	Oignon rouge	<i>Lc. mesenteroides</i> , <i>Pc. cerevisiae</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. buchneri</i>	[14]

II.2.3. Exemple de fermentation lactique spontanée de fruits et légumes

Une grande variété de produits fermentés composés de fruits et de légumes est consommée partout dans le monde. Les produits mondialement connus sont la choucroute, les olives, les concombres et le kimchi.

Le kimchi

Les espèces *Leuconostoc*, *Weissella* et *Lactobacillus* sont responsables de la fermentation du kimchi (**Figure 12**). *Lc. mesenteroides* et *Lb. plantarum* sont les espèces dominantes. D'autres espèces participent à la fermentation du kimchi et incluent *Lc. citreum*, *Lc. gasicomitatum*, *Lb. brevis*, *Lb. sakei*, *Lc. lactis*, *Pc. pentosaceus*, *W. cibaria*, *W. confusa* et *W. koreensis*.

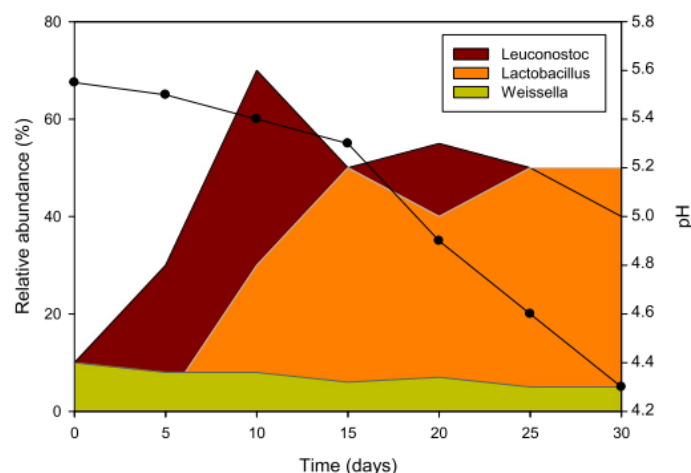


Figure 12 : Succession de bactéries lactiques et évolution du pH pendant la fermentation du kimchi, d'après [9]

La choucroute

La choucroute est caractérisée par la présence et la dominance des genres *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Pediococcus*. La fermentation commence avec la croissance de *Lc. mesenteroides* qui produit de l'acide lactique et du CO₂ et maintient les conditions anaérobies. Les espèces *Lactobacillus* (*Lb. brevis* et *Lb. plantarum*) se développent et continuent à

acidifier le mélange. *Pc. cerevisiae* est la dernière à se développer et acidifie encore le mélange. Le produit final contient environ 1,7 à 2,3 % d'acide lactique [114].

Les olives

Les olives peuvent être obtenues par trois processus différents : le style Espagnol, le style Grec et le style Californien. Les olives sont fermentées uniquement dans les styles Espagnol et Grec. Dans le style Espagnol, les olives sont récoltées quand elles sont encore de couleur verte alors que dans le style Grec, les olives sont récoltées quand elles sont de couleur noire. Dans le processus de fermentation Grec, la population microbienne non souhaitée (entérobactéries et *Pseudomonas*) reste considérablement élevée durant les huit premiers jours de fermentation. Elle diminue ensuite de façon concomitante à la croissance des bactéries lactiques et des levures et en parallèle de la diminution du pH (production d'acide lactique) (**Figure 13**).

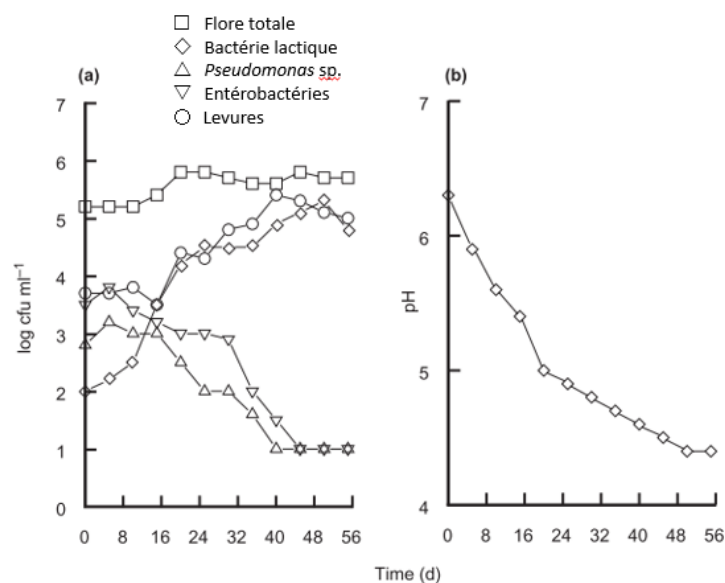


Figure 13 : (a) Ecologie microbienne et (b) évolution du pH pendant la fermentation spontanée d'olives noires, d'après [101]

II.2.4. Limitation des fermentations spontanées

II.2.4.1. Risque de contamination

Les fermentations spontanées de fruits et de légumes sont caractérisées par une grande variété d'espèces microbiennes différentes. Plusieurs espèces peuvent être impliquées, c'est pourquoi il est impossible de contrôler et de suivre indépendamment la croissance des différents microorganismes dans ce type de fermentation. Les concentrations en nutriments, en oxygène

et de température doivent être parfaitement ajustées afin de permettre sélectivement la croissance des bactéries lactiques. Le risque de multiplication de flores indésirables est élevé dans le processus de fermentation des olives par exemple, car le début de la fermentation est caractérisé par différents microorganismes incluant des bactéries aérobies à Gram négatif, des champignons, des levures et des bactéries lactiques. Si la fermentation lactique est retardée ou si le pH reste élevé, les bactéries à Gram négatif risquent de se développer. Ces risques sont probables pour les olives mais aussi pour toute autre fermentation spontanée de fruits ou de légumes, la population bactérienne lactique étant très faible initialement. La technique du « back slopping » (repiquage, en français) est utilisée dans certains cas pour remplacer la fermentation spontanée. Lorsqu'une fermentation spontanée a réussi, une partie de celle-ci peut être utilisée pour inoculer une nouvelle matière fraîche pour initier la fermentation. Il s'agit donc d'une inoculation continue d'une matière fraîche avec un produit déjà fermenté [10]. Cette technique est encore utilisée pour la production industrielle de choucroute. Elle permet de réduire les risques d'altération, cependant les souches peuvent subir des mutations au cours des repiquages et certaines bactéries dominent plus que d'autres.

II.2.4.2. La production d'amines biogènes

Pendant la fermentation, certaines bactéries lactiques peuvent synthétiser des amines biogènes (histamine, tyramine, putrescine, cadavérine). Ce sont des bases organiques généralement produites par la décarboxylation de certains acides aminés (histidine, tyrosine, lysine et ornithine). Les amines biogènes sont toxiques et provoquent des troubles physiologiques comme une augmentation du rythme cardiaque ou des migraines [115]. Les amines biogènes sont retrouvées dans plusieurs types d'aliments fermentés, essentiellement ceux à base de poisson, des fromages mais aussi dans la choucroute. La **figure 14** montre la cinétique de formation d'amines biogènes pendant une fermentation spontanée de choucroute. Les microorganismes responsables de la production d'amines biogènes ne sont pas représentés ici, mais la production de putrescine augmente dès le début de la fermentation et continue d'augmenter pendant la 2^{ème} phase, ces phases sont caractérisées par la croissance d'espèces de *Leuconostoc* et *Lactobacillus*.

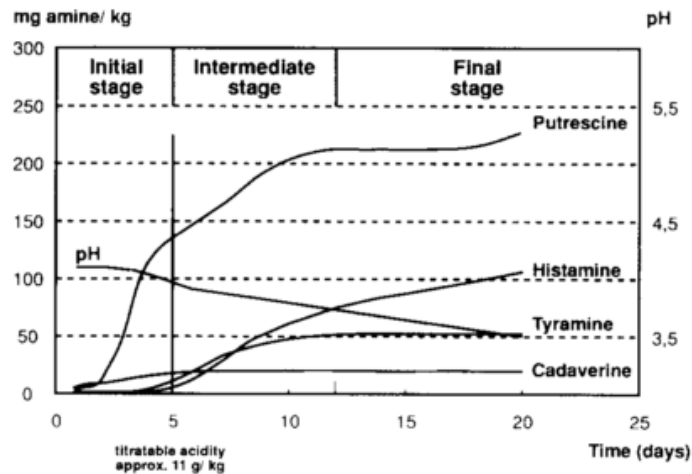


Figure 14 : Cinétique de formation d'amines biogènes pendant une fermentation de choucroute [10]

Pour réduire les risques d'altération et obtenir un meilleur suivi du processus de fermentation, les fermentations contrôlées utilisant des souches spécifiques sont de plus en plus utilisées pour la fermentation de fruits et de légumes.

II.3. Les fermentations contrôlées

II.3.1. Définition

Les fermentations contrôlées sont de plus en plus utilisées par les industries alimentaires. Les fermentations contrôlées consistent à inoculer la matière première fraîche (fruit ou légume) avec un ou plusieurs microorganismes, qu'on appelle ferments ou starters, dans le but d'accélérer le processus de fermentation et d'apporter des propriétés intéressantes, en excluant tous les autres microorganismes. Contrairement aux fermentations spontanées, dans ce type de fermentation, le microorganisme initiant la fermentation a été volontairement choisi pour conduire la fermentation, la rendant ainsi aisément contrôlable. Dans la plupart des fermentations contrôlées, la matière première est d'abord traitée afin d'éliminer et contrôler la microflore naturelle, ensuite le starter est rajouté pour conduire la fermentation.

II.3.2. Les ferments ou starters

Les starters ont comme rôle principal de conduire la fermentation et d'apporter des propriétés sensorielles, sanitaires et nutritionnelles. Un starter est défini comme une préparation contenant un grand nombre de cellules d'un ou plusieurs microorganismes qui est ajouté à la matière première dans le but d'accélérer le processus de fermentation [12]. Les champignons

Les souches commerciales *Lb. plantarum* NK-312, *Pc. acidilactici* AFERM 772 et *Lc. mesenteroides* BLAC ont été utilisées en tant que starters allochtones pour la fermentation de jus de légumes (carotte, chou, oignon) et de légumes entiers (chou, carotte, betterave) [116]. Après 2 heures d'incubation dans le jus de légumes, une forte mortalité a été observée pour *Lc. mesenteroides* BLAC, sensible à un faible pH. Les auteurs ont donc décidé d'utiliser une culture mixte comportant les trois souches pour conduire la fermentation de légumes. Les starters commerciaux ont accéléré le processus de fermentation et les légumes fermentés étaient plus acides que ceux fermentés spontanément. Une autre étude relate l'utilisation d'une souche commerciale de *Lb. plantarum* LP91 (isolée d'intestin humain) pour la fermentation lactique contrôlée d'ail [117]. L'ail a d'abord été épluché puis blanchi dans de l'eau chaude à 90°C pendant 15 min puis fermenté par *Lb. plantarum*. La fermentation a été conduite également sans que l'ail ait été blanchi préalablement. *Lb. plantarum* a montré une forte croissance lorsque l'ail a été blanchi, diminuant le pH de 6 à 3,8 après 7 jours de fermentation. En revanche, lorsque l'ail n'a pas été blanchi, la croissance du starter allochtone a été inhibée et une coloration verte indésirable s'est développée, probablement due à la croissance d'autres microorganismes. Le starter n'a pas été capable de dominer la flore initiale ce qui justifie une première étape de traitement thermique de la matière première avant la fermentation. Une autre souche de *Lc. mesenteroides* a été utilisée en tant que starter pour la fermentation de chou en choucroute. La choucroute fermentée par le starter allochtone était plus ferme, de meilleure qualité et ne contenait pas d'odeurs indésirables comparé à la choucroute fermentée spontanément [118].

En général, les fermentations lactiques utilisant des starters allochtones commerciaux sont plus acides que les fermentations spontanées, donc présentent un risque moins élevé de contamination. Les starters commerciaux n'ont pas toujours une origine affichée et sont utilisés pour une grande variété de produits. Le choix de la souche est important car parfois les starters ne sont pas bien adaptés (acidification trop lente ou trop rapide, faible capacité d'adaptation au produit). C'est le cas par exemple de la souche *Lc. mesenteroides* BLAC précédemment mentionnée et qui n'était pas bien adaptée à l'acidité initiale du produit. Quand la souche est correctement choisie et préalablement adaptée à l'aliment, elle apporte des propriétés sanitaires et sensorielles que l'on ne retrouve pas dans les fermentations spontanées. Cependant, afin d'avoir une sûreté par rapport à la niche écologique, les starters autochtones se sont de plus en plus développés.

II.3.2.2. Les starters autochtones

Qu'ils soient autochtones ou allochtones, les fermentations utilisant des starters sont plus rapides et plus sûres que les fermentations spontanées. Les starters autochtones sont utilisés pour fermenter la même matrice que celle de leur origine. De plus, l'adaptation préalable des starters autochtones à la matrice favorise leur implantation pendant la fermentation. Plusieurs études relatent l'utilisation de starters autochtones pour la fermentation de fruits et de légumes. Un mix de souches autochtones incluant *Lb. plantarum* M1, *Pc. pentosaceus* C4 et *Lc. mesenteroides* C1 a été utilisé pour fermenter différents jus de légumes composés soit de carotte, d'haricots verts ou de courgette [40]. Cette fermentation a été comparée en utilisant un mix de starters allochtones (*Lb. plantarum* LP54, *Pc. pentosaceus* PP1 et *Lc. mesenteroides* LcM12), isolés d'olives vertes fermentées. Après 24 h de fermentation, le nombre d'entérobactéries présents dans les jus de légumes fermentés par les souches autochtones était significativement plus faible que ceux fermentés par les souches allochtones. De plus, les starters autochtones ont acidifié plus rapidement les jus de légumes que les starters allochtones.

Du jus de tomate a été fermenté avec des souches autochtones de *Lactobacillus*, *Weissella*, *Pediococcus* ou *Enterococcus* [38]. Des jus non fermentés ou fermenté par la souche allochtone *Lb. plantarum* LP54 (isolée d'une saumure d'olives vertes fermentées) ont servi de jus témoins. La viscosité des jus fermentés par les souches autochtones était plus élevée, en particulier avec les espèces du genre *Weissella*, productrices d'EPS. De plus, l'activité antioxydante ainsi que les teneurs en vitamine C et en glutathion étaient mieux préservées dans les jus fermentés avec les souches autochtones que dans le jus non fermenté ou les jus fermentés par les souches allochtones. Après 40 jours de stockage à 4°C à pH 3,9, la survie des starters autochtones était plus élevée que celle de la souche allochtone.

Leur caractère autochtone confère aux starters de cette catégorie une meilleure implantation pendant le processus de fermentation. Cependant, plusieurs paramètres conditionnent cette implantation, comme l'adaptation aux conditions environnementales (température, acidité, nutriments) qui dépend de la pré-culture et de la souche utilisée. Ainsi, une sélection basée sur des critères bien définis est indispensable afin de choisir le type de starter (allochtone ou autochtone) en fonction de la matrice choisie.

II.3.2.3. Les critères de sélection

Tous les starters sélectionnés n'ont pas les mêmes caractéristiques. La croissance, les propriétés acidifiantes, la capacité à synthétiser des molécules aromatiques dépend de l'espèce mais aussi de la souche choisie. Pour sélectionner un bon starter pour la fermentation de fruits et de légumes, celui-ci doit posséder plusieurs caractéristiques réparties selon quatre critères : technologique, sensoriel, nutritionnel et sanitaire (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Critères technologiques, sensoriels, nutritionnels et sanitaires pour la sélection de starters pour la fermentation de fruits et de légumes, d'après [9]

Catégorie	Critères
Technologique	Taux de croissance et capacité acidifiante Tolérance au sel Croissance et tolérance à faible pH et à faibles températures Tolérance aux composés phénoliques Synthèse de composés antimicrobiens Pas de production d'H ₂ O ₂ Activité pectinolytique
Sensoriel	Métabolisme hétéro-fermentaire (selon le produit) Synthèse de composés aromatiques ou leurs précurseurs Synthèse d'exo-polysaccharides
Nutritionnel	Synthèse d'exo-polysaccharides Augmentation des capacités antioxydantes Métabolisation des composés phénoliques Production de bactériocines
Sanitaire	Pas de synthèse d'amines biogènes Pas de résistance aux antibiotiques

Une croissance rapide et une forte capacité d'acidification sont les deux premiers critères. Une rapide acidification durant les premières étapes de la fermentation limite les risques de multiplication des flores indésirables. Le sel étant l'un des principaux ingrédients de la fermentation lactique de légumes, le starter sélectionné doit être capable de s'adapter dans des milieux riches en sel pour ce type d'application. Certains fruits étant acides, le starter doit être capable de s'adapter et de croître à faible pH et de survivre ainsi pendant la période de stockage. Après fermentation, le produit est soit conservé à température ambiante soit au froid. La souche sélectionnée doit être capable de survivre à faible température. Comme nous l'avons vu précédemment, les fruits et les légumes sont riches en composés phénoliques, ces derniers à forte dose ont une action antimicrobienne et peuvent inhiber la croissance des

bactéries lactiques. La tolérance envers ces types de composés peut jouer un rôle pour la fermentation de fruits et de légumes. La synthèse de composés antimicrobiens participera également à la sûreté sanitaire du produit. Le métabolisme homo ou hétéro-fermentaire de la souche est également important. Selon les caractéristiques désirées du produit, un choix quant au type de métabolisme souhaité est préalablement requis. Les bactéries hétéro-fermentaires, produisant un certain nombre de composés (éthanol, CO₂ etc.), peuvent modifier considérablement les propriétés sensorielles du produit.

La recherche de starters producteurs d'EPS est en voie d'expansion. Les EPS, ayant un double rôle dans les fermentations, rôle sensoriel et nutritionnel, sont hautement désirés dans la fermentation lactique de jus ou de purée de fruits et de légumes [38,76]. La capacité à métaboliser les composés phénoliques est également recherchée car elle conduit à une augmentation de l'activité antioxydante du produit. De plus, dans les fermentations contrôlées, la matière première peut être traitée thermiquement afin d'enlever le maximum de microorganismes. Cette étape peut affecter fortement le produit en réduisant la teneur des composés hydrosolubles et en diminuant les capacités antioxydantes. Pour limiter la multiplication de microorganismes indésirables, le starter capable de synthétiser des bactériocines est privilégié. Enfin, le starter ne devra pas synthétiser d'amines biogènes, ni être résistant aux antibiotiques.

II.3.3. Intérêt des fermentations contrôlées

Contrairement aux fermentations spontanées, l'utilisation de starter (allochtone ou autochtone) permet une acidification plus rapide au début de la fermentation, ce qui limite les risques de développement des bactéries à Gram négatif, des levures ou des champignons filamenteux. Les fermentations contrôlées assurent donc la qualité sanitaire du produit.

Le suivi de la fermentation est plus facile dans le cas des fermentations contrôlées, car en général, il n'y a qu'un seul microorganisme. Les fermentations contrôlées peuvent mettre en jeu un mix de souches. Dans ce cas-ci, des méthodes basées sur l'ADN (microsatellites) permettent un suivi de chacune des souches. Les fermentations spontanées mettent en jeu différents types de microorganismes, il est très difficile de suivre la croissance de chacun d'entre eux et s'assurer que les microorganismes dominants sont bien des bactéries lactiques.

Dans les fermentations spontanées, les caractéristiques sensorielles ne sont pas prévisibles. Dans le cas des fermentations contrôlées, les propriétés sensorielles désirées et attendues sont présentes. Le starter sélectionné pour la fermentation est capable de synthétiser des molécules

aromatiques ou ayant un effet sur la texture du produit (CO₂, EPS). Enfin, les fermentations contrôlées peuvent apporter des propriétés nutritionnelles intéressantes. Les fermentations contrôlées mettant en œuvre la souche adéquate peuvent augmenter les capacités antioxydantes du produit.

II.4. Émergence des starters autochtones

L'utilisation des starters autochtones pour la fermentation de fruits et de légumes s'est intensifiée ces dernières années. Cette attractivité résulte d'une hypothèse émise, selon que les starters autochtones seraient génétiquement plus adaptés à la matrice que les starters allochtones. Cette hypothèse n'est pas encore confirmée pour toutes les espèces de bactérie lactique. De plus, cet effet peut être contrebalancé par l'état physiologique de la souche au moment de l'inoculation dans la matrice (culture liquide, culture lyophilisée).

II.4.1. Émergence des jus de fruits et légumes fermentés

Une partie des consommateurs est de plus en plus à la recherche de boissons à haute valeur nutritionnelle, riches en antioxydants et faciles à consommer. Les jus de fruits et de légumes sont généralement plus appréciés que les produits frais, car ils sont rapides à consommer. De plus, ils sont riches en minéraux, vitamines et composés antioxydants. L'émergence des fruits et des légumes fermentés provient de la combinaison séduisante de deux éléments : d'une part les fruits et les légumes sont bons pour la santé car ils apportent un certain nombre de composés non énergétiques et essentiels, et d'autre part, la fermentation lactique permet de conserver et/ou d'améliorer les propriétés nutritionnelles des fruits et des légumes. Pour répondre à ces principes, une grande variété de jus de fruits et de légumes fermentés par des bactéries lactiques aux propriétés fonctionnelles s'est développée ces dernières années. Dans la littérature, nous retrouvons différents types de boissons :

- Les jus de légumes : carotte, betterave, oignon, radis, courgette, haricots verts
- Les jus de fruits : ananas, grenade, cerise, orange, canneberge
- Les jus de fruits-légumes : tomates, poivrons
- Les smoothies : cerises, tomates, prunes, mûres, kiwi, fenouil, épinard, papaye

II.4.2. Propriétés fonctionnelles des starters

Aujourd'hui, le consommateur est soucieux du lien entre alimentation et santé. En conséquence, la recherche d'aliments fonctionnels (ayant des bienfaits nutritionnels pour la santé de l'Homme) s'est intensifiée ces dernières années. Les produits fermentés sont maintenant reconnus comme aliments fonctionnels, grâce aux bactéries lactiques et aux molécules qu'elles produisent (bactériocines, vitamines, exo-polysaccharides) et à leur capacité à augmenter les capacités antioxydantes des fruits et des légumes. Les propriétés probiotiques des bactéries lactiques entrent considérablement en jeu pour la recherche de starters pour la fermentation de fruits et de légumes. L'utilisation de starters, en particulier autochtones, aux propriétés fonctionnelles pour la fermentation de fruits et de légumes est de plus en plus considérée pour l'obtention d'aliments fonctionnels à haute valeur nutritionnelle.

II.4.3. Exemples d'application et souches de bactérie lactique utilisées

La fermentation lactique de fruits et de légumes passe par une première étape de sélection de starters selon les critères mentionnés précédemment. Le ou les starters aux propriétés les plus intéressantes sont sélectionnés pour conduire la fermentation. Cependant, il est difficile de prévoir le comportement de chaque souche, car il peut y avoir des interactions. C'est pourquoi, l'utilisation d'une seule souche est souvent préférée. Avant l'inoculation, la matrice est souvent pasteurisée afin d'éliminer le maximum de microorganismes thermosensibles. Puis, le starter est inoculé à une concentration assez élevée pour s'assurer de sa croissance dans le jus. La fermentation lactique se passe en général à des températures entre 25 et 30°C pendant 15 à 24 h. La durée et la température sont à adapter en fonction de la souche utilisée pour la fermentation. Après fermentation, le produit est généralement conservé au frais pendant 30 à 40 jours. Un diagramme de fabrication de fruits et légumes fermentés par fermentation contrôlée est illustré dans la **Figure 16**.

Dans la littérature, nous retrouvons plusieurs boissons innovantes à base de fruits et de légumes obtenues selon le protocole suivant (**Tableau 4**). Les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* sont les plus utilisés en tant que starters autochtones. Le genre *Weissella* est aussi de plus en plus utilisé en tant que starter autochtone, grâce à la forte production d'EPS de certaines espèces.

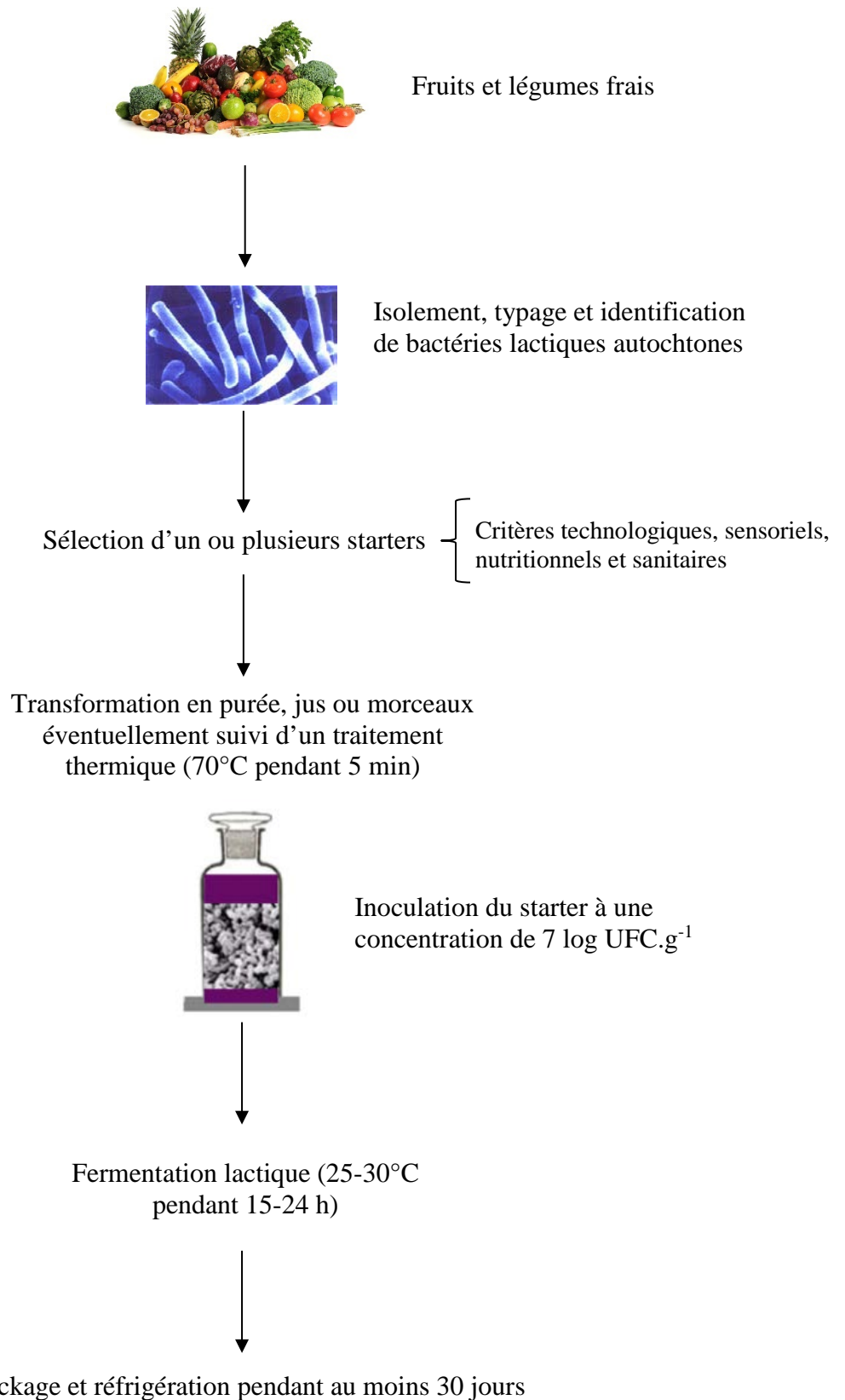


Figure 16 : Exemple de diagramme de fabrication de fruits et légumes fermentés par des bactéries lactiques autochtones, d'après [9]

Tableau 4 : Exemples de bactéries lactiques autochtones sélectionnées pour la fermentation de fruits et de légumes

Bactérie lactique	Fruits et légumes	Référence
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	Jus de légumes (carotte, haricots verts, courgette)	[40]
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus rossiae</i>	Jus d’ananas	[93]
<i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Weissella confusa</i>	Poivrons jaunes et rouges en saumure	[119]
<i>Lactobacillus</i> <i>Weissella</i> <i>Pediococcus</i> <i>Enterococcus</i>	Jus de tomate	[38]
<i>Weissella cibaria</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i>	Smoothies Fruits rouges (cerises, tomates, mûres, prunes) Smoothies Fruits et Légumes verts (kiwi, fenouil, épinard, papaye)	[7]
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	Purée de cerise	[120]
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Jus de grenade	[121]
<i>Lactobacillus</i> sp.	Jus de cerise Purée de brocoli	[90]
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Jus de concombre	[122]
<i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i>	Jus d’orange Jus d’ananas Jus de canneberge	[123]

II.4.4. Du starter autochtone vers les starters commerciaux

Pour obtenir le statut commercial et pouvoir être utilisé pour la production de divers aliments, le starter autochtone doit passer plusieurs étapes de caractérisation, de sûreté en laboratoire. Plusieurs espèces restent encore au stade d’étude en laboratoire car leur sécurité sanitaire n’est pas encore confirmée, malgré leur potentiel de fermentation. De plus, la commercialisation d’un starter implique un coût élevé de production (propagation de la culture, lyophilisation etc). Ceci représente également un frein à la commercialisation de nouveaux starters. De plus, l’espèce choisie sera plus facilement commercialisée si elle possède le statut de GRAS (Generally Recognized As Safe) ou QPS (Qualified Presumption of Safety) pour pouvoir être utilisé pour la production d’aliments. Les espèces *Bb. longum*, *Carnobacterium divergens*, *Lb. diolivorans*, *Lb. plantarum*, *Lb. delbreuckii*, *L. lactis*, *Lc. mesenteroides*, *Oc. oeni*,

Pc. pentosaceus, *Pc. acidilactici* et *Sc. thermophilus* sont quelques espèces qui possèdent ce statut, ce qui leur confère un statut de sûreté.

Les espèces du genre *Weissella*, plus précisément *W. cibaria* et *W. confusa* sont retrouvées dans plusieurs aliments végétaux fermentés où elles sont dominantes, comme dans le cas du kimchi. De plus, elles sont connues pour produire des EPS et des bactériocines. Plusieurs études ont montré leur application en tant que starter autochtone pour la fermentation de fruits et de légumes où elles ont été capables d'augmenter les propriétés sensorielles, nutritionnelles et sanitaires. Cependant, ces espèces restent encore très peu étudiées et leur statut QPS n'a pas été demandé.

CHAPITRE III : Utilisation de *Weissella* comme starters

Les espèces du genre *Weissella*, plus précisément *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. paramesenteroides*, *W. koreensis* et *W. hellenica*, malgré le fait qu'elles soient retrouvées dans plusieurs types d'aliments fermentés, restent encore très peu étudiées et ne sont pas utilisées en tant que starters commerciaux, contrairement aux espèces *Lb. plantarum*, *Lb. delbrueckii*, *Lc. mesenteroides*, *L. lactis*, *Sc. thermophilus* ou *Pc. acidilactici*, entre autres. La caractérisation de ces espèces est l'un des objectifs de ce projet de thèse. Ce chapitre apporte une synthèse bibliographique du genre *Weissella*, des caractéristiques connues et des études des espèces de ce genre. Il est présenté sous la forme d'une revue publiée dans le journal *Fermentation*, intitulée *Why are Weissella spp. not used as commercial starter cultures for food fermentation?*


Fessard, A.; Remize, F. Why are *Weissella* spp. not used as commercial starter cultures for food fermentation? *Fermentation* 2017, 3, 38.

Revue : Why are *Weissella* spp. not used as commercial starter cultures for food fermentation



Review

Why Are *Weissella* spp. Not Used as Commercial Starter Cultures for Food Fermentation?

Amandine Fessard and Fabienne Remize * 

UMR C-95 QualiSud, Université de La Réunion, CIRAD, Université Montpellier, Montpellier SupAgro, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, F-97490 Sainte Clotilde, France; amandine.fessard@univ-reunion.fr

* Correspondence: fabienne.remize@univ-reunion.fr; Tel.: +26-269-220-0785

Received: 25 June 2017; Accepted: 14 July 2017; Published: 3 August 2017

Abstract: Among other fermentation processes, lactic acid fermentation is a valuable process which enhances the safety, nutritional and sensory properties of food. The use of starters is recommended compared to spontaneous fermentation, from a safety point of view but also to ensure a better control of product functional and sensory properties. Starters are used for dairy products, sourdough, wine, meat, sauerkraut and homemade foods and beverages from dairy or vegetal origin. Among lactic acid bacteria, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* and *Pediococcus* are the majors genera used as starters whereas *Weissella* is not. *Weissella* spp. are frequently isolated from spontaneous fermented foods and participate to the characteristics of the fermented product. They possess a large set of functional and technological properties, which can enhance safety, nutritional and sensory characteristics of food. Particularly, *Weissella cibaria* and *Weissella confusa* have been described as high producers of exo-polysaccharides, which exhibit texturizing properties. Numerous bacteriocins have been purified from *Weissella hellenica* strains and may be used as bio-preservative. Some *Weissella* strains are able to decarboxylate polymeric phenolic compounds resulting in a better bioavailability. Other *Weissella* strains showed resistance to low pH and bile salts and were isolated from healthy human feces, suggesting their potential as probiotics. Despite all these features, the use of *Weissella* spp. as commercial starters remained non-investigated. Potential biogenic amine production, antibiotic resistance pattern or infection hazard partly explains this neglecting. Besides, *Weissella* spp. are not recognized as GRAS (Generally Recognized As Safe). However, *Weissella* spp. are potential powerful starters for food fermentation as well as *Lactococcus*, *Leuconostoc* or *Lactobacillus* species.

Keywords: *Weissella*; food fermentation; starter culture

1. Introduction

Fermentation has been applied for thousand years as a method to preserve perishable foods. It seems that fermentation appeared in the period 8000–6000 BC in Iraq with the fabrication of cheese. Later, in the period 4000–2000 BC, Egyptians discovered how to use yeasts to make leavened bread and wine [1]. Nowadays, a large variety of fermented foods are consumed around the world and appreciated for their organoleptic and sensory properties, including cheese, yoghurt, kefir, beer, *Kombucha*, *Pozol*, sourdough, *Kimchi*, olives, sauerkraut, pickles, *Tempe*, *Gari*, *Fufu* or sausages [2]. Whatever the nature of the raw material, fermented foods are obtained either by spontaneous fermentation or by the use of starter cultures. Spontaneous fermentation results from the combined actions of microorganisms originating from the raw materials or the environment, including yeast, fungi and bacteria [3]. Started fermentation consists in inoculating the raw material with a single or a mix of safe microbial strains in order to control and accelerate the fermentation process. These two different processes result in different molecular changes and different sensory properties.

Microorganisms used in commercial starter cultures include bacteria, yeasts and molds. Molds are used in the production of meat and cheese products and the species available as commercial starter cultures are *Penicillium roqueforti*, *Penicillium nalgiovense* and *Penicillium chrysogenum* [4]. Yeasts are used in the production of beer, wine, bread and cheese. The species available as commercial starter cultures include *Debaryomyces hansenii*, *Galactomyces geotrichum* but mostly *Saccharomyces cerevisiae*. Among the microorganisms available as starter cultures, lactic acid bacteria (LAB) are the most diverse. They are used to start wine, bread, vegetables, meat and dairy product fermentation.

LAB are a group of gram-positive bacteria, non-spore forming, cocci or rods, that produce lactic acid as the major end-product of carbohydrate fermentation. LAB are extensively involved in spontaneous fermentation and the major genera are *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* and *Weissella* [5]. They play a central role in the fermentation process. Particularly, they cause a rapid acidification of the raw material by the production of lactic acid and produce several other important compounds such as ethanol, carbon dioxide, bacteriocins, exopolysaccharides (EPS), aromatic compounds, vitamins or useful enzymes. Lactic fermented foods have a long and safe history of consumption and have been associated with health benefits, safety, nutritional and sensory properties improvement. For these reasons, LAB have gained interest these last decades and the research for new LAB starters is increasingly developed.

Nowadays, more than 20 LAB species are available as commercial starter cultures. Among those, *Lactobacillus plantarum*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. sakei*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus pentosaceus* and *Leuconostoc mesenteroides* are the species mostly used [6–8]. They have been used for decades in food fermentation, are recognized as safe and were selected from technological and sensorial assays.

Over the past 20 years, scientists have gained interest for the genus *Weissella*. *Weissella* was proposed as a genus in 1993 from re-classified *Lactobacillus* and *Leuconostoc* spp. They are frequently detected in many fermented foods [9–13] and participate to the final stage of the fermented product, together with *Lactobacillus* and *Leuconostoc*. As other LAB species used as commercial starters, *Weissella* spp. produce bacteriocins, EPS and hydrolytic enzymes [14]. However, they are still not used as commercial starters in food industries and remain under a laboratory investigation stage.

This review aims to understand the reasons why *Weissella* spp. are not used as commercial starters in food fermentation. Taxonomy, characteristics and the role of *Weissella* spp. in spontaneous fermentation were investigated, as well as their functional and technological properties, and possible reasons that would explain the poor investigation of *Weissella* spp. as starters.

2. *Weissella* Genus

2.1. Phenotypic and Genetic Characteristics of *Weissella* spp.

Weissella genus belongs to the *Leuconostocaceae* family together with the genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Fructobacillus* [15]. *Weissella* genus was proposed in 1993 from previously *Leuconostoc* and *Lactobacillus* classified species. *Weissella* spp. are gram-positive, catalase negative, asporogenous, non-motile, except for *W. beninensis*, and lack cytochrome [16]. Cells are either short rods or ovoid and occur in pair or in short chains. They are facultative anaerobic with an obligatory fermentative metabolism. *Weissella* spp. are hetero-fermentative: glucose is fermented via the hexose-monophosphate and phosphoketolase pathways. End products are lactic acid, CO₂, ethanol and acetic acid, except for *Weissella ceti* which does not produce gas [17]. Configuration of lactic acid can be either D(-) or DL. Hydrolysis of arginine depends on the species whereas all *Leuconostoc* spp. are arginine-negative. Cell-wall peptidoglycan is composed of lysine and the interpeptide bridge contains alanine or serine, except for *Weissella kandleri* which contains glycine. Growth mainly occurs between 15 °C and 37 °C, but some strains of *Weissella cibaria* and *Weissella confusa* are able to grow at 45 °C. The type

species is *Weissella viridescens*. Fusco et al. [18] have drawn a complete description of *Weissella* spp., except for *Weissella bombi* and *Weissella jogaejeotgali* which have been described afterwards.

Distinction between *Weissella*, *Leuconostoc* and heterofermentative lactobacilli remains impossible based only on morphological observation. Since they produce gas from carbohydrates, members of the genus *Weissella* may be distinguished from homofermentative lactobacilli, enterococci, pediococci, lactococci and streptococci. Generally, identification of *Weissella* spp. is performed with molecular methods, such as 16S rRNA gene sequencing, amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), ribotyping, Matrix-associated laser desorption ionization Time-of-Flight (MALDI-ToF), repetitive element-PCR fingerprinting using (GTG)₅-PCR or fluorescent-Amplified Fragment Length Polymorphism (fAFLP) [18].

The genome sequence of 28 strains belonging to 12 species has been published (GenBank). The smallest genomes belong to *Weissella halotolerans* (1.36 Mb) and *W. ceti* (1.35 to 1.39 Mb), which share the same taxonomic branch. The largest genomes belong to *W. cibaria* (2.32 to 2.47 Mb), *W. confusa* (2.18 to 2.28 Mb), *W. jogaejeotgali* (2.11 Mb) and *Weissella oryzae* (2.13 Mb), all these four species having been isolated from fermented foods. The core-proteome of *Weissella* represented 729 COGs (Clusters of Orthologous Genes), over a pan-proteome of 4712 COGs. Core-proteome is essentially involved in housekeeping but shows a relative lack of shared traits between all species, which might explain the diversity of niches of the species.

2.2. Taxonomical Position and Specific Traits

Collins et al. [19] demonstrated that *Lactobacillus confusus*, *Lactobacillus kandleri*, *Lactobacillus minor*, *Lactobacillus viridescens* and *Lactobacillus halotolerans* were phylogenetically related to *Leuconostoc paramesenteroides*. Besides, a unique murein type, Lys-Ser/Ala, was reported within *Lb. viridescens*, *Lb. minor* and *Lb. halotolerans*, which was identical to that found in the *Lc. paramesenteroides* group [20]. Hence, from this group, the genus *Weissella* was created and species were named *Weissella paramesenteroides*, *W. confusa*, *W. kandleri*, *Weissella minor*, *W. viridescens*, *W. halotolerans* plus *Weissella hellenica*, isolated from fermented sausages [19]. Based on 16S and 23S rRNA sequence analyses, three evolutionary lines were distinguished in *Leuconostoc* spp., nowadays named *Leuconostoc sensu stricto*, *W. paramesenteroides* and *Oenococcus oeni* [21]. The genera *Oenococcus* and *Fructobacillus* have been proposed from re-classified *Leuconostoc* spp. [22,23], but interestingly, *Weissella* was the only genus of the *Leuconostocaceae* family gathering re-classified *Leuconostoc* and *Lactobacillus* spp. Currently, the genus *Weissella* comprises 21 species, isolated from a high variety of sources (Table 1). Based on partial 16S rRNA coding sequence, several branches can be separated within *Weissella* spp. (Figure 1 and Table 1). *Weissella ghanensis*, *Weissella fabaria*, *Weissella fabalis*, all isolated from fermented cassava, and *W. beninensis* belong to the same branch. *W. ceti*, *W. halotolerans*, *W. minor*, *Weissella uvarum* and *W. viridescens* share another taxonomic branch, which mainly originates from previous *Lactobacillus* spp. [20]. Species of this branch harbor diverse habitats. *W. viridescens* and *W. halotolerans* have been isolated from meat products [20,24], *W. minor* from milking machine sludge [20], *W. ceti* from a beaked whale [17] and *W. uvarum* from wine grapes [25].

Weissella diestrammenae, *W. kandleri* and *Weissella koreensis* constitute a third branch with strains from different sources. *W. kandleri* and *W. koreensis* were isolated from *Koumiss*, a fermented drink from mare milk, and from kimchi, respectively. *W. cibaria* and *W. confusa* belong to the same branch and share numerous habitats. Both species have been found in fermented foods, animal, clinical samples and human feces. These two species are hardly distinguishable since they share 99.6% of identity in their 16S rRNA coding sequence. Another branch comprises *W. bombi*, *W. hellenica*, *W. jogaejeotgali*, *W. paramesenteroides* and *Weissella thailandensis*. All the species from this branch have been isolated from fermented foods except *W. bombi* isolated from insect gut. Interestingly, *W. jogaejeotgali* and *W. thailandensis* are closely related and both have been detected in *Jeotgal*, a fermented seafood product. *W. paramesenteroides* and *W. hellenica* were detected in fermented sausages, fermented milk or cheese.

Table 1. *Weissella* species, sources, taxonomic branch and genome size.

<i>Weissella</i> spp.	Sources	Genome Size (Mb)	Taxonomic Branch	References
<i>W. fabalis</i>	Cocoa bean fermentation	-	1	[26]
<i>W. fabaria</i>	Cocoa bean fermentation	-	1	[27]
<i>W. ghanensis</i>	Cocoa bean fermentation	-	1	[28]
<i>W. beninensis</i>	Fermented cassava	-	1	[16]
<i>W. jogaejeotgali</i>	Jeotgal (fermented seafood)	2.11 (CP014332.1)	2	[29]
<i>W. thailandensis</i>	Jeotgal, Mexican cheese, Thai fermented meat and fish	1.97 (HE575133 to HE575182)	2	[30]; See Table 2
<i>W. paramesenteroides</i>	Fermented sausages, fermented fruits and vegetables, fermented milk, cheese, fermented cassava, sourdough, fermented cereal, fermented fish	1.96 (NZ_ACKU00000000.1)	2	[31,32]; See Table 2
<i>W. hellenica</i>	Fermented sausages, fermented vegetables, fermented milk, cheese, fermented maize beverage, fermented meat	1.82–1.92 (NZ_BBIK00000000.1; NZ_FMAW00000000.1)	2	[19]; See Table 2
<i>W. bombi</i>	Gut of a bumble bee	-	2	[33]
<i>W. halotolerans</i>	Meat products, fermented sea food, cheese, fermented sausages	1.36 (NZ_ATUU00000000.1)	3	[20]; See Table 2
<i>W. ceti</i>	Beaked whale	1.35–1.39 (NZ_ANCA00000000.1; NZ_CP009224.1)	3	[17]
<i>W. viridescens</i>	Meat products, dry salami, kimchi, fermented milk, cheese, fermented cereal beverage, fermented sausages, fermented fish	1.53–1.56 (NZ_JQBM00000000.1; NZ_CYXF00000000.1)	3	[24]; See Table 2
<i>W. minor</i>	Sludge of milking machine, fermented fruits and vegetables, fermented dry salami	1.77 (NZ_JQCD00000000.1)	3	[20]; See Table 2
<i>W. uvarum</i>	Wine grapes	-	3	[25]
<i>W. diestrammenae</i>	Gut of a camel cricket	-	4	[34]
<i>W. kandleri</i>	Desert spring and desert plants	1.33 (NZ_JQBP00000000.1)	4	[35]
<i>W. koreensis</i>	Kimchi, fermented vegetables	1.42–1.73 (NC_015759.1; NZ_AKGG00000000.1)	4	[36]; See Table 2
<i>W. cibaria</i>	Malaysian ingredients foods, clinical samples, animals, human feces, fermented fruits and vegetables, fermented dairy products, cheese, fermented cassava, fermented cereal foods and beverages, sourdough, cocoa bean fermentation, fermented sausages, fermented fish	2.32–2.47 (NZ_AEKT00000000.1; NZ_CP012873.1)	5	[37]; See Table 2
<i>W. confusa</i>	Sugar cane, animal, clinical samples, Malaysian ingredients foods, human feces, pasta manufacturing, kimchi, fermented vegetables, fermented milk, cheese, fermented cereal foods, fermented cassava, sourdough, cocoa bean fermentation, pork sausages, fermented fish	2.18–2.28 (NZ_MNBZ00000000.1; NZ_CAGH00000000.1)	5	[37,38]; See Table 2
<i>W. oryzae</i>	Fermented rice grains, cereal based beverage	2.13 (NZ_BAWR00000000.1)	0	[34,39]
<i>W. soli</i>	Soil, kimchi, Jeotgal, stinky tofu, leek fermentation, sliced cabbage	-	0	[40]; See Table 2; [31]

Table 2. Detection of *Weissella* spp. in fermented foods.

Food Category	Fermented Product	<i>Weissella</i> Species	Reference
Fruits and Vegetables Fermented Food	Kimchi (mix vegetables)	<i>W. koreensis</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i> , <i>W. soli</i> , <i>W. hellenica</i>	[36,41–46]
	Yan-dong-gua (wax gourd)	<i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[47]
	Pobuzihi (cummingcordia)	<i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[48]
	Jiang-gua (cucumbers)	<i>W. cibaria</i> , <i>W. hellenica</i>	[49]
	Yan-tsai-shin (broccoli stems)	<i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. minor</i>	[50]
	Yan-Jiang (ginger)	<i>W. cibaria</i>	[51]
	Yan-taozih (pickled peaches)	<i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. minor</i>	[52]
	Xi-gua-mian (watermelon)	<i>W. paramesenteroides</i>	[53]
	Dochi (black beans)	<i>W. paramesenteroides</i>	[54]
	Koozh (cucumber)	<i>W. koreensis</i>	[55]
	Suan-tsai, fu-tsai (mustard product)	<i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[56]
	Jeotgal (sea food)	<i>W. thailandensis</i> , <i>W. halotolerans</i> , <i>W. soli</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. jogaejeotgali</i>	[29,43]
	Stinky tofu	<i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. soli</i>	[57]
	Tuaw jaew (soybeans)	<i>W. confusa</i>	[58]
	Fermented sea food	<i>W. paramesenteroides</i>	[59]
	Fermented cabbage	<i>W. cibaria</i>	[60]
	Tempoyak (durian)	<i>W. paramesenteroides</i>	[61]
	Commercial cucumber fermentation	<i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[62]
	Cauliflower and mixed vegetables	<i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[63]
	Well-fermented leek kimchi	<i>W. viridescens</i> , <i>W. confusa</i> , <i>W. cibaria</i>	[64]
Leek fermentation	<i>W. soli</i> , <i>Weissella</i> spp.	[65]	
Commercial sauerkraut	<i>Weissella</i> spp.	[66]	
Sauerkraut	<i>Weissella confusa/cibaria</i>	[67]	
Dairy Fermented Food	Nono (Fermented skimmed milk), cheese	<i>W. confusa</i>	[68]
	Nunu (Ghanaian fermented milk)	<i>W. confusa</i>	[69]
	Kule naoto (Masain fermented milk in Kenya)	<i>W. paramesenteroides/Lc mesenteroides</i>	[70]
	Maisian fermented zebu milk	<i>W. confusa (Lb confusus)</i> , <i>W. viridescens (Lb viridescens)</i>	[71]
	Mongolian fermented milk	<i>W. viridescens</i>	[72]
	Shubat (fermented camel milk)	<i>W. hellenica</i>	[73]
	Dahi (Indian yogurt like product)	<i>W. cibaria</i>	[60]
	Italian cheese	<i>W. confusa</i> , <i>W. cibaria</i>	[74]
	Mexican cheese (Cotija cheese)	<i>W. thailandensis</i>	[75]
	Manura (hard cheese)	<i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. viridescens</i>	[76]
	Scamorza Altamura Cheese	<i>W. viridescens</i>	[77]
	Mozarella cheese	<i>W. hellenica</i>	[78]
	Cheddar cheese	<i>W. halotolerans</i> , <i>W. viridescens</i>	[79]
Romanian cheese	<i>W. viridescens</i>	[80]	
Mongolian dairy products	<i>W. cibaria</i>	[81]	

Table 2. Cont.

Food Category	Fermented Product	Weissella Species	Reference
Starchy or Cereal-Based Fermented Food and Diverse	Togwa (sorghum based food)	<i>W. confusa</i>	[82]
	Gari, Attieke, Lafun (cassava)	<i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i> , <i>W. beninensis</i>	[16,83–86]
	Idli batter (Indian fermented rice and black gram based food)	<i>W. confusa</i> , <i>W. cibaria</i>	[60,87]
	French wheat sourdough, buckwheat and teff sourdough, Italian sourdough, Turkish sourdough, spontaneous sourdough	<i>W. confusa</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[10,88–93]
	Mexican <i>Pozol</i>	<i>W. paramesenteroides</i>	[94]
	Fermented rice grains	<i>W. oryzae</i>	[95]
	Chicha (maize based beverage)	<i>W. confusa</i> , <i>W. hellenica</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[96]
	Kunu-zaki (Nigerian cereal based food)	<i>W. confusa</i>	[97]
	Boza (Bulgarian cereal-based beverage)	<i>W. confusa</i> , <i>W. oryzae</i>	[39]
	Fura (African millet based food)	<i>W. confusa</i>	[98]
	Borde (Ethiopian cereal beverage)	<i>W. confusa</i> , <i>W. viridescens</i>	[99]
	Cocoa bean fermentation	<i>W. cibaria</i> , <i>W. ghanensis</i> , <i>W. confusa</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. fabaria</i> , <i>W. fabalis</i>	[26–28,100]
Makgeolli (Korean starchy alcoholic beverage)	<i>W. confusa</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[101]	
Fermented Meat and Fish Product	Nham (Thai fermented pork sausage)	<i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i>	[102–104]
	Italian fermented sausages	<i>W. hellenica</i> , <i>W. paramesenteroides</i>	[105,106]
	Greek dry-fermented sausages	<i>W. viridescens</i>	[107]
	Fermented sausages in Hungary	<i>W. paramesenteroides</i> / <i>W. hellenica</i> , <i>W. viridescens</i>	[108]
	Alheira (Fermented sausage in Portugal)	<i>W. cibaria</i> , <i>W. viridescens</i>	[109]
	Sucuk (fermented turkish sausages)	<i>W. viridescens</i>	[110]
	Portuguese fermented sausage	<i>W. halotolerans</i>	[111]
	Smoked horsemeat sausage	<i>W. hellenica</i> , <i>Weissella</i> spp.	[112]
	Fermented sausages	<i>W. hellenica</i>	[19]
	Fermented Greek dry salami	<i>W. hellenica</i> , <i>W. viridescens</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. minor</i> , <i>W. halotolerans</i>	[113]
	Chinese dong fermented meat	<i>W. hellenica</i>	[114]
	Mum (Thai fermented meat)	<i>W. thailandensis</i>	[58]
Pla-ra, Pla-ra sub, plaa-som, pla-jom, pla-jaw (Thai fermented fish)	<i>W. thailandensis</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i> , <i>W. paramesenteroides</i> , <i>W. viridescens</i>	[30,58,115–117]	
Sidra (Fish products)	<i>W. confusa</i>	[118]	

Finally, two species remained unclassified, *W. soli* and its closest neighbor species, *W. oryzae*. *W. soli* is the only *Weissella* spp. which has been isolated from soil and *W. oryzae* has been isolated from fermented rice grains.

All *Weissella* species except five were isolated from fermented food (Table 1).

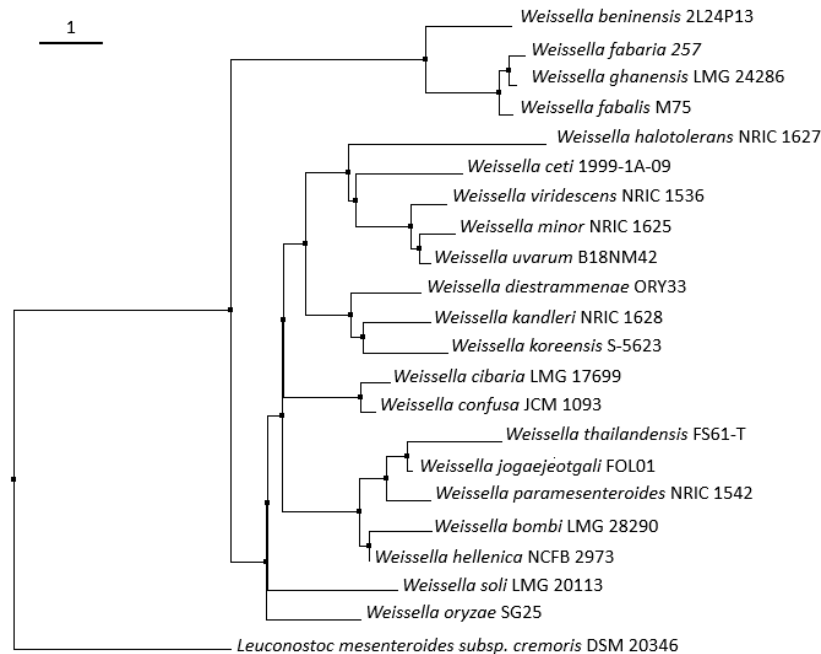


Figure 1. Neighbour-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of *Weissella* and the related species *Leuconostoc mesenteroides* obtained from Clustal W2 Multiple Sequence Alignment. The relative genetic distances are indicated by the scale bar and the branch lengths. *Weissella* species Accession numbers: *W. beninensis* 2L24P13; EU439435. *W. fabaria* 257; FM179678. *W. ghanensis* LMG 24286; AM882997. *W. fabalis* M75; HE576795. *W. halotolerans* NRIC 1627; AB022926. *W. ceti* 1999-1A-09; FN813251. *W. viridescens* NRIC 1536; AB023236. *W. minor* NRIC 1625; NR_040809. *W. uvarum* B18NM42; KF999666. *W. diestrammenae* ORY33; JQ646523. *W. kandleri* NRIC 1628; AB022922. *W. koreensis* S-5623; AY035891. *W. cibaria* LMG 17699; AJ295989. *W. confusa* JCM 1093; AB023241. *W. thailandensis* FS61-T; AB023838. *W. jogaejeotgali* FOL01; NR_145896. *W. paramesenteroides* NRIC 1542; AB023238. *W. bombi* LMG 28290; LK054487. *W. hellenica* NCFB 2973; X95981. *W. soli* LMG 20113; AY028260. *W. oryzae* SG25; AB690345.

3. Occurrence of *Weissella* in Spontaneous Fermentation

3.1. General Occurrence

Numerous *Weissella* strains have been isolated from a large panel of spontaneous fermented foods including fruits and vegetables-based foods, fermented meat and fish products and starchy or cereal-based foods (Table 2). A frequent detection of *Weissella* spp. in a large variety of spontaneous fermented foods strengthens the fact that they are able to adapt to a multitude of environment and play an important role in the fermentation process. Moreover, the identification of *Weissella* spp., which dominates the microflora of fermented foods, is an important step for the development of new starter cultures for the fermentation industry. These are the reasons why we hypothesized that the high presence and the role of *Weissella* spp. in fermented food justifies to pay attention to a possible use as starter in the food fermentation industry.

3.2. Fruits and Vegetables-Based Products

W. cibaria, *W. confusa* and *W. paramesenteroides* have been isolated from fermented leek, fermented cabbage, fermented cauliflower and sauerkraut [63,65,67,119]. These species but also *W. soli*, *W. thailandensis*, *W. hellenica*, *W. koreensis*, *W. minor*, *W. halotolerans* and *W. jogaejeotgali* have been isolated from Asian traditional fruits and vegetables-based fermented products, like *Kimchi*, *Yan-dong-gua*, *Pobuzih*, *Jiang-gua*, *Yan-tsai-shin*, *Yan-jiang*, *Yan-taozih*, *Xi-gua-mian*, *Dochi*, *Suan-tsai*, *Jeotgal* and Stinky tofu (Table 2) [29,36,41–44,46–54,56,57]. *Kimchi* is a Korean traditional fermented vegetable composed of Chinese cabbage and other ingredients like radish, green onion, red pepper powder, garlic, ginger and fermented seafood (*Jeotgal*) [120]. *Yan-taozih* (pickled peaches), *Xi-gua-mian* (fermented watermelon) and *Pobuzih* (fermented cummingcordia) are popular fermented fruits in China and Taiwan [53,120]. *Yan-dong-gua*, *Jiang-gua*, *Yan-tsai-shin* and *Yan-jiang* are traditional fermented foods of Taiwan, composed of fermented wax gourd, cucumber, broccoli stems and ginger, respectively.

Interestingly, *Weissella* spp. are frequently found in vegetables which belong to the cabbage family (cabbage, broccoli, cauliflower and radish) and in fruits from the gourd family (cucumbers, wax gourd, watermelon). Nowadays, cabbages, cucumbers and olives are the main vegetables industrially transformed by lactic acid fermentation [7]. Persistence of *Weissella* spp. in cabbage and gourd-based fermented products is a cornerstone for its use as starters for these kinds of products.

Actually, the role of *Weissella* spp. in vegetable fermentation is not clearly understood. They are frequently isolated from fermented vegetables and participate to the final stage of the fermented product. *W. cibaria* and *W. paramesenteroides* are responsible for the fermentation of *Yan-dong-gua*. Surprisingly, *W. cibaria* was replaced by *W. paramesenteroides* after 5 days of fermentation. In addition, after 28 days of fermentation, both *Weissella* species disappeared [47]. These species disappearances remain not understood and need to be investigated. Interestingly, these two species occur together in other fermented foods and similar changes were observed. Both species were detected in the 3-days initial fermentation of *Fu-tsai* and spontaneous cauliflower and mixed-vegetables fermentation but disappeared during the following steps of the fermentation processes [56,63]. These two species seem to work together in vegetables fermentation and constitute an interesting option for their use as a mixed starter culture. *W. cibaria*, *W. confusa* and *W. koreensis* are frequently involved in *Kimchi* fermentation. *W. confusa* (together with *Lc. citreum*) was present throughout the fermentation process of kimchi, suggesting its importance during the fermentation [46]. *W. cibaria* and *W. confusa* have been detected in the early stage of kimchi fermentation, but were replaced by *Lb. plantarum*, *Lb. brevis* and *Lc. pseudomesenteroides*. It seemed that *W. cibaria* and *W. confusa* started the fermentation and created an environment suitable for the growth of *Lactobacillus* spp. [11]. It has been shown that *W. soli* was present during the early stage of fermentation of kimchi but was replaced by *W. koreensis* [42]. Because kimchi is generally processed by spontaneous fermentation, the LAB microflora of kimchi may vary. However, the LAB species most frequently found in kimchi are *Lc. citreum*, *Lc. mesenteroides*, *Lc. lactis*, *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. koreensis*, *Lb. plantarum* and *Lb. brevis*. Generally, in vegetable fermentation, *Weissella* and *Leuconostoc* spp. start the fermentation and are followed by more acidic tolerant species such as *Lactobacillus* spp.

3.3. Dairy Fermented Foods

W. confusa, *W. cibaria*, *W. thailandensis*, *W. paramesenteroides*, *W. hellenica* and *W. viridescens* have been detected in different types of cheese and fermented milk (Table 2) [68–81].

W. paramesenteroides represented a high proportion of LAB isolated both from the surface and interior of fresh *Manura* cheese [76]. Besides, it was also one of the predominant LAB species isolated during cheese ripening, suggesting its important role in the production of *Manura* cheese. *W. confusa* appeared occasionally in *Nunu* fermented milk [69]. *W. confusa* NGB-82 (*Lb. confusus*) together with *L. lactis* subsp. *lactis* MOS-11 dominated in *Masai* fermented zebu milk. These two strains were used as starter cultures for this kind of milk and were able to rapidly acidify the media and inhibit the growth of *S. aureus* and *E. coli* [71]. However, *W. confusa* was not present in another *Masian* fermented milk [70].

W. viridescens was occasionally found in *Scamorza Altamurana* cheese [77] and in Romanian dairy products [80]. *W. hellenica* 1M30 was able to decrease the pH of skimmed milk for the production of *Mozarella* cheese and showed a proteolytic activity on milk proteins [78]. This strain may be a suitable starter culture for industrial processing of *Mozarella* cheese. This was not the case for fermented camel milk since *W. hellenica* was found in only one sample suggesting a contamination [73].

3.4. Meat and Fish-Based Products

The main *Weissella* species involved in meat and fish fermentation are *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. paramesenteroides*, *W. hellenica*, *W. viridescens* and in a lesser part, *W. thailandensis* (Table 2). *W. thailandensis* has been first isolated from *Pla-ra*, a fermented fish product from Thailand [30] and more recently, in *Mum*, a Thai fermented meat product [86]. Miyashita et al. [86] isolated also *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. paramesenteroides* and *W. viridescens* in several other Thai fermented fish products like, *Pla-ra sub*, *Plaa-som*, *Pla-jom* and *Pla-jaw*. Presence of *W. cibaria* and *W. confusa* in *Plaa-som* was confirmed by [115,116]. *W. cibaria* dominated the early stage of fermentation and contributed to the product finishing.

The main LAB involved in dry and fermented sausages are *Lb. plantarum*, *Lb. sakei* and *Lb. curvatus*. However, *W. cibaria*, *W. paramesenteroides*, *W. hellenica* and *W. viridescens* are frequently detected in fermented sausages [102,105–109,113]. *W. hellenica* represented a low portion of the LAB isolated from Italian sausages, suggesting that its contribution to the fermentation process was not really important. This observation was confirmed by [107] as *W. viridescens* has been occasionally detected in Greek-dry fermented sausages. *W. minor* has been detected in Greek-fermented sausages but should not be used as starter for meat fermentation due to its high production of gas and peroxide [113]. As a whole, generally, *Weissella* spp. represent a minority part of LAB involved in fermented sausages and their use as starter cultures for fermented meat products is almost not considered.

3.5. Starchy and Cereal-Based Products

As shown in Table 2, *W. confusa* has been detected in several cereal-based fermented foods like *Togwa*, *Kunu-zaki*, *Boza*, *Fura* and *Borde* [39,82,97–99]. *W. cibaria*, *W. confusa* and *W. paramesenteroides* have been found in several fermented cassava products, such as *Gari*, *Attieke* and *Lafun* [16,83–86]. These species have also been isolated from different types of sourdough [10,88–90,92].

In *Togwa* fermentation, *W. confusa* was present from the beginning to the end of the fermentation, together with *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lb. cellobiosus* and *P. pentosaceus*. However, *Lb. plantarum* was the dominant species [82]. *W. confusa* has been shown to be the dominant species together with *Lb. fermentum* during the fermentation of *Fura*. Indeed, these two species were isolated from eight different processing sites and at almost all fermentation stages [98]. *W. confusa* and *W. viridescens* were the dominant species during the fermentation of *Borde*, together with *Lb. brevis* and *P. pentosaceus*. These two species are thus adapted to the niche of *Borde* fermentation and constitute potential starter cultures for the industrial production of *Borde* [99]. *W. confusa* together with *Lb. plantarum* and *Lb. fermentum* were also the dominant species during the fermentation of *Lafun* [86].

4. Spontaneous Versus Started Fermentation

4.1. Role of Starters in Food Fermentation

Traditional fermented foods are mainly obtained by a naturally occurred fermentation, resulting from competitive activities of different microorganisms derived from the raw material or the environment, including yeast, fungi and lactic acid bacteria [3,121]. Some traditional fermented foods have been consumed for centuries and remained today an important part of the human diet. Some famous ancient fermented foods are kefir, sauerkraut, *Kimchi*, *kombucha* and wine. Kefir, a fermented milk beverage, is a drink originated from the Caucasian mountains and represents today a market of €78.7 million only in North America [122]. Over spontaneous fermentation, microorganisms

that are best adapted to the environment and exhibit the highest growth rate, dominate the fermentation process [123]. Generally, a succession of flora is observed [7,124]. Due to multiple microorganisms' activities, spontaneous fermentation remains difficult to control. Thus, the quality of a spontaneous fermented product is not predictable, undesirable change of the sensory profile can occur and the risk of fermentation failure can be important [7]. Using starter culture is the most efficient way to control the fermentation process, to ensure quality and safety of the fermented product. A starter culture can be defined as a microbial preparation containing a high number of at least one microorganism to produce a fermented food by accelerating its fermentation process and bring desirable sensory properties [8,121]. In 1873, Lister isolated the first pure bacterial culture, *Bacterium lactis* (nowadays *Lactococcus lactis*) which became, in 1890, the first starter culture to be used for the cheese and sour-milk production [121]. Nowadays, a number of LAB starters is used in the food industry (Table 3), producing a high diversity of fermented products. The majority of LAB starters belong to the genera *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* and *Bifidobacterium*. *Lactobacillus* species are used for the production of dairy, vegetable, cereal and meat products. *Lactococcus* species are mainly used for dairy products and the main species used as commercial starter is *L. lactis*. *Streptococcus thermophilus* is the only species within the genus *Streptococcus* to be used as commercial starter. It is used for the production of yoghurt and some cheeses, due to its particular rapid acidification in milk fermentation [125]. Among the *Leuconostoc* spp., *Lc. mesenteroides* is the main species used as commercial starter. *Lc. mesenteroides* is used for the production of buttermilk and some cheese [126]. *Pediococcus* species are mainly involved in the fermentation of meat products and of sourdough. *P. pentosaceus* and *P. acidilactici*, together with *Lb. sakei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus* and *Lb. casei* are the species mostly used as commercial starter for meat products [124]. *Oenococcus oeni*, *Lb. plantarum* and *Lb. hilgardii* are available as commercial starter cultures for the malolactic fermentation of wine since the beginning of the 1980s [3].

Before commercialization, starters have to pass many steps of selection and performance tests.

4.2. Expected Characteristics of Starters

General criteria for the selection of starters deal with safety, technological and economical aspects [3]. The starter culture should be able to develop some expected flavor and aroma, to improve safety, nutritional and shelf-life properties of foods. Thus, criteria for selection of starters are mainly divided in four aspects: technological, sensory, nutritional and safety (Table 4). A quick growth and a high acidification rate are the first criteria for the selection of starter. A rapid acidification will create a safe environment at the initial stage of the fermentation and thus reduce food pathogen hazard and spoilage probability. During fermentation, LAB can be exposed to salt stress due to important amounts of added salt, but also in fruits to high sugar levels. Therefore, adaptation to hyperosmotic environments has to be considered, especially for making fruits, vegetables or meat based products.

The synthesis of antimicrobial compounds or bacteriocins is desired during fermentation, as these compounds inhibit the proliferation of pathogens or spoilage microorganisms. Bacteriocins are natural antimicrobial proteins produced by bacteria, including LAB, and their use in food industries in an interesting alternative for food preservation. Nisin, a bacteriocin produced by several *L. lactis* strains is commercially available in UE as a bio-preservative [127]. Lactic acid, acetic acid, ethanol, hydrogen peroxide (H₂O₂), diacetyl, reuterin and bacteriocins are produced by LAB and show inhibiting activities against food borne pathogens, including both gram-negative and gram-positive bacteria [128]. In addition, LAB are able to produce antifungal compounds which inhibit mycotoxin producer growth and can bind and reduce the content of mycotoxins [129].

Table 3. Lactic acid bacteria used as commercial starters in the food industry.

Type of Fermented Product	Product	LAB Species Used as Commercial Starters	References
Dairy Fermented Foods	Yoghurt	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. delbruecki</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	[130]
	Fermented/Probiotic milk	<i>Lb. casei</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. johnsonii</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. brevis</i>	
	Kefir	<i>Lb. kefir</i> , <i>Lb. kefiranofacies</i> , <i>Lb. brevis</i>	
	Butter and buttermilk	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	
	Swiss and Italian type cheeses	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>	
	Cheeses (with or without eyes)	<i>L. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	
Fermented Cereals	Sourdough	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. sanfranciscensis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>P. acidilactis</i> , <i>Lb. pontis</i> , <i>Lb. crispatus</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. paralimentarius</i> , <i>Lc. lastis</i>	[6]
Fruits and Vegetables	Sauerkraut	<i>Lc. mesenteroides</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>P. acidilactici</i>	[8]
	Pickles	<i>Lc. mesenteroides</i> , <i>P. cerevisiae</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i>	
	Fermented olives	<i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. plantarum</i>	
	Fermented vegetables	<i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. fermentum</i>	
Meat Products	Vegetable juices	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. bavaricus</i> , <i>Lb. bifidus</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. salivarius</i> , <i>Lb. xylosus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>Lc. mesenteroides</i>	[3]
	Sausages	<i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Lb. sakei</i> , <i>Lb. curvatus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>L. lactis</i>	[124,131]
Fermented Beverages	Wine	<i>Oenococcus oeni</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. hilgardii</i>	[3]

Table 4. Criteria for the selection of starters for fruits and vegetables, cereal, dairy and meat fermentation.

Criteria Category	Fruits and Vegetables	Dairy Products	Meat Products	Cereal Based Foods
Technological	<ul style="list-style-type: none"> - Growth and acidification rate - Salt tolerance - Tolerance to low values of pH - Growth at low temperature - Completeness of fermentation - Malolatic fermentation - Tolerance to phenols - Synthesis of antimicrobial substances - No formation of hydrogen peroxide - Pectinolytic activity 	<ul style="list-style-type: none"> - Growth and acidification rate - Production of nutraceuticals - Accelerate ripening of cheese - Resistance to bacteriophage - Proteinase and peptidase activity 	<ul style="list-style-type: none"> - Fast production of lactic acid - Growth rate at different temperatures - Salt and pH tolerance - Persistence over the whole fermentation and ripening process - Nitrate and nitrite reduction - Catalase positive - Lactose negative - Proteolytic and lipolytic enzyme activities - No formation of hydrogen peroxide - Antagonism against pathogens - Improve the nutritional value of the sausages 	<ul style="list-style-type: none"> - Growth and acidification rate - Salt tolerance - Growth at low temperatures - Synthesis of antimicrobial compounds
Sensory	<ul style="list-style-type: none"> - Hetero-fermentative metabolism - Synthesis of aroma compounds and their precursors 	<ul style="list-style-type: none"> - Production of aroma and flavor - Synthesis of exopolysaccharides 	<ul style="list-style-type: none"> - Formation of flavor - Hetero-fermentative metabolism 	<ul style="list-style-type: none"> - Hetero-fermentative metabolism - Synthesis of aroma compounds and their precursors
Nutritional	<ul style="list-style-type: none"> - Synthesis of exopolysaccharides - Increase of the antioxidant activity - Synthesis of biogenic compounds - Bacteriocin production 	<ul style="list-style-type: none"> - Synthesis of exo-polysaccharides - Bacteriocins production - Reduction of toxic or antinutritional factors - Low-calorie sugar production - Vitamin production - Bioactive peptide production - Production of conjugated linolein acid (CLA) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tolerance or even synergy to other microbial components or starters - No formation of ropy slime - Bacteriocin production - Probiotic features 	<ul style="list-style-type: none"> - Release of free amino acids - Synthesis of biogenic compounds - Degradation of antinutritional factor (phytic acid) - Increase the antioxidant activity - Synthesis of exopolysaccharides
Safety	<ul style="list-style-type: none"> - No formation of biogenic amines - No antibiotic resistance profile 			

The synthesis of exopolysaccharides (EPS) could be searched, especially for dairy and bakery products, for both sensory and nutritional reasons. According to their composition, EPSs are divided into homopolysaccharides (HoPS) and heteropolysaccharides (HePS). HePSs are composed of repeated units consisting of two or more monosaccharides, mainly galactose, glucose, fructose and rhamnose. HoPS are composed of repeated units of one monosaccharide, mainly glucose or fructose, and are classified in α -D-glucans (dextran, mutan, reuteran and alteran) or in β -D-glucans (levan and inulin-types). EPSs are produced intracellularly or extracellularly, and some bacteria are able to produce capsular EPS (CPS), which are covalently bound to the cell surface. In food industry, EPS are used as viscosifier, water-binding or gelling agents, stabilizers, texturizers and emulsifiers. Besides, EPS may act as antioxidant, antitumor, antiulcer and exert immune-modulating and cholesterol-lowering activities [132].

The ability to increase antioxidant activity is another criterion used to select functional starters for fruits and vegetables fermentation [7]. Several studies demonstrated that lactic acid fermentation increased the polyphenol content associated with an increase of the antioxidant activity [133–136]. This increase is mainly explained by enzymatic depolymerization of phenolic compounds by LAB [137], leading to more efficient uptake and higher bioavailability of plant polyphenols.

4.3. Non-Expected Characteristics of Starters

Despite of its antimicrobial activity, H_2O_2 is non-desired for some fermented products, especially in fermented sausages. Indeed, H_2O_2 can react and degrade organic and antioxidant compounds, increase rancidity and form a discoloration of the final product [7,124]. Papamanoli et al. [107] reported that 100% of *Lb. plantarum* strains (7), 58% of *Lb. curvatus* strains (24) and 84% of *Lb. sakei* strains (49) were able to produce H_2O_2 . It is surprising to note that these species are the main used as starters for fermented sausages.

Others LAB characteristics, which are non-desired for their use as starters, are those associated with health disorders. In particular, biogenic amines, which are organic bases mainly formed by the decarboxylation of amino acids, caused a number of outbreaks, resulting from fish or cheese consumption [138]. Histamine, putrescine, cadaverine, tyramine and β -phenylethylamine are the biogenic amines most frequently found in fermented foods like cheese, wine, sausages, beer, sauerkraut and fish. Bacteria associated with biogenic amines poisoning belong to the *Enterobacteriaceae* family, such as *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumonia* and *Hafnia alvei*. Despite the fact that LAB could produce biogenic amines, no study has reported food poisoning resulting from LAB activities.

4.4. Improvement of Starters

Together with the starter research, several tools have been developed these last decades in order to enhance technological, sensory and nutritional properties of selected starters. Genetic and metabolic engineering facilitates the manufacturing of new starters expected to be superior to that found naturally [139]. It consists in adding or deleting some desired or non-desired criteria, altering a specific trait of a starter or transferring into another more preferable strain. Several tools have been used to develop new interesting and performant starters, such as the use of plasmid vectors, chromosome modification and expression systems, genetic mutants or engineering strains with genes from other LAB or other bacteria [140]. For instance, the gene encoding a bacteriocin from *Lb. helveticus* was introduced into *Lb. acidophilus* using a recombinant plasmid [141]. Genes encoding peptidases from a proteolytic *Lb. helveticus* strain were introduced into *L. lactis*. New peptidolytic activities were conferred to *L. lactis* with the aim to accelerate cheese ripening process [142]. Generally, independently of genetic methods used, starter genome sequencing is necessary and constitutes the model for starter engineering. However, authorization for producing these kind of microorganisms is necessary in most countries and consumers are reluctant regarding the use of genetically modified microorganisms in food industry.

Evolutionary engineering is currently the most promising direction for the improvement of starters. It consists of repeated steps of batch cultivation strains in the presence of a selective pressure or under selective conditions. The aim of serial batch cultivations is to increase genetic diversity resulting from mutations. Some mutants will survive and grow better under specific conditions than the initial strains [143,144]. Evolutionary engineering is largely investigated for *Saccharomyces cerevisiae* [145] and application on LAB deserves a deeper investigation. Experimental evolution has been performed on *L. lactis* KF147 strain, isolated from mung-bean sprouts [146]. The particularity of this strain is its poor growth in milk compared to other dairy *L. lactis* strains. *L. lactis* KF147 was serially cultivated for 1000 generations in skimmed milk and three mutants were selected NZ5521, NZ5522, and NZ5523. The acidification rates of NZ5521, NZ5522 and NZ5523 were increased compared to KF147.

5. Investigation into Using *Weissella* spp. as a Starter

5.1. Acidification and Growth Performance

Acidification and growth performance are important criteria for the selection of starters. *W. koreensis* HO20 (and *Lc. citreum* H012) reached to 6.5 to 9.5 log·cfu·g⁻¹ of dough and decreased the pH from 6.4 to 4.4 after 24 h of sourdough fermentation [147]. As a comparison, *Lb. plantarum* and *Leuconostoc* spp. reached to 6.5 to 9.5 log·cfu·g⁻¹ and 6.8 to 9.2 log·cfu·g⁻¹ of dough, respectively after 20 h of sourdough fermentation [148]. *W. cibaria* MG1 decreased the pH from 6.8 to 4.3 during the fermentation of different sourdough (buckwheat, quinoa, teff and wheat) [149]. *W. confusa* PE36, *Lb. plantarum* PE21 and *Lb. curvatus* PE4 grew from 4.5 to 8.9 log·cfu·g⁻¹ and decreased the pH from 5.0 to 3.7 after 15 h of fermentation of red and yellow peppers [150]. *W. thailandensis* was not able to acidify milk compared to *Lactobacillus* spp. [75]. Growth and acidification capacities of *Weissella* species in food fermentation, more precisely *W. cibaria*, *W. confusa* and *W. koreensis* are similar to those observed for *Lactobacillus* or *Leuconostoc*.

5.2. Production of Exopolysaccharides

Commercial production of EPS has focused mainly on dextran producing *Leuconostoc* species. However, several studies reported the production of EPS by *Weissella* spp. (Table 5). EPS are generally produced at levels of 10 mg·L⁻¹ to 1 g·L⁻¹ and have high molecular mass (10⁶ Da). Dextran from *Weissella* spp. harbor a molecular mass between 10⁴ and 10⁸ Da. Dextran of *Weissella* may be an alternative for the industry. Dextran production by *W. cibaria* MG1 during sourdough fermentation was reported by [149,151]. *W. cibaria* MG1 produced a significant higher amount of EPS (8 g/Kg) than *Lb. reuteri* Y2 and VIP (0.6 and 3.28 g/Kg, respectively) in sourdough. *W. cibaria* WC4 and *Lb. plantarum* PL9 produced the same amount of EPS during sourdough fermentation (2.5 g/Kg). Besides, these two strains increased the viscosity and the resulting bread showed a higher volume and a lower firmness [10]. Production of levan and CPS have been also described for some *W. confusa* strains [152]. Since *Weissella* spp. are able to grow in sourdough and produce a high amount of EPS, they present an interest as starters for industrial production of sourdough.

Table 5. Characterization of EPS from *Weissella* species.

Species	Source	Type of EPS	Molecular Mass (Da)	Amount Produced	Media	Reference
<i>W. cibaria</i> (WC4)	Sourdough	Glucan	1.1–1.3 × 10 ⁴	7.9 g·L ⁻¹ (6 d) 2.5 g·kg ⁻¹	MRS + Sucrose Sourdough	[10]
<i>W. cibaria</i> (WC3)	Sourdough	Glucan	1.1–1.3 × 10 ⁴	6.7 g·L ⁻¹ (6 d)	MRS + Sucrose	[10]
<i>W. cibaria</i> (WC9)	Sourdough	Glucan	1.1–1.3 × 10 ⁴	5.5 g·L ⁻¹ (6 d)	MRS + Sucrose	[10]

Table 5. Cont.

Species	Source	Type of EPS	Molecular Mass (Da)	Amount Produced	Media	Reference
<i>W. cibaria</i> (MG1)	Sourdough	Dextran	10^6 to 10^7	0.9 g·kg ⁻¹	Sourdough	[149]
				3.2 g·kg ⁻¹		
				4.2 g·kg ⁻¹		
				8 g·kg ⁻¹		
			7.2×10^8	36.4 g·L ⁻¹	MRS + Sucrose	[153]
<i>W. cibaria</i> (11GM-2)	Sour milk	Dextran	$>2 \times 10^7$	ND	MRS + Sucrose	[152]
<i>W. cibaria</i> (CMGDEX3)	Cabbage	Dextran	$>2 \times 10^6$	0.24 g·L ⁻¹	MRS + Sucrose	[154]
<i>W. cibaria</i> (JAG8)	Apple	Dextran	8×10^5	38 g·L ⁻¹ (12 h)	Tsuchiya medium	[155,156]
<i>W. confusa</i> (E392)	Soured carrot mash	Dextran	ND	ND	MRS + Sucrose	[157]
<i>W. confusa</i> (KR780676)	Idli batter	Galactan	ND	17.2 g·kg ⁻¹ (dry weight)	MRS + Sucrose	[87]
<i>W. confusa</i> (F3/2-2)	Cassava fermentation	Dextran	$>2 \times 10^7$	ND	MRS + Sucrose	[152]
		Levan	2×10^5	ND	MRS + Raffinose	
<i>W. confusa</i> (8CS-2)	Sour milk	HePS	ND	ND	MRS + Glucose	[152]
		Dextran	$>2 \times 10^7$	ND	MRS + Sucrose	
<i>W. confusa</i> (NH 02)	Nham	ND	1.13×10^6	18.08 g·L ⁻¹	MRS + Sucrose	[104]
<i>W. hellenica</i> (SKkimchi3)	Kimchi	Glucan	2.03×10^5	5.12 g·L ⁻¹	MRS + Sucrose	[45]

The effect of EPS-producing *Weissella* was also investigated on vegetable puree. Dextran from *W. confusa* and *Lc. lactis* was able to improve the texture and sensory properties of pureed carrots, with pleasant odor and flavor [158].

5.3. Production of Antimicrobial Substances

Ayeni et al. [68] determined lactic acid, acetaldehyde, acetone and ethanol amount production of *W. confusa*, *Lb. brevis* and *Lb. paracasei* strains after 24 h of culture in MRS broth. *W. confusa* strains produced 13.2 to 15.9 mg·mL⁻¹ lactic acid, 15.8 to 32.8 µg·mL⁻¹ acetone, 35.1 to 64.0 µg·mL⁻¹ acetaldehyde and 2.7 to 5.0 mg·mL⁻¹ ethanol while *Lactobacillus* strains produced 13.7 to 21.8 mg·mL⁻¹ lactic acid, 4.0 to 38.1 µg·mL⁻¹ acetone, 12.6 to 42.4 µg·mL⁻¹ acetaldehyde and 0.01 to 4.3 mg·mL⁻¹ ethanol in the same conditions. The lowest production of lactic acid was observed for *W. confusa*. However, the highest productions of acetaldehyde and ethanol were observed for *W. confusa* strains. *W. koreensis* HO20 has been shown to produce more ethanol than *Lc. citreum* HO12 during sourdough fermentation (4.7 and 3.0 mmol·kg⁻¹ dough) [147].

W. cibaria and *W. confusa* strains showed the same antimicrobial activity against *E. coli* K12 than *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum* and *P. curvatus* strains, however this activity was strain dependent. *W. cibaria* strains showed zones of inhibition comprised between 14.5 and 23.5 mm, while those of *Lb. fermentum* strains were comprised between 16.2 to 23.2 mm. Anyway, the highest antagonist activity against *E. coli* was observed for *W. cibaria* 142 [60]. In addition, *W. confusa* has been shown to inhibit the growth of *Helicobacter pylori* [159].

Bacteriocins isolated from *Weissella* spp. have been extensively reviewed by [18]. Weissellicin 110, produced by *W. cibaria* 110 was active against several LAB, including *Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Weissella* species [117]. Several other bacteriocins have been purified from *W. hellenica* strains (weissellicins D, L, M, Y, 7293A and 7293B) and *W. paramesenteroides* (weissellicin A) [114,160–163]. Weissellicin L presented a high homology with leucocin B-TA33a, produced by *Lc. mesenteroides* TA33a. More recently, Weissellicin MBF has been characterized from *W. confusa* [164]. Interestingly, weissellicin MBF is encoded by a large transferable plasmid of 17.6 kbp, pWcMBF8-1. To the best of our knowledge, this is the first study which reported plasmid-associated bacteriocin activity in the genus *Weissella*.

5.4. Probiotic Aspects

Probiotics can be defined as living microorganisms which once ingested exert health beneficial properties. The criteria for the selection of probiotics are: (1) the ability to survive through the passage into the human gastrointestinal tract (GIT), that is to say low pH in the stomach and bile salts in the small intestine; (2) a human origin and isolation from healthy human GIT; (3) a non-pathogenic history; (4) not being associated with diseases; (5) not carrying transmissible antibiotic resistance genes and (6) the Generally Recognized as Safe (GRAS) status. Today, LAB associated with probiotic potential mainly belong to *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genera [165]. Recently, investigation of probiotic effect of *Weissella* spp. have gained [55,60,166].

Patel et al. [60] reported that *W. confusa* AI10 was the most resistant strain to bile salts (0.3%), with 72% of survival after 24 h at 37 °C. On the contrary, *Lb. plantarum* AD29 was the less resistant, with 14% of survival. In the same study, *W. cibaria* 142 showed 131% of survival after 2.5 h at 37 °C in MRS broth adjusted to pH 3, which demonstrated the ability of this strain to grow in acidic conditions. Reference [107] related that 100% of *Lb. plantarum* strains were resistant to 0.3% of bile salts and none of those strains were able to grow at pH 3. Anandharaj et al. [55] reported that *W. koreensis* FK121 was the best resistant strain to pH 1.0, with 29.8% of survival, while *Lb. crispatus* GI6 showed the lower resistance with 18.3% of survival. In this same study, *W. koreensis* and *Lb. crispatus* strains showed approximately the same resistance profile to 0.3% and 0.5% of bile salts. Hence, resistance to bile salts and to acidic conditions are strain dependent and regarding these criteria, probiotic activity should not be assigned to one specific LAB genus or species.

5.5. Role in Bioavailability and Antioxidant Activities

The increase of antioxidant activity occurring over lactic acid fermentation has been related to the activity of several enzymes, such as β -glucosidase (E.C. 3.2.1.21), tannase (E.C. 3.1.1.20), *p*-coumaric acid decarboxylase (PAD) (E.C. 4.1.1.102) or feruloyl esterase (E.C. 3.1.1.73). These enzymes have been largely described in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. [167–171]. Concerning *Weissella* spp., only a few studies reported these activities.

β -glucosidases catalyze the hydrolysis of diverse compounds with β -D-glucosidic linkages, like oligosaccharides, cell wall components, pigments and cyanogenic glucosides [172]. β -glucosidases have been used in lactic acid fermentation to convert isoflavones glucosides into their corresponding aglycones [173]. Isoflavones constitute a subfamily of the flavonoids. It has been suggested that isoflavones aglycones are absorbed faster and in larger amounts than their corresponding glucosides in humans. Both tannase and β -glucosidase activities were reported for *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus*, *Lc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* and *W. cibaria* strains, whereas only β -glucosidase activity was detected for *W. paramesenteroides* BFE 7601 [85]. *W. cibaria* and *W. confusa* strains showed up to 50-fold higher β -glucosidase activity than *L. lactis* subsp. *cremoris*. *W. confusa* has been shown to increase aglycone level in fermented soymilk as well as *Lb. paraplantarum* and *Streptococcus salivarius* [173]. Soymilk fermented for 12 h with *Weissella* spp. 4 (not identified) was 100-fold lower in isoflavones glucosides and 3-fold higher in aglycones than the one fermented with *Streptococcus infantarius* [174].

Phenolic acid decarboxylase is responsible for the decarboxylation of caffeic, *o*-coumaric and ferulic acids into their corresponding vinyl derivatives vinylcatechol, *o*-vinylphenol and vinylguaiacol, respectively. These vinyl derivatives can be reduced into ethylcatechol, ethylphenol and ethylguaiacol, respectively by the phenolic acid reductase. *W. cibaria/confusa* strains were shown to be able to reduce and decarboxylate caffeic, *o*-coumaric and ferulic acids. *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lb. curvatus*, *Lc. mesenteroides* and *Lb. rossiae* were also able to metabolize these phenolic compounds [175]. Kimchi started with *W. koreensis* OK1-6 has been shown to decrease epididymal fat pad weight, leptin, triglyceride and cholesterol levels in obese mice [176], suggesting anti-obesity and anti-cholesterol effects of *W. koreensis* OK1-6.

6. Possible Constraints for the Use of *Weissella* spp. as Starters

6.1. Biogenic Amine Production of *Weissella*

Amino acids like histidine, lysine, ornithine and tyrosine can be decarboxylated by LAB in histamine, cadaverine, putrescine and tyramine, respectively. This ability is highly variable and often strain specific [177]. No production of biogenic amine from histidine, lysine, ornithine or tyrosine has been detected for *W. confusa* strains [118] neither by *W. cibaria* strains [178] nor by *W. viridescens* [110]. In these studies, the method used for the detection of biogenic amines was a qualitative method using bromocresol purple as a pH indicator. Using this method, *E. faecium* and *E. faecalis* were able to produce biogenic amines [110]. The detection of genes encoding amino acid decarboxylase would help to confirm these observations. On the contrary, some *Weissella* strains (*W. cibaria*, *W. confusa*, *W. paramesenteroides*) have been shown to produce higher amount of biogenic amines (cadaverine, putrescine, histamine and tyramine) than *Leuconostoc* strains [179]. *W. halotolerans* W22 and *Lb. hilgardii* X₁B were able to degrade arginine in putrescine using arginine deiminase or ornithine and arginine decarboxylation pathways [111,180]. Some strains of *Lb. brevis*, *Lb. hilgardii* and *P. pentosaceus* were able to produce tyramine and putrescine [181]. *W. hellenica* 15.32 has been shown to produce only histamine whereas *Lc. mesenteroides* and *Lb. sakei* strains produced histamine plus tyramine in the same conditions [182]. As for other LAB species, biogenic amine production was strain-dependent and some *Weissella* strains did not produce any of the biogenic amine searched.

6.2. Antibiotic Resistance Profile of *Weissella*

Antibiotics are frequently used by the health care industries to fight infections. The excessive and inappropriate use of antibiotics lead these last decades to a development of antibiotic resistance in bacteria. Nowadays, it is clearly established that LAB possess several antibiotic resistance genes, and the problem is that they can transfer these genes to pathogenic bacteria [183]. Hence, antibiotic resistance of LAB should be taken carefully regarding their use as starters or probiotics. Several studies reported antibiotic resistance profile of *Weissella* spp. *W. cibaria*, *W. confusa* and *W. paramesenteroides* strains have been shown to be resistant to streptomycin and gentamicin. Only *W. cibaria* strains were resistant to penicillin G [179]. Several strains of *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum*, *W. cibaria*, *W. confusa* and *P. parvulus* were resistant to vancomycin, norfloxacin, gentamicin and kanamycin. The same strains were sensitive to erythromycin, chloramphenicol, ampicillin and tetracycline. Only a few strains of *W. cibaria*, *Lb. fermentum* and *Lb. plantarum* were resistant to polymyxin [60]. D'Aimmo et al. [184] analyzed antibiotic resistance profile of several strains of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *B. longum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* and *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *S. thermophilus*. All tested strains were resistant to aztreonam, cycloserin, kanamycin, polymyxin B and spectinomycin. Several probiotics LAB have been associated with antibiotic resistance such as *Lb. reuteri* ATCC 55148, *Lb. brevis* ATCC 8287 and *Lb. plantarum* DG507 which have been shown to be resistant to vancomycin and erythromycin [185]. Since, *Lactobacillus* have been associated with fermented foods consumed for decades, they are considered as safe for humans. Hence, antibiotic resistance profile of these species is often neglected. From our point of view, *Weissella* genus should not be associated systematically with antibiotic resistance patterns on the grounds that some strains presented resistance to a low number of antibiotics. Besides, *Weissella* spp. share numerous habitats with *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* and *Pediococcus*. All of these species have been associated with antibiotic resistance and each of them may transfer antibiotic resistance gene to each other. As evidence from literature data, antibiotic resistance is strain-dependent, and a careful analysis of each LAB strain should be realized before its application as starters for food fermentation.

6.3. Infections Associated with *Weissella*

Of the 21 *Weissella* species, only strains of *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. paramesenteroides* and *W. viridescens* have been isolated from human clinical samples. *W. viridescens* and *W. cibaria* have

been associated with healthy human vaginal microbiota, together with *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* and *Enterococcus* [186–188]. Lee, (2005) [188] suggested *W. cibaria* PL9023 (*W. kimchi*) as a probiotic for women, since it has been shown to inhibit the growth of vaginal pathogens like *E. coli*, *Candida albicans* and *Streptococcus agalactiae*. *W. confusa*, *W. cibaria* and *W. paramesenteroides* have been isolated from healthy human feces [166,189–192]. Interestingly, *Weissella* spp. mainly isolated from healthy humans (*W. cibaria*, *W. confusa*, *W. paramesenteroides*, *W. viridescens*) are the same species frequently isolated from fermented foods. Since, they have been isolated from human vagina and feces, *Weissella* spp. may adhere and colonize the human GIT. These observations support data regarding resistance of *Weissella* to bile salts and acidic conditions.

Despite the fact that numerous *Weissella* spp. have been isolated from healthy humans and are suggested as probiotics, they are often classified as opportunistic pathogens since they were occasionally associated with infections. Actually, four *Weissella* species have been associated with health disorders and infections, both in animals or humans: *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. viridescens* and *W. ceti*. *W. ceti* is considered to be a pathogen which infects fish and rainbow trout [193,194]. Genome sequence analysis of *W. ceti* strains revealed the presence of several virulence factors and antibiotic resistance genes [195], which comforts its potential pathogenicity. To the best of our knowledge, no study reported infections associated *W. ceti* in humans. *W. cibaria* and *W. viridescens* have been associated with bacteremia [18] and *W. cibaria* and *W. confusa* have been also isolated from dog ear otitis [37]. Concerning *W. confusa*, several cases reported bacteremia and infections [196–206]. In almost all cases of infections associated *W. confusa*, patients were immunocompromised or have undergone chemotherapy or organ transplant [207]. These organisms' weaknesses may facilitate the entry of *W. confusa* in the body. In almost all cases of *W. confusa* infections, vancomycin-resistance profile of these species has been point out.

In parallel, [208] reported more than 200 cases of related *Lactobacillus* associated infections. The *Lactobacillus* species most frequently associated with bacteremia are *Lb. casei* and *Lb. rhamnosus*. *Lactobacillus* spp. have been shown to be resistant to vancomycin and erythromycin in 27% and 97% of bacteremia associated *Lactobacillus*, respectively. Surprisingly, *Lactobacillus* are the main species used as starters or probiotics in food industries. Their potential pathogenicity does not deprive them of their safe status. Because immunodeficiency was the main risk factor of *Lactobacillus* bacteremia, [209] suggested that *Lactobacillus* bacteremia should be considered as a negative prognostic marker rather than a pathogen, suggesting comorbidities. Drawing a parallel between the two genera, *Weissella* spp. should not be considered as pathogens because *W. confusa* have been associated with bacteremia.

6.4. Bacteriophage Infection

Bacteriophages are ubiquitous, they are considered as the most predominant biological materials present in the world [210]. Phages infecting LAB have been associated with fermented products with inferior quality, especially in dairy products. Adsorption of phage particles to bacterial cells is the initial step of phage infection, then after phages inactivate and lyse microbial cells [211]. Only a few studies reported phages infecting *Weissella* spp. Bacteriophage Φ 22 from *W. cibaria* N22 was isolated from *Nham*, a Thai fermented pork sausage [212]. Both Φ 22 and Φ YS61 belong to the *Podoviridae* phage family and harbor size genome of 29 Kb and 33.6 Kb, respectively. Lu et al. [62] isolated 57 phages infecting *W. cibaria*, *W. paramesenteroides*, *Lb. plantarum* and *Lb. brevis* in commercial cucumber fermentation. Some phages were able to infect species from different genera, for instance Φ 3.2.27 was able to infect *W. cibaria*, *Lb. plantarum* and *Lb. brevis*. Interestingly, all *Weissella* hosts were isolated from day 3 of the fermentation process. The same authors isolated 28 bacteriophages infecting *Lc. citreum*, *Lc. mesenteroides*, *Lc. pseudomesenteroides*, *Lc. fallax*, *Weissella* spp., *Lb. plantarum*, *Lb. brevis* and *Lb. paraplantarum* in commercial sauerkraut [66]. Interestingly, all hosts isolated from days 1 and 3 of the fermentation process belong to *Leuconostoc* and *Weissella*, while all hosts isolated after 3 days of fermentation belong to *Lactobacillus*. These observations are correlated to the dominance of *Weissella* spp. in fermented foods, where they appeared generally at the beginning of the fermentation

together with *Leuconostoc* spp. The authors suggested that bacteriophages may play an important role in the LAB succession occurred in vegetables fermentations. Hence, bacteriophages of *Weissella* would require a deeper investigation. The disappearance of *Weissella* observed in vegetables fermentation may be the consequence of dying cells caused by phage infections. The majority of phages infecting *Leuconostoc* spp. were isolated from dairy products but vegetable fermentation constitutes another source of phages infecting *Leuconostoc*, *Weissella* and *Lactobacillus* spp. [211]. Among LAB, *L. lactis*, *S. thermophilus* and *Lactobacillus* are the main bacteriophages infecting hosts. Indeed, the genome sequence of 58 phages infecting *L. lactis* have been published [213]. Repeated use of the same starter culture in the same raw material has been suggested to be a risk of phage infection. Thus, development of new starter cultures would be useful both for consumers and food industries.

6.5. Regulations

A substance commonly used in food prior to 1958 is recognized as GRAS (Generally Recognized as Safe) by the Food and Drug Administration (FDA) and the list includes fermentative microorganisms. Since 2007, food microorganisms with a safety assessment are listed as QPS (Qualified Presumption of Safety) by the European Food Safety Authority (EFSA). Probiotics are alive microorganisms which, when ingested in adequate numbers exert a health benefit on the host. Species such as *Enterococcus faecium*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus* and *Lb. casei* subsp. *rhamnosus* possess the GRAS status [185]. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *S. thermophilus* and *E. faecium* are the probiotics mainly used in the food industry [214].

Bourdichon et al. [215] created a list called “Inventory of Microbial Food Cultures”. The microbial species with a documented presence in fermented foods were included in this list. On the contrary, the species considered as undesirable in food, that do not harbor interested metabolic activity and with a lack of data related interested criteria in food fermentation were excluded of the list. Interestingly, the authors included *Weissella* species in this list as microorganisms with beneficial use.

However, *Weissella* spp. are still not recognized as GRAS by the FDA neither as QPS by the EFSA, so not as a probiotic since GRAS status is required as criteria for probiotic status.

Weissella spp. are frequently associated with *Lactobacillus*, *Leuconotocs*, *Lactococcus* and *Pediococcus* in different habitats, and in food fermentation *Weissella* spp. participate to the process but *Lactobacillus* spp. remained generally the dominant species. Since, *Lactobacillus* are used for centuries in food fermentation, they possess the GRAS status. Industrial people easily prefer using recognized safe LAB rather than those which are not.

7. Concluding Remarks

Starter selection is a complex and long process which requires several steps: (1) isolation and in vitro selection; (2) validation on a lab-scale; (3) validation at factory-scale [216]. Bevilacqua et al. [216] developed a general flow-sheet for the selection of suitable yeast starter cultures, but it can easily be adapted for LAB (Figure 2). Starter cultures may consist of a single culture or a multiple culture containing a mixture of several strains. Self-propagation of the starter culture was initially the preferred method, but with this method several LAB characteristics were lost [8] and it was gradually replaced by ready-to-use frozen, freeze-dried or lyophilized highly concentrated cultures [3,139]. However, the manufacturing of frozen and freeze-dried cultures are long and expensive steps, limiting the production and the development of starter.

Weissella species harbor different sources of habitats, fermented foods, animal, environment and human sources. They share these habitats with LAB commonly used as starters or probiotics, like *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* and *Pediococcus* species. *Weissella* spp. are extensively involved in spontaneous fermented foods, especially fruits and vegetables based products, in which they could dominate the process.

Nowadays, *Weissella* proposal as starter is still under investigation at the lab-scale, whereas the genus was described 24 years ago. *Weissella* do not possess the GRAS status so it probably limits

investigation for use as starter. From the literature, scientists are divided about using *Weissella* spp. as starters. *Weissella* are often classified as opportunistic pathogens, which seems to be a limit for food application. Some LAB species used as commercial starters have been associated with biogenic amine production, antibiotic resistance profile and infections. Surprisingly, these non-expected characteristics do not deprive them of their GRAS status and even less of their commercial starter status. Infections associated *Weissella* strains do not justify their rejection as commercial starters, especially since infections associated *Weissella* is strain-dependent. *Weissella* spp. can be used as commercial starter but safety aspects of the selected *Weissella* strain need to be investigated.

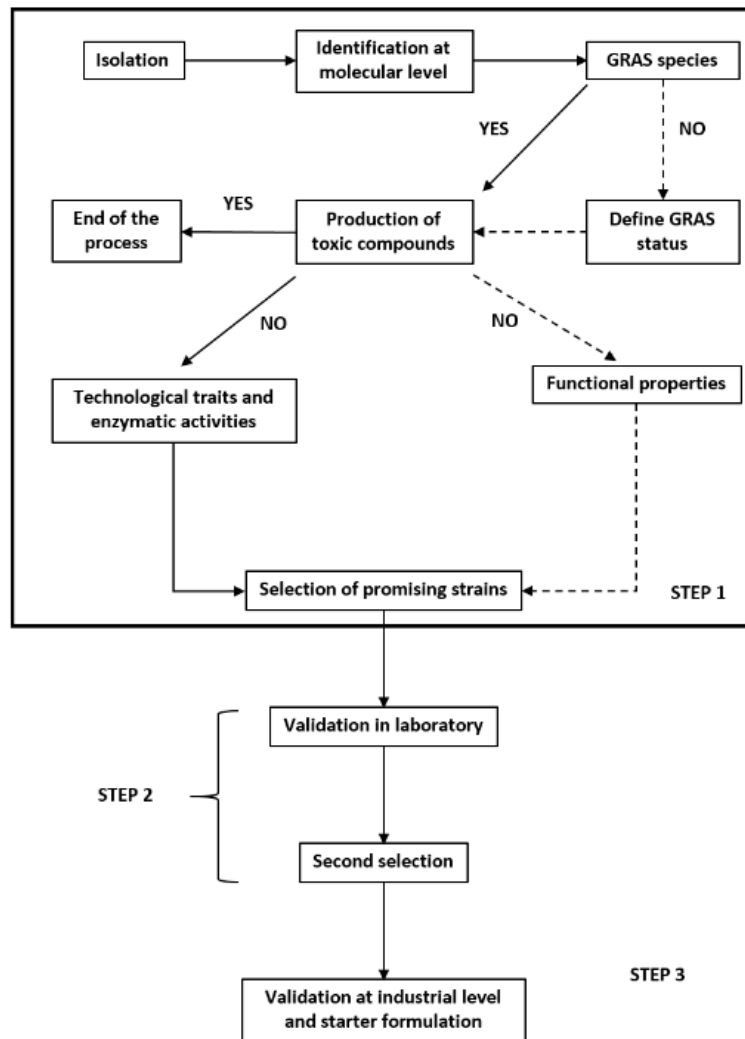


Figure 2. Flow-sheet for the selection of a starter [216]. Dotted line is for facultative paths.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Ross, P.R.; Morgan, S.; Hill, C. Preservation and fermentation: Past, present and future. *Int. J. Food Microbiol.* **2002**, *79*, 3–16. [CrossRef]
2. Tamang, J.P.; Watanabe, K.; Holzapfel, W.H. Review: Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 377. [CrossRef] [PubMed]
3. Buckenhüskes, H.J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiol. Rev.* **1993**, *12*, 253–271. [CrossRef]

4. Caplice, E.; Fitzgerald, G.F. Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* **1999**, *50*, 131–149. [[CrossRef](#)]
5. Stiles, M.E.; Holzapfel, W.H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* **1997**, *36*, 1–29. [[CrossRef](#)]
6. Brandt, M.J. Starter cultures for cereal based foods. *Food Microbiol.* **2014**, *37*, 41–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Di Cagno, R.; Coda, R.; De Angelis, M.; Gobbetti, M. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol.* **2013**, *33*, 1–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Leroy, F.; De Vuyst, L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol.* **2004**, *15*, 67–78. [[CrossRef](#)]
9. Amari, M.; Arango, L.F.G.; Gabriel, V.; Robert, H.; Morel, S.; Moulis, C.; Gabriel, B.; Rемаud-Siméon, M.; Fontagné-Faucher, C. Characterization of a novel dextransucrase from *Weissella confusa* isolated from sourdough. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2013**, *97*, 5413–5422. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Di Cagno, R.; De Angelis, M.; Limitone, A.; Minervini, F.; Carnevali, P.; Corsetti, A.; Gaenzle, M.; Ciati, R.; Gobbetti, M. Glucan and fructan production by sourdough *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 9873–9881. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Jung, J.Y.; Lee, S.H.; Jeon, C.O. Kimchi microflora: History, current status, and perspectives for industrial kimchi production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2014**, *98*, 2385–2393. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Nuraida, L.; Wachter, M.C.; Owens, J.D. Microbiology of *pozol*, a Mexican maize dough. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1995**, *11*, 567–571. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Wolkers-Rooijackers, J.C.M.; Thomas, S.M.; Nout, M.J.R. Effects of sodium reduction scenarios on fermentation and quality of sauerkraut. *LWT Food Sci. Technol.* **2013**, *54*, 383–388. [[CrossRef](#)]
14. Lynch, K.M.; Lucid, A.; Arendt, E.K.; Sleator, R.D.; Lucey, B.; Coffey, A. Genomics of *Weissella cibaria* with an examination of its metabolic traits. *Microbiology* **2015**, *161*, 914–930. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Chelo, I.M.; Zé-Zé, L.; Tenreiro, R. Genome diversity in the genera *Fructobacillus*, *Leuconostoc* and *Weissella* determined by physical and genetic mapping. *Microbiology* **2010**, *156*, 420–430. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Padonou, S.W.; Schillinger, U.; Nielsen, D.S.; Franz, C.M.A.P.; Hansen, M.; Hounhouigan, J.D.; Nago, M.C.; Jakobsen, M. *Weissella beninensis* sp. nov., a motile lactic acid bacterium from submerged cassava fermentations, and emended description of the genus *Weissella*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2010**, *60*, 2193–2198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Vela, A.I.; Fernández, A.; de Quirós, Y.B.; Herráez, P.; Domínguez, L.; Fernández-Garayzábal, J.F. *Weissella ceti* sp. nov., isolated from beaked whales (*Mesoplodon bidens*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2011**, *61*, 2758–2762. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Fusco, V.; Quero, G.M.; Cho, G.-S.; Kabisch, J.; Meske, D.; Neve, H.; Bockelmann, W.; Franz, C.M.A.P. The genus *Weissella*: Taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Collins, M.D.; Samelis, J.; Metaxopoulos, J.; Wallbanks, S. Taxonomic studies on some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages: Description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J. Appl. Bacteriol.* **1993**, *75*, 595–603. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Kandler, O.; Schillinger, U.; Weiss, N. *Lactobacillus halotolerans* sp.nov., nom.rev. and *Lactobacillus minor* sp.nov., nom.rev. *Syst. Appl. Microbiol.* **1983**, *4*, 280–285. [[CrossRef](#)]
21. Björkroth, J.; Holzapfel, W. Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In *The Prokaryotes*; Springer: New York, NY, USA, 2006; pp. 267–319.
22. Dicks, L.M.T.; Dellaglio, F.; Collins, M.D. Proposal To Reclassify *Leuconostoc oenos* as *Oenococcus oeni* (corrig.) gen. nov., comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **1995**, *45*, 395–397. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Endo, A.; Okada, S. Reclassification of the genus *Leuconostoc* and proposals of *Fructobacillus fructosus* gen. nov., comb. nov., *Fructobacillus durionis* comb. nov.; *Fructobacillus ficulneus* comb. nov. and *Fructobacillus pseudoficulneus* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2008**, *58*, 2195–2205. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Niven, C.F.; Evans, J.B. *Lactobacillus viridescens* nov. spec., a heterofermentative species that produces a green discoloration of cured meat pigments. *J. Bacteriol.* **1957**, *73*, 758–759. [[PubMed](#)]
25. Nisiotou, A.; Dourou, D.; Filippousi, M.-E.; Banilas, G.; Tassou, C. *Weissella uvarum* sp. nov.; isolated from wine grapes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2014**, *64*, 3885–3890. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

26. Snauwaert, I.; Papalexandratou, Z.; De Vuyst, L.; Vandamme, P. Characterization of strains of *Weissella fabalis* sp. nov. and *Fructobacillus tropaeoli* from spontaneous cocoa bean fermentations. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2013**, *63*, 1709–1716. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. De Bruyne, K.; Camu, N.; De Vuyst, L.; Vandamme, P. *Weissella fabaria* sp. nov.; from a Ghanaian cocoa fermentation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2010**, *60*, 1999–2005. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. De Bruyne, K.; Camu, N.; Lefebvre, K.; De Vuyst, L.; Vandamme, P. *Weissella ghanensis* sp. nov.; isolated from a Ghanaian cocoa fermentation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2008**, *58*, 2721–2725. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Lee, J.-S.; Lee, S.-H.; Ahn, M.-J.; Ku, H.-J.; Hong, J.-S.; Jeon, C.O.; Lee, J.-H.; Lee, S.H.; Ryu, S.; Shin, H.; et al. *Weissella jogaejeotgali* sp. nov., isolated from jogae jeotgal, a traditional Korean fermented seafood. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2015**, *65*, 4674–4681. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Tanasupawat, S.; Shida, O.; Okada, S.; Komagata, K. *Lactobacillus acidipiscis* sp. nov. and *Weissella thailandensis* sp. nov., isolated from fermented fish in Thailand. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2000**, *50*, 1479–1485. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Fessard, A.; Kapoor, A.; Patche, J.; Assemat, S.; Hoarau, M.; Bourdon, E.; Bahorun, T.; Remize, F. Lactic Fermentation as an Efficient Tool to Enhance the Antioxidant Activity of Tropical Fruit Juices and Teas. *Microorganisms* **2017**, *5*, 23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Garvie, E.I. The Growth Factor and Amino Acid Requirements of Species of the Genus *Leuconostoc*, including *Leuconostoc paramesenteroides* (sp.nov.) and *Leuconostoc oenos*. *J. Gen. Microbiol.* **1967**, *48*, 439–447. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Praet, J.; Meeus, I.; Cnockaert, M.; Houf, K.; Smagghe, G.; Vandamme, P. Novel lactic acid bacteria isolated from the bumble bee gut: *Convivina intestini* gen. nov., sp. nov., *Lactobacillus bombicola* sp. nov., and *Weissella bombi* sp. nov. *Antonie Leeuwenhoek* **2015**, *107*, 1337–1349. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Oh, S.J.; Shin, N.R.; Hyun, D.W.; Kim, P.S.; Kim, J.Y.; Kim, M.S.; Yun, J.H.; Bae, J.W. *Weissella diestrammenae* sp. nov.; isolated from the gut of a camel cricket (*Diestrammena coreana*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2013**, *63*, 2951–2956. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Holzapfel, W.H.; Van Wyk, E.P. *Lactobacillus kandleri* sp. nov., a new species of the subgenus betabacterium, with glycine in the peptidoglycan. *Zentralblatt Bakteriologie. Mikrobiologie. Hygiene. I. Abteilung. Originale. C. Allgemeine Angewandte Ökologische Mikrobiologie.* **1982**, *3*, 495–502. [[CrossRef](#)]
36. Lee, J.; Lee, K.C.; Ahn, J.; Mheen, T.; Pyun, Y.; Park, Y. *Weissella koreensis* sp. nov.; isolated from kimchi. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2002**, *52*, 1257–1261. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Björkroth, K.J.; Schillinger, U.; Geisen, R.; Weiss, N.; Hoste, B.; Holzapfel, W.H.; Korkeala, H.J.; Vandamme, P. Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov.; detected in food and clinical samples. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2002**, *52*, 141–148. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Russo, P.; Beleggia, R.; Ferrer, S.; Pardo, I.; Spano, G. A polyphasic approach in order to identify dominant lactic acid bacteria during pasta manufacturing. *LWT Food Sci. Technol.* **2010**, *43*, 982–986. [[CrossRef](#)]
39. Osimani, A.; Garofalo, C.; Aquilanti, L.; Milanović, V.; Clementi, F. Unpasteurised commercial boza as a source of microbial diversity. *Int. J. Food Microbiol.* **2015**, *194*, 62–70. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Magnusson, J.; Jonsson, H.; Schnurer, J.; Roos, S. *Weissella soli* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2002**, *52*, 831–834. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Cho, J.; Lee, D.; Yang, C.; Jeon, J.; Kim, J.; Han, H. Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol. Lett.* **2006**, *257*, 262–267. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Jeong, S.H.; Lee, S.H.; Jung, J.Y.; Choi, E.J.; Jeon, C.O. Microbial succession and metabolite changes during long-term storage of Kimchi. *J. Food Sci.* **2013**, *78*, 763–769. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Kim, E.; Cho, Y.; Lee, Y.; Han, S.-K.; Kim, C.-G.; Choo, D.-W.; Kim, Y.-R.; Kim, H.-Y. A proteomic approach for rapid identification of *Weissella* species isolated from Korean fermented foods on MALDI-TOF MS supplemented with an in-house database. *Int. J. Food Microbiol.* **2017**, *243*, 9–15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Kim, M.; Chun, J. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *Int. J. Food Microbiol.* **2005**, *103*, 91–96. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Kim, M.J.; Seo, H.N.; Hwang, T.S.; Lee, S.H.; Park, D.H. Characterization of exopolysaccharide (EPS) produced by *Weissella cibaria* SKkimchi3 isolated from kimchi. *J. Microbiol.* **2008**, *46*, 535–541. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

46. Lee, J.S.; Heo, G.Y.; Jun, W.L.; Oh, Y.J.; Park, J.A.; Park, Y.H.; Pyun, Y.R.; Jong, S.A. Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.* **2005**, *102*, 143–150. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Lan, W.-T.T.; Chen, Y.-S.; Yanagida, F. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Yan-dong-gua (fermented wax gourd), a traditional fermented food in Taiwan. *J. Biosci. Bioeng.* **2009**, *108*, 484–487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Chen, Y.-S.; Wu, H.-C.; Wang, C.-M.; Lin, C.-C.; Chen, Y.-T.; Jhong, Y.-J.; Yanagida, F. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from pobuzihi (fermented cummingcordia), a traditional fermented food in Taiwan. *Folia Microbiol.* **2013**, *58*, 103–109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Chen, Y.S.; Wu, H.; Lo, H.; Lin, W.; Hsu, W.; Lin, C.; Lin, P.; Yanagida, F. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from jiang-gua (fermented cucumbers), a traditional fermented food in Taiwan. *J. Sci. Food Agric.* **2012**, *92*, 2069–2075. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Chen, Y.-S.; Liou, M.S.; Ji, S.H.; Yu, C.R.; Pan, S.F.; Yanagida, F. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Yan-tsai-shin (fermented broccoli stems), a traditional fermented food in Taiwan. *J. Appl. Microbiol.* **2013**, *115*, 125–132. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Chang, C.-H.; Chen, Y.-S.; Yanagida, F. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from yan-jiang (fermented ginger), a traditional fermented food in Taiwan. *J. Sci. Food Agric.* **2011**, *91*, 1746–1750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Chen, Y.-S.; Wu, H.C.; Pan, S.F.; Lin, B.G.; Lin, Y.H.; Tung, W.C.; Li, Y.L.; Chiang, C.M.; Yanagida, F. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from yan-taozih (pickled peaches) in Taiwan. *Ann. Microbiol.* **2013**, *63*, 607–614. [[CrossRef](#)]
53. Chen, Y.-S.S.; Wu, H.C.; Yu, C.R.; Chen, Z.Y.; Lu, Y.C.; Yanagida, F. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from xi-gua-mian (fermented watermelon), a traditional fermented food in Taiwan. *Ital. J. Food Sci.* **2016**, *28*, 9–14. [[CrossRef](#)]
54. Chen, Y.-S.; Yanagida, F.; Hsu, J.S. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from dochi (fermented black beans), a traditional fermented food in Taiwan. *Lett. Appl. Microbiol.* **2006**, *43*, 229–235. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Anandharaj, M.; Sivasankari, B.; Santhanakaruppu, R.; Manimaran, M.; Rani, R.P.; Sivakumar, S. Determining the probiotic potential of cholesterol-reducing *Lactobacillus* and *Weissella* strains isolated from gherkins (fermented cucumber) and south Indian fermented koozh. *Res. Microbiol.* **2015**, *166*, 428–439. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Chao, S.-H.; Wu, R.-J.; Watanabe, K.; Tsai, Y.-C. Diversity of lactic acid bacteria in suan-tsai and fu-tsai, traditional fermented mustard products of Taiwan. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *135*, 203–210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Chao, S.-H.; Tomii, Y.; Watanabe, K.; Tsai, Y.-C. Diversity of lactic acid bacteria in fermented brines used to make stinky tofu. *Int. J. Food Microbiol.* **2008**, *123*, 134–141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Miyashita, M.; Malimas, T.; Sugimoto, M.; Yoshino, M. 16S rRNA gene sequence analysis of lactic acid bacteria isolated from fermented foods in Thailand. *Microb. Cult. Coll.* **2012**, *28*, 1–9.
59. Roh, S.W.; Kim, K.; Nam, Y.; Chang, H.; Park, E.; Bae, J.-W. Investigation of archaeal and bacterial diversity in fermented seafood using barcoded pyrosequencing. *ISME J.* **2009**, *4*, 1–16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Patel, A.; Prajapati, J.B.; Holst, O.; Ljungh, A. Probiotic properties of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from vegetables and traditional Indian fermented foods. *Food Biosci.* **2012**, *5*, 27–33. [[CrossRef](#)]
61. Yuliana, N.; Dizon, E.I. Phenotypic Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tempoyak (Fermented Durian) Made in the Philippines. *Int. J. Biol.* **2011**, *3*, 145–152. [[CrossRef](#)]
62. Lu, Z.; Pérez-Díaz, I.M.; Hayes, J.S.; Breidt, F. Bacteriophage ecology in a commercial cucumber fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* **2012**, *78*, 8571–8578. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Wouters, D.; Grosu-Tudor, S.; Zamfir, M.; De Vuyst, L. Bacterial community dynamics, lactic acid bacteria species diversity and metabolite kinetics of traditional Romanian vegetable fermentations. *J. Sci. Food Agric.* **2013**, *93*, 749–760. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Yang, J.; Ji, Y.; Park, H.; Lee, J.; Park, S.; Yeo, S.; Shin, H.; Holzapfel, W.H. Selection of functional lactic acid bacteria as starter cultures for the fermentation of Korean leek (*Allium tuberosum* Rottler ex Sprengel.). *Int. J. Food Microbiol.* **2014**, *191*, 164–171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

65. Wouters, D.; Bernaert, N.; Conjaerts, W.; Van Droogenbroeck, B.; de Loose, M.; De Vuyst, L. Species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of spontaneous leek fermentations. *Food Microbiol.* **2013**, *33*, 185–196. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Lu, Z.; Breidt, F.; Plengvidhya, V.; Fleming, H.P. Bacteriophage ecology in commercial sauerkraut fermentations. *Appl. Environ. Microbiol.* **2003**, *69*, 3192–3202. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Plengvidhya, V.; Breidt, F.; Lu, Z.; Fleming, H.P. DNA fingerprinting of lactic acid bacteria in sauerkraut fermentations. *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73*, 7697–7702. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Ayeni, F.A.; Sánchez, B.; Adeniyi, B.A.; de Los Reyes-Gavilán, C.G.; Margolles, A.; Ruas-Madiedo, P. Evaluation of the functional potential of *Weissella* and *Lactobacillus* isolates obtained from Nigerian traditional fermented foods and cow's intestine. *Int. J. Food Microbiol.* **2011**, *147*, 97–104. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Akabanda, F.; Owusu-Kwarteng, J.; Tano-Debrah, K.; Glover, R.L.K.; Nielsen, D.S.; Jespersen, L. Taxonomic and molecular characterization of lactic acid bacteria and yeasts in nunu, a Ghanaian fermented milk product. *Food Microbiol.* **2013**, *34*, 277–283. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Mathara, J.M.; Schillinger, U.; Kutima, P.M.; Mbugua, S.K.; Holzapfel, W.H. Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto: The Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Int. J. Food Microbiol.* **2004**, *94*, 269–278. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
71. Isono, Y.; Shingu, I.; Shimizu, S. Identification and Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Masai Fermented Milk in Northern Tanzania. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1994**, *58*, 660–664. [[CrossRef](#)]
72. Kimura, M.; Danno, K.; Yasui, H. Immunomodulatory Function and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Mongolian Fermented Milk. *Bioscience* **2006**, *25*, 147–155. [[CrossRef](#)]
73. Rahman, N.; Xiaohong, C.; Meiqin, F.; Mingsheng, D. Characterization of the dominant microflora in naturally fermented camel milk Shubat. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, *25*, 1941–1946. [[CrossRef](#)]
74. Di Cagno, R.; Buchin, S.; de Candia, S.; De Angelis, M.; Fox, P.F.; Gobbetti, M. Characterization of Italian cheeses ripened under nonconventional conditions. *J. Dairy Sci.* **2007**, *90*, 2689–2704. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Morales, F.; Morales, J.I.; Hernández, C.H.; Hernández-Sánchez, H. Isolation and partial characterization of halotolerant lactic acid bacteria from two Mexican cheeses. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2011**, *164*, 889–905. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Gerasi, E.; Litopoulou-Tzanetaki, E.; Tzanetakis, N. Microbiological study of Manura, a hard cheese made from raw ovine milk in the Greek island Sifnos. *Int. J. Dairy Technol.* **2003**, *56*, 117–122. [[CrossRef](#)]
77. Baruzzi, F.; Matarante, A.; Morea, M.; Cocconcelli, P.S. Microbial community dynamics during the Scamorza Altamura cheese natural fermentation. *J. Dairy Sci.* **2002**, *85*, 1390–1397. [[CrossRef](#)]
78. Morea, M.; Baruzzi, F.; Cappa, F.; Cocconcelli, P.S. Molecular characterization of the *Lactobacillus* community in traditional processing of Mozzarella cheese. *Int. J. Food Microbiol.* **1998**, *43*, 53–60. [[CrossRef](#)]
79. Williams, A.G.; Banks, J.M. Proteolytic and other hydrolytic enzyme activities in non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) isolated from Cheddar cheese manufactured in the United Kingdom. *Int. Dairy J.* **1997**, *7*, 763–774. [[CrossRef](#)]
80. Zamfir, M.; Vancanneyt, M.; Makras, L.; Vanningelgem, F.; Lefebvre, K.; Pot, B.; Swings, J.; De Vuyst, L. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Syst. Appl. Microbiol.* **2006**, *29*, 487–495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Yu, J.; Wang, W.H.; Menghe, B.L.; Jiri, M.T.; Wang, H.M.; Liu, W.J.; Bao, Q.H.; Lu, Q.; Zhang, J.C.; Wang, F.; et al. Diversity of lactic acid bacteria associated with traditional fermented dairy products in Mongolia. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94*, 3229–3241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Mugula, J.; Nnko, S.A.; Narvhus, J.; Sørhaug, T. Microbiological and fermentation characteristics of togwa, a Tanzanian fermented food. *Int. J. Food Microbiol.* **2003**, *80*, 187–199. [[CrossRef](#)]
83. Djeni, N.T.; Bouatenin, K.M.J.-P.; Assouhoun, N.M.C.; Toka, D.M.; Menan, E.H.; Dousset, X.; Dje, K.M. Biochemical and microbial characterization of cassava inocula from the three main attiépe production zones in Côte d'Ivoire. *Food Control* **2015**, *50*, 133–140. [[CrossRef](#)]
84. Kostinek, M.; Specht, I.; Edward, V.A.A.; Pinto, C.; Egounley, M.; Sossa, C.; Mbugua, S.; Dortu, C.; Thonart, P.; Taljaard, L.; et al. Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. *Int. J. Food Microbiol.* **2007**, *114*, 342–351. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

85. Kostinek, M.; Specht, I.; Edward, V.A.; Schillinger, U.; Hertel, C.; Holzapfel, W.H.; Franz, C.M.A.P. Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria from fermented cassava used for the preparation of Gari, a traditional African food. *Syst. Appl. Microbiol.* **2005**, *28*, 527–540. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Padonou, W.S.; Nielsen, D.S.; Hounhouigan, J.D.; Thorsen, L.; Nago, M.C.; Jakobsen, M. The microbiota of Lafun, an African traditional cassava food product. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *133*, 22–30. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Kavita, D.; Devi, P.B.; Singh, S.P.; Shetty, P.H. Characterization of a novel galactan produced by *Weissella confusa* KR780676 from an acidic fermented food. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *86*, 681–689. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Bounaix, M.-S.; Robert, H.; Gabriel, V.; Morel, S.; Remaud-Siméon, M.; Gabriel, B.; Fontagné-Faucher, C. Characterization of dextran-producing *Weissella* strains isolated from sourdoughs and evidence of constitutive dextransucrase expression. *FEMS Microbiol. Lett.* **2010**, *311*, 18–26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
89. Bounaix, M.S.; Gabriel, V.; Morel, S.; Robert, H.; Rabier, P.; Remaud-Siméon, M.; Gabriel, B.; Fontagné-Faucher, C. Biodiversity of exopolysaccharides produced from sucrose by sourdough lactic acid bacteria. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 10889–10897. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Moroni, A.V.; Arendt, E.K.; Dal Bello, F. Biodiversity of lactic acid bacteria and yeasts in spontaneously-fermented buckwheat and teff sourdoughs. *Food Microbiol.* **2011**, *28*, 497–502. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
91. Pontonio, E.; Nionelli, L.; Curiel, J.A.; Sadeghi, A.; Di Cagno, R.; Gobbetti, M.; Rizzello, C.G. Iranian wheat flours from rural and industrial mills: Exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food Microbiol.* **2015**, *47*, 99–110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Robert, H.; Gabriel, V.; Fontagné-Faucher, C. Biodiversity of lactic acid bacteria in French wheat sourdough as determined by molecular characterization using species-specific PCR. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *135*, 53–59. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Zotta, T.; Ricciardi, A.; Parente, E. Enzymatic activities of lactic acid bacteria isolated from Cornetto di Matera sourdoughs. *Int. J. Food Microbiol.* **2007**, *115*, 165–172. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
94. Ampe, F.; Ben Omar, N.; Moizan, C.; Wachter, C.; Guyot, J.P. Polyphasic study of the spatial distribution of microorganisms in Mexican *pozol*, a fermented maize dough, demonstrates the need for cultivation-independent methods to investigate traditional fermentations. *Appl. Environ. Microbiol.* **1999**, *65*, 5464–5473. [[PubMed](#)]
95. Tohno, M.; Kitahara, M.; Inoue, H.; Uegaki, R.; Irisawa, T.; Ohkuma, M.; Tajima, K. *Weissella oryzae* sp. nov., isolated from fermented rice grains. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2013**, *63*, 1417–1420. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
96. Elizaquível, P.; Pérez-Cataluña, A.; Yépez, A.; Aristimuño, C.; Jiménez, E.; Cocconcelli, P.S.; Vignolo, G.; Aznar, R. Pyrosequencing vs. culture-dependent approaches to analyze lactic acid bacteria associated to chicha, a traditional maize-based fermented beverage from Northwestern Argentina. *Int. J. Food Microbiol.* **2015**, *198*, 9–18. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
97. Oguntoyinbo, F.A.; Turlomousis, P.; Gasson, M.J.; Narbad, A. Analysis of bacterial communities of traditional fermented West African cereal foods using culture independent methods. *Int. J. Food Microbiol.* **2011**, *145*, 205–210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
98. Owusu-Kwarteng, J.; Akabanda, F.; Nielsen, D.S.; Tano-Debrah, K.; Glover, R.L.K.; Jespersen, L. Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food Microbiol.* **2012**, *32*, 72–78. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
99. Abegaz, K. Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria involved in traditional fermentation of *borde*, an Ethiopian cereal beverage. *Afr. J. Biotechnol.* **2007**, *6*, 1469–1478.
100. Camu, N.; De Winter, T.; Verbrugghe, K.; Cleenwerck, I.; Vandamme, P.; Takrama, J.S.; Vancanneyt, M.; De Vuyst, L. Dynamics and biodiversity of populations of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73*, 1809–1824. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
101. Jung, M.-J.; Nam, Y.-D.; Roh, S.W.; Bae, J.-W. Unexpected convergence of fungal and bacterial communities during fermentation of traditional Korean alcoholic beverages inoculated with various natural starters. *Food Microbiol.* **2012**, *30*, 112–123. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

102. Pringsulaka, O.; Patarasinpaiboon, N.; Suwannasai, N.; Atthakor, W.; Rangsiruji, A. Isolation and characterisation of a novel Podoviridae-phage infecting *Weissella cibaria* N 22 from Nham, a Thai fermented pork sausage. *Food Microbiol.* **2011**, *28*, 518–525. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Thongsanit, J.; Tanikawa, M.; Yano, S.; Tachiki, T.; Wakayama, M. Identification of glutaminase-producing lactic acid bacteria isolated from Nham, a traditional Thai fermented food and characterisation of glutaminase activity of isolated *Weissella cibaria*. *Ann. Microbiol.* **2009**, *59*, 715–720. [[CrossRef](#)]
104. Wongsuphachat, W.; H-Kittikun, A.; Maneerat, S. Optimization of exopolysaccharides production by *Weissella confusa* NH 02 isolated from thai fermented sausages. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **2010**, *32*, 27–35.
105. Cocolin, L.; Dolci, P.; Rantsiou, K.; Urso, R.; Cantoni, C.; Comi, G. Lactic acid bacteria ecology of three traditional fermented sausages produced in the North of Italy as determined by molecular methods. *Meat Sci.* **2009**, *82*, 125–132. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
106. Urso, R.; Comi, G.; Cocolin, L. Ecology of lactic acid bacteria in Italian fermented sausages: Isolation, identification and molecular characterization. *Syst. Appl. Microbiol.* **2006**, *29*, 671–680. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
107. Papamanoli, E.; Tzanetakis, N.; Litopoulou-Tzanetaki, E.; Kotzekidou, P. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci.* **2003**, *65*, 859–867. [[CrossRef](#)]
108. Rantsiou, K.; Drosinos, E.H.; Gialitaki, M.; Urso, R.; Krommer, J.; Gasparik-Reichardt, J.; Tóth, S.; Metaxopoulos, I.; Comi, G.; Cocolin, L. Molecular characterization of *Lactobacillus* species isolated from naturally fermented sausages produced in Greece, Hungary and Italy. *Food Microbiol.* **2005**, *22*, 19–28. [[CrossRef](#)]
109. Albano, H.; van Reenen, C.A.; Todorov, S.D.; Cruz, D.; Fraga, L.; Hogg, T.; Dicks, L.M.T.; Teixeira, P. Phenotypic and genetic heterogeneity of lactic acid bacteria isolated from “Alheira”, a traditional fermented sausage produced in Portugal. *Meat Sci.* **2009**, *82*, 389–398. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Yüceer, Ö.; Tuncer, B.O. Determination of antibiotic resistance and biogenic amine production of lactic acid bacteria isolated from fermented Turkish sausage (sucuk). *J. Food Saf.* **2015**, *35*, 276–285. [[CrossRef](#)]
111. Pereira, C.I.; San Romão, M.V.; Lolkema, J.S.; Crespo, M.T.B. *Weissella halotolerans* W22 combines arginine deiminase and ornithine decarboxylation pathways and converts arginine to putrescine. *J. Appl. Microbiol.* **2009**, *107*, 1894–1902. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
112. Lu, S.; Ji, H.; Wang, Q.; Li, B.; Li, K.; Xu, C.; Jiang, C. The effects of starter cultures and plant extracts on the biogenic amine accumulation in traditional Chinese smoked horsemeat sausages. *Food Control* **2015**, *50*, 869–875. [[CrossRef](#)]
113. Samelis, J.; Maurogenakis, F.; Metaxopoulos, J. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *Int. J. Food Microbiol.* **1994**, *23*, 179–196. [[CrossRef](#)]
114. Chen, C.; Chen, X.; Jiang, M.; Rui, X.; Li, W.; Dong, M. A newly discovered bacteriocin from *Weissella cibaria* D1501 associated with Chinese Dong fermented meat (Nanx Wudl). *Food Control* **2014**, *42*, 116–124. [[CrossRef](#)]
115. Kopermsub, P.; Yunchalard, S. Identification of lactic acid bacteria associated with the production of *plaa-som*, a traditional fermented fish product of Thailand. *Int. J. Food Microbiol.* **2010**, *138*, 200–204. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
116. Paludan-Müller, C.; Madsen, M.; Sophanodora, P.; Gram, L.; Møller, P.L. Fermentation and microflora of *plaa-som*, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *Int. J. Food Microbiol.* **2002**, *73*, 61–70. [[CrossRef](#)]
117. Sriannual, S.; Yanagida, F.; Lin, L.H.; Hsiao, K.N.; Chen, Y.S. Weissellicin 110, a newly discovered bacteriocin from *Weissella cibaria* 110, isolated from *plaa-som*, a fermented fish product from Thailand. *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73*, 2247–2250. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
118. Thapa, N.; Pal, J.; Prakash, J. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, *107*, 33–38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
119. Patel, A.; Falck, P.; Shah, N.; Immerzeel, P.; Adlercreutz, P.; Stålbrand, H.; Prajapati, J.B.; Holst, O.; Nordberg Karlsson, E. Evidence for xylooligosaccharide utilization in *Weissella* strains isolated from Indian fermented foods and vegetables. *FEMS Microbiol. Lett.* **2013**, *346*, 20–28. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
120. Swain, M.R.; Anandharaj, M.; Ray, R.C.; Praveen Rani, R. Fermented fruits and vegetables of Asia: A potential source of probiotics. *Biotechnol. Res. Int.* **2014**, *2014*, 1–19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

121. Holzapfel, W. Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control* **1997**, *8*, 241–258. [[CrossRef](#)]
122. Marsh, A.J.; Hill, C.; Ross, R.P.; Cotter, P.D. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends Food Sci. Technol.* **2014**, *38*, 113–124. [[CrossRef](#)]
123. Holzapfel, W.H. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *Int. J. Food Microbiol.* **2002**, *75*, 197–212. [[CrossRef](#)]
124. Ammor, M.S.; Mayo, B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Sci.* **2007**, *76*, 138–146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
125. Iyer, R.; Tomar, S.K.; Uma Maheswari, T.; Singh, R. *Streptococcus thermophilus* strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* **2010**, *20*, 133–141. [[CrossRef](#)]
126. Ogier, J.C.; Casalta, E.; Farrokh, C.; Saihi, A. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. *Int. J. Food Microbiol.* **2008**, *126*, 286–290. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
127. Altuntas, E.G. Bacteriocins: A natural way to combat with pathogens. In *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*; Méndez-Vilas, A., Ed.; Formatex: Badajoz, Spain, 2013; pp. 1007–1015.
128. Rattanachaiunsopon, P.; Phumkhachorn, P. Lactic acid bacteria: Their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Ann. Biol. Res.* **2010**, *1*, 218–228.
129. Varsha, K.K.; Nampoothiri, K.M. Appraisal of lactic acid bacteria as protective cultures. *Food Control* **2016**, *69*, 61–64. [[CrossRef](#)]
130. Hati, S.; Mandal, S.; Prajapati, J. Novel Starters for Value Added Fermented Dairy Products. *Curr. Res. Nutr. Food Sci. J.* **2013**, *1*, 83–91. [[CrossRef](#)]
131. Hammes, W.P.; Knauf, H.J. Starters in the Processing of Meat-Products. *Meat Sci.* **1994**, *36*, 155–168. [[CrossRef](#)]
132. Zannini, E.; Waters, D.M.; Coffey, A.; Arendt, E.K. Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *100*, 1121–1135. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
133. Di Cagno, R.; Surico, R.F.; Siragusa, S.; De Angelis, M.; Paradiso, A.; Minervini, F.; De Gara, L.; Gobbetti, M. Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. *Int. J. Food Microbiol.* **2008**, *127*, 220–228. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
134. Dueñas, M.; Fernández, D.; Hernández, T.; Estrella, I.; Muñoz, R. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. *J. Sci. Food Agric.* **2005**, *85*, 297–304. [[CrossRef](#)]
135. Filannino, P.; Azzi, L.; Cavoski, I.; Vincentini, O.; Rizzello, C.G.; Gobbetti, M.; Di Cagno, R. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **2013**, *163*, 184–192. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
136. Marazza, J.A.; Nazareno, M.A.; Savoy de Giori, G.; Garro, M.S. Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus*. *J. Funct. Foods* **2012**, *4*, 594–601. [[CrossRef](#)]
137. Hur, S.J.; Lee, S.Y.; Kim, Y.-C.; Choi, I.; Kim, G.-B. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chem.* **2014**, *160*, 346–356. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
138. Shalaby, A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.* **1997**, *29*, 675–690. [[CrossRef](#)]
139. Hansen, E.B. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *Int. J. Food Microbiol.* **2002**, *78*, 119–131. [[CrossRef](#)]
140. Ahmed, F.E. Genetically modified probiotics in foods. *Trends Biotechnol.* **2003**, *21*, 491–497. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
141. Joerger, M.C.; Klaenhammer, T.R. Cloning, expression, and nucleotide sequence of the *Lactobacillus helveticus* 481 gene encoding the bacteriocin helveticin J. *J. Bacteriol.* **1990**, *172*, 6339–6347. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
142. Joutsjoki, V.; Luoma, S.; Tamminen, M.; Kilpi, M.; Johansen, E.; Palva, A. Recombinant *Lactococcus* starters as a potential source of additional peptidolytic activity in cheese ripening. *J. Appl. Microbiol.* **2002**, *92*, 1159–1166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
143. Bachmann, H.; Pronk, J.T.; Teusink, B. Evolutionary engineering to enhance starter culture performance in food fermentations. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2015**, *32*, 1–7. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
144. Cakar, Z.P.; Turanli-Yildiz, B.; Alkim, C.; Yilmaz, U. Evolutionary engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for improved industrially important properties. *FEMS Yeast Res.* **2012**, *12*, 171–182. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

145. Cakar, Z.P.; Seker, U.O.S.; Tamerler, C.; Sonderegger, M.; Sauer, U. Evolutionary engineering of multiple-stress resistant *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.* **2005**, *5*, 569–578. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
146. Bachmann, H.; Starrenburg, M.J.C.; Molenaar, D.; Kleerebezem, M.; Hylckama Vlieg, J.E.T. Microbial domestication signatures of *Lactococcus lactis* can be reproduced by experimental evolution. *Genome Res.* **2012**, *22*, 115–124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
147. Choi, H.; Kim, Y.-W.; Hwang, I.; Kim, J.; Yoon, S. Evaluation of *Leuconostoc citreum* HO12 and *Weissella koreensis* HO20 isolated from kimchi as a starter culture for whole wheat sourdough. *Food Chem.* **2012**, *134*, 2208–2216. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
148. Robert, H.; Gabriel, V.; Lefebvre, D.; Rabier, P.; Vayssier, Y.; Fontagné-Faucher, C. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. *LWT Food Sci. Technol.* **2006**, *39*, 256–265. [[CrossRef](#)]
149. Wolter, A.; Hager, A.-S.; Zannini, E.; Galle, S.; Gänzle, M.G.; Waters, D.M.; Arendt, E.K. Evaluation of exopolysaccharide producing *Weissella cibaria* MG1 strain for the production of sourdough from various flours. *Food Microbiol.* **2014**, *37*, 44–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
150. Di Cagno, R.; Surico, R.F.; Minervini, G.; De Angelis, M.; Rizzello, C.G.; Gobbetti, M. Use of autochthonous starters to ferment red and yellow peppers (*Capsicum annum* L.) to be stored at room temperature. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *130*, 108–116. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
151. Galle, S.; Schwab, C.; Arendt, E.; Gänzle, M. Exopolysaccharide-forming *Weissella* strains as starter cultures for sorghum and wheat sourdoughs. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 5834–5841. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
152. Malang, S.K.; Maina, N.H.; Schwab, C.; Tenkanen, M.; Lacroix, C. Characterization of exopolysaccharide and rropy capsular polysaccharide formation by *Weissella*. *Food Microbiol.* **2015**, *46*, 418–427. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
153. Zannini, E.; Mauch, A.; Galle, S.; Gänzle, M.; Coffey, A.; Arendt, E.K.; Taylor, J.P.; Waters, D.M. Barley malt wort fermentation by exopolysaccharide-forming *Weissella cibaria* MG1 for the production of a novel beverage. *J. Appl. Microbiol.* **2013**, *115*, 1379–1387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
154. Ahmed, R.Z.; Siddiqui, K.; Arman, M.; Ahmed, N. Characterization of high molecular weight dextran produced by *Weissella cibaria* CMGDEx3. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *90*, 441–446. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
155. Rao, T.J.M.; Goyal, A. A novel high dextran yielding *Weissella cibaria* JAG8 for cereal food application. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2013**, *64*, 346–354. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
156. Tingirikari, J.M.R.; Kothari, D.; Shukla, R.; Goyal, A. Structural and biocompatibility properties of dextran from *Weissella cibaria* JAG8 as food additive. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2014**, *65*, 686–691. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
157. Maina, N.H.; Tenkanen, M.; Maaheimo, H.; Juvonen, R.; Virkki, L. NMR spectroscopic analysis of exopolysaccharides produced by *Leuconostoc citreum* and *Weissella confusa*. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1446–1455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
158. Juvonen, R.; Honkapää, K.; Maina, N.H.; Shi, Q.; Viljanen, K.; Maaheimo, H.; Virkki, L.; Tenkanen, M.; Lantto, R. The impact of fermentation with exopolysaccharide producing lactic acid bacteria on rheological, chemical and sensory properties of pureed carrots (*Daucus carota* L.). *Int. J. Food Microbiol.* **2015**, *207*, 109–118. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
159. Nam, H.; Ha, M.; Bae, O.; Lee, Y. Effect of *Weissella confusa* strain PL9001 on the adherence and growth of *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiol.* **2002**, *68*, 4642–4645. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
160. Leong, K.; Chen, Y.; Lin, Y.; Pan, S.; Yu, B.; Wu, H.; Yanagida, F. Weissellicin L, a novel bacteriocin from *sian-sianzih*-isolated *Weissella hellenica* 4–7. *J. Appl. Microbiol.* **2013**, *115*, 70–76. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
161. Masuda, Y.; Zendo, T.; Sawa, N.; Perez, R.H.; Nakayama, J.; Sonomoto, K. Characterization and identification of weissellicin Y and weissellicin M, novel bacteriocins produced by *Weissella cibaria* QU 13. *J. Appl. Microbiol.* **2012**, *112*, 99–108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
162. Papagianni, M.; Papamichael, E.M. Purification, amino acid sequence and characterization of the class IIa bacteriocin weissellin A, produced by *Weissella paramesenteroides* DX. *Bioresour. Technol.* **2011**, *102*, 6730–6734. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
163. Woraprayote, W.; Pumpuang, L.; Tosukhowong, A.; Roytrakul, S.; Perez, R.H.; Zendo, T.; Sonomoto, K.; Benjakul, S.; Visessanguan, W. Two putatively novel bacteriocins active against Gram-negative food borne pathogens produced by *Weissella cibaria* BCC 7293. *Food Control* **2015**, *55*, 176–184. [[CrossRef](#)]
164. Malik, A.; Sumayyah, S.; Yeh, C.W.; Heng, N.C.K. Identification and sequence analysis of pWcMBF8-1, a bacteriocin-encoding plasmid from the lactic acid bacterium *Weissella confusa*. *FEMS Microbiol. Lett.* **2016**, *363*, 1–8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

165. Parvez, S.; Malik, K.A.; Ah Kang, S.; Kim, H.-Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J. Appl. Microbiol.* **2006**, *100*, 1171–1185. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
166. Lee, K.W.; Park, J.Y.; Jeong, H.R.; Heo, H.J.; Han, N.S.; Kim, J.H. Probiotic properties of *Weissella* strains isolated from human faeces. *Anaerobe* **2012**, *18*, 96–102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
167. Fritsch, C.; Jänsch, A.; Ehrmann, M.A.; Toelstede, S.; Vogel, R.F. Characterization of Cinnamoyl Esterases from Different Lactobacilli and Bifidobacteria. *Curr. Microbiol.* **2017**, *74*, 247–256. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
168. Jiménez, N.; Esteban-Torres, M.; Mancheño, J.M.; de Las Rivas, B.; Muñoz, R. Tannin degradation by a novel tannase enzyme present in some *Lactobacillus plantarum* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* **2014**, *80*, 2991–2997. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
169. Pyo, Y.-H.; Lee, T.-C.; Lee, Y.-C. Enrichment of bioactive isoflavones in soymilk fermented with β -glucosidase-producing lactic acid bacteria. *Food Res. Int.* **2005**, *38*, 551–559. [[CrossRef](#)]
170. Rodriguez, H.; Curiel, J.A.; Landete, J.M.; de las Rivas, B.; Lopez de Felipe, F.; Gomez-Cordoves, C.; Mancheno, J.M.; Munoz, R. Food phenolics and lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *132*, 79–90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
171. Rodriguez, H.; Landete, J.M.; de las Rivas, B.; Muñoz, R. Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748T. *Food Chem.* **2008**, *107*, 1393–1398. [[CrossRef](#)]
172. Lee, K.W.; Han, N.S.; Kim, J.H. Purification and characterization of beta-glucosidase from *Weissella cibaria* 37. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *22*, 1705–1713. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
173. Chun, J.; Kim, G.M.; Lee, K.W.; Choi, I.D.; Kwon, G.H.; Park, J.Y.; Jeong, S.J.; Kim, J.S.; Kim, J.H. Conversion of isoflavone glucosides to aglycones in soymilk by fermentation with lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* **2007**, *72*, 39–44. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
174. Chun, J.; Kim, J.S.; Kim, J.H. Enrichment of isoflavone aglycones in soymilk by fermentation with single and mixed cultures of *Streptococcus infantarius* 12 and *Weissella* sp. 4. *Food Chem.* **2008**, *109*, 278–284. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
175. Filannino, P.; Gobbetti, M.; De Angelis, M.; Di Cagno, R. Hydroxycinnamic acids used as external acceptors of electrons: An energetic advantage for strictly heterofermentative lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **2014**, *80*, 7574–7582. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
176. Park, J.A.; Tirupathi Pichiah, P.B.; Yu, J.J.; Oh, S.H.; Daily, J.W.; Cha, Y.S. Anti-obesity effect of kimchi fermented with *Weissella koreensis* OK1-6 as starter in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice. *J. Appl. Microbiol.* **2012**, *113*, 1507–1516. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
177. Spano, G.; Russo, P.; Lonvaud-Funel, A.; Lucas, P.; Alexandre, H.; Grandvalet, C.; Coton, E.; Coton, M.; Barnavon, L.; Bach, B.; et al. Biogenic amines in fermented foods. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2010**, *64*, S95–S100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
178. Muñoz-atienza, E.; Landeta, G.; De, B.; Gómez-sala, B.; Muñoz, R.; Hernández, P.E.; Cintas, L.M.; Herranz, C. Phenotypic and genetic evaluations of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.* **2011**, *146*, 212–216. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
179. Jeong, D.-W.; Lee, J.-H. Antibiotic resistance, hemolysis and biogenic amine production assessments of *Leuconostoc* and *Weissella* isolates for kimchi starter development. *LWT Food Sci. Technol.* **2015**, *64*, 1078–1084. [[CrossRef](#)]
180. Arena, M.E.; Manca De Nadra, M.C. Biogenic amine production by *Lactobacillus*. *J. Appl. Microbiol.* **2001**, *90*, 158–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
181. Costantini, A.; Pietroniro, R.; Doria, F.; Pessione, E.; Garcia-Moruno, E. Putrescine production from different amino acid precursors by lactic acid bacteria from wine and cider. *Int. J. Food Microbiol.* **2013**, *165*, 11–17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
182. Dapkevicius, M.L.N.E.; Nout, M.J.R.; Rombouts, F.M.; Houben, J.H.; Wymenga, W. Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* **2000**, *57*, 107–114. [[CrossRef](#)]
183. Mathur, S.; Singh, R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—A review. *Int. J. Food Microbiol.* **2005**, *105*, 281–295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
184. D’Aimmo, M.R.; Modesto, M.; Biavati, B. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. *Int. J. Food Microbiol.* **2007**, *115*, 35–42. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

185. Sharma, P.; Tomar, S.K.; Goswami, P.; Sangwan, V.; Singh, R. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Res. Int.* **2014**, *57*, 176–195. [[CrossRef](#)]
186. Jin, L.; Tao, L.; Pavlova, S.I.; So, J.S.; Kiwanuka, N.; Namukwaya, Z.; Saberbein, B.A.; Wawer, M. Species diversity and relative abundance of vaginal lactic acid bacteria from women in Uganda and Korea. *J. Appl. Microbiol.* **2007**, *102*, 1107–1115. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
187. Silvester, M.E.; Dicks, L.M.T. Identification of lactic acid bacteria isolated from human vaginal secretions. *Antonie Leeuwenhoek* **2003**, *83*, 117–123. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
188. Lee, Y. Characterization of *Weissella kimchii* PL9023 as a potential probiotic for women. *FEMS Microbiol. Lett.* **2005**, *250*, 157–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
189. Gomathi, S.; Sasikumar, P.; Anbazhagan, K.; Sasikumar, S.; Kavitha, M.; Selvi, M.S.; Selvam, G.S. Screening of indigenous oxalate degrading lactic acid bacteria from human faeces and south Indian fermented foods: Assessment of probiotic potential. *Sci. World J.* **2014**, *2014*, 648059. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
190. Nistal, E.; Caminero, A.; Vivas, S.; Ruiz De Morales, J.M.; Sáenz De Miera, L.E.; Rodríguez-Aparicio, L.B.; Casqueiro, J. Differences in faecal bacteria populations and faecal bacteria metabolism in healthy adults and celiac disease patients. *Biochimie* **2012**, *94*, 1724–1729. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
191. Rubio, R.; Jofré, A.; Martín, B.; Aymerich, T.; Garriga, M. Characterization of lactic acid bacteria isolated from infant faeces as potential probiotic starter cultures for fermented sausages. *Food Microbiol.* **2014**, *38*, 303–311. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
192. Walter, J.; Hertel, C.; Tannock, G.W.; Lis, C.M.; Munro, K.; Hammes, W.P. Detection of *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, and *Weissella* Species in Human Feces by Using Group-Specific PCR Primers and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, *67*, 2578–2585. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
193. Costa, F.A.A.; Leal, C.A.G.; Schuenker, N.D.; Leite, R.C.; Figueiredo, H.C.P. Characterization of *Weissella ceti* infections in Brazilian rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), farms and development of an oil-adjuvanted vaccine. *J. Fish Dis.* **2015**, *38*, 295–302. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
194. Snyder, A.K.; Hinshaw, J.M.; Welch, T.J. Diagnostic tools for rapid detection and quantification of *Weissella ceti* NC36 infections in rainbow trout. *Lett. Appl. Microbiol.* **2015**, *60*, 103–110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
195. Abriouel, H.; Lerma, L.L.; Casado Muñoz, M.D.C.; Montoro, B.P.; Kabisch, J.; Pichner, R.; Cho, G.-S.; Neve, H.; Fusco, V.; Franz, C.M.A.P.; et al. The controversial nature of the *Weissella* genus: Technological and functional aspects versus whole genome analysis-based pathogenic potential for their application in food and health. *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 1197. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
196. Fairfax, M.R.; Lephart, P.R.; Salimnia, H. *Weissella confusa*: Problems with identification of an opportunistic pathogen that has been found in fermented foods and proposed as a probiotic. *Front. Microbiol.* **2014**, *5*, 254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
197. Flaherty, J.D.; Levett, P.N.; Dewhirst, F.E.; Troe, T.E.; Warren, J.R.; Johnson, S. Fatal case of endocarditis due to *Weissella confusa*. *J. Clin. Microbiol.* **2003**, *41*, 2237–2239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
198. Harlan, N.P.; Kempker, R.R.; Parekh, S.M.; Burd, E.M.; Kuhar, D.T. *Weissella confusa* bacteremia in a liver transplant patient with hepatic artery thrombosis. *Transpl. Infect. Dis.* **2011**, *13*, 290–293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
199. Kumar, A.; Augustine, D.; Sudhindran, S.; Kurian, A.M.; Dinesh, K.R.; Karim, S.; Philip, R. *Weissella confusa*: A rare cause of vancomycin-resistant Gram-positive bacteraemia. *J. Med. Microbiol.* **2011**, *60*, 1539–1541. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
200. Lee, M.R.; Huang, Y.T.; Liao, C.H.; Lai, C.C.; Lee, P.I.; Hsueh, P.R. Bacteraemia caused by *Weissella confusa* at a university hospital in Taiwan, 1997–2007. *Clin. Microbiol. Infect.* **2011**, *17*, 1226–1231. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
201. Lee, W.; Cho, S.M.; Kim, M.; Ko, Y.G.; Yong, D.; Lee, K. *Weissella confusa* bacteremia in an immune-competent patient with underlying intramural hematomas of the aorta. *Ann. Lab. Med.* **2013**, *33*, 459–462. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
202. Medford, R.; Patel, S.N.; Evans, G.A. A confusing case—*Weissella confusa* prosthetic joint infection: A case report and review of the literature. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* **2014**, *25*, 173–175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
203. Olano, A.; Chua, J.; Schroeder, S.; Minari, A.; Salvia, M.L.A.; Hall, G. *Weissella confusa* (Basonym: *Lactobacillus confusus*) Bacteremia: A Case Report. *J. Clin. Microbiol.* **2001**, *39*, 1604–1607. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
204. Salimnia, H.; Alangaden, G.J.; Bharadwaj, R.; Painter, T.M.; Chandrasekar, P.H.; Fairfax, M.R. *Weissella confusa*: An unexpected cause of vancomycin-resistant gram-positive bacteremia in immunocompromised hosts. *Transpl. Infect. Dis.* **2011**, *13*, 294–298. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

205. Shin, J.H.; Kim, D.I.L.; Kim, H.R.; Kim, D.S.; Kook, J.K.; Lee, J.N. Severe infective endocarditis of native valves caused by *Weissella confusa* detected incidentally on echocardiography. *J. Infect.* **2007**, *54*, 149–151. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
206. Svec, P.; Sevcíková, A.; Sedláček, I.; Bednářová, J.; Snauwaert, C.; Lefebvre, K.; Vandamme, P.; Vancanneyt, M. Identification of lactic acid bacteria isolated from human blood cultures. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **2007**, *49*, 192–196. [[CrossRef](#)]
207. Kamboj, K.; Vasquez, A.; Balada-Llasat, J.M. Identification and significance of *Weissella* species infections. *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 1204. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
208. Cannon, J.P.; Lee, T.A.; Bolanos, J.T.; Danziger, L.H. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: A retrospective review of over 200 cases. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2005**, *24*, 31–40. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
209. Franko, B.; Fournier, P.; Jouve, T.; Malvezzi, P.; Pelloux, I.; Brion, J.P.; Pavese, P. *Lactobacillus* bacteremia: Pathogen or prognostic marker? *Med. Mal. Infect.* **2017**, *47*, 18–25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
210. Garneau, J.E.; Moineau, S. Bacteriophages of lactic acid bacteria and their impact on milk fermentations. *Microb. Cell Factories* **2011**, *10*, S20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
211. Kot, W.; Neve, H.; Heller, K.J.; Vogensen, F.K. Bacteriophages of *Leuconostoc*, *Oenococcus*, and *Weissella*. *Front. Microbiol.* **2014**, *5*, 186. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
212. Kleppen, H.P.; Holo, H.; Jeon, S.R.; Nes, I.F.; Yoon, S.S. Novel Podoviridae family bacteriophage infecting *Weissella cibaria* isolated from kimchi. *Appl. Environ. Microbiol.* **2012**, *78*, 7299–7308. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
213. Mahony, J.; Ainsworth, S.; Stockdale, S.; van Sinderen, D. Phages of lactic acid bacteria: The role of genetics in understanding phage-host interactions and their co-evolutionary processes. *Virology* **2012**, *434*, 143–150. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
214. Klaenhammer, T.R.; Kullen, M.J. Selection and design of probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* **1999**, *50*, 45–57. [[CrossRef](#)]
215. Bourdichon, F.; Casaregola, S.; Farrokh, C.; Frisvad, J.C.; Gerds, M.L.; Hammes, W.P.; Harnett, J.; Huys, G.; Laulund, S.; Ouwehand, A.; et al. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *Int. J. Food Microbiol.* **2012**, *154*, 87–97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
216. Bevilacqua, A.; Corbo, M.R.; Sinigaglia, M. Selection of Yeasts as Starter Cultures for Table Olives: A Step-by-Step Procedure. *Front. Microbiol.* **2012**, *3*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

PARTIE II : PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I
**Diversité de la flore bactérienne lactique
présente à la surface de fruits et légumes de
la Réunion**

Introduction

La surface des fruits et des légumes est caractérisée par un grand nombre de microorganismes différents, incluant des bactéries à Gram positif et négatif, des levures et des moisissures. En général, les levures et les bactéries à Gram négatif sont dominantes, les bactéries lactiques ne représentent qu'une toute partie de la flore microbienne [9]. Or, quand les conditions (température, nutriments, eau) leurs sont favorables, elles deviennent dominantes dans les fermentations spontanées de fruits et de légumes. En effet, elles sont caractérisées par une croissance et une acidification rapide, inhibant la croissance des bactéries à Gram négatif et les levures, ce qui permet d'allonger la durée de conservation des aliments. De plus, avec la production de composés antimicrobiens, les bactéries lactiques constituent également de potentiels candidats pour la biopréservation de fruits et de légumes.

La caractérisation des espèces de bactéries lactiques présentes à la surface des fruits et des légumes est une étape importante, d'une part pour la recherche de starters pour la fermentation de fruits et de légumes et d'autre part pour la recherche de cultures pour la biopréservation d'aliments à base de végétaux. Les bactéries choisies doivent ainsi répondre à plusieurs critères technologiques, organoleptiques, sanitaires et nutritionnels.

Les bactéries lactiques forment un groupe très bien décrit et notamment pour les applications laitières. Toutefois, certaines espèces sont moins connues, comme par exemple dans les genres *Weissella* et *Fructobacillus*, et certaines niches écologiques, comme la phyllosphère des plantes comestibles, présentent des particularités qui pourraient augmenter la diversité des génotypes et phénotypes. Ainsi, aucune autre étude ne décrit les espèces de bactérie lactique présentes à la surface de fruits et de légumes cultivés à la Réunion. La papaye (*Carica papaya*), avec sa chair colorée, juteuse et riche en vitamine C, est très appréciée des réunionnais. La tomate (*Lycopersicon esculantum*) est un fruit riche en caroténoïdes, la production annuelle de tomate à la Réunion s'estime à 12 000 tonnes. L'achard, mélange de légumes (chou, carotte, haricots verts, piments) marinés dans du vinaigre, du sel, de l'huile et du curcuma, est un aliment traditionnel de la Réunion. Les légumes marinés dans du sel sont riches en minéraux et nutriments favorables à la croissance des bactéries lactiques.

La première étude de cette thèse avait donc pour objectif de mieux caractériser la flore bactérienne lactique présente à la surface des végétaux cultivés à la Réunion, en ciblant la papaye, la tomate et les achards, afin de collecter de potentiels starters pour la préservation des fruits et légumes tropicaux par fermentation lactique. Des ananas Victoria de la Réunion avaient également été sélectionnés pour l'étude, mais aucune bactérie lactique n'a pu y être isolée.

Résultats

Les résultats portant sur la caractérisation génotypique et phénotypique de 77 bactéries lactiques isolées de papaye, de tomate et d'achards sont décrits dans un article (en préparation), intitulé **Tropically grown fruits and vegetables as a diversity pool for lactic acid bacteria**. Ce manuscrit sera soumis au journal *Research in Microbiology*.

Article 1 : *Tropically grown fruits and vegetables as a diversity pool for lactic acid bacteria*

Résultats complémentaires

Introduction

Les bactéries lactiques sont commercialisées soit sous forme de starter soit en tant que probiotique. Les starters commerciaux ou souches probiotiques utilisées par les industries alimentaires sont reconnues sûres pour l'organisme humain et présentent des caractéristiques technologiques adaptées à leur application. Certaines espèces des genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* comme *Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*, ou *Lactococcus lactis* sont disponibles commercialement en tant que souches probiotiques [124]. *Lb. plantarum* et *Lb. pentosus* sont les principales espèces commercialisées en tant que starter pour la fermentation de fruits et de légumes [125]. Dans le cadre de ces travaux, nous avons envisagé de comparer les performances de certains de nos isolats à celles de trois souches commerciales de *Lactobacillus*. Nous avons conclu un accord avec la société Lallemand SA qui nous a fourni trois souches dédiées à différentes applications.

Matériels et méthodes

Souches de la société Lallemand SA utilisées

Trois souches commerciales appartenant au genre *Lactobacillus* ont été utilisées :

- *Lactobacillus plantarum* K45 (application en œnologie)
- *Lactobacillus plantarum* LAN1 (probiotique animal)
- *Lactobacillus pentosus* LPO (fermentation d'olives).

Les souches sont cultivées sur gélose MRS à 30°C de la même façon que nos isolats. La production d'exo-polysaccharides a été testée sur gélose MRS saccharose pour ces trois souches.

Séquençage du gène *recA* et génotypage (GTG)₅

Les profils (GTG)₅ et l'amplification du gène *recA* de nos isolats de *Lactobacillus* ont été comparés à ceux des trois souches commerciales, selon les méthodes décrites dans l'article précédent.

Tolérance aux sels biliaires

La tolérance aux sels biliaires est une des caractéristiques désirées pour la recherche de probiotique. Un probiotique doit être capable de survivre au passage dans le tractus gastro-intestinal, c'est-à-dire survivre au faible pH de l'estomac et à la présence de sels biliaires dans l'intestin. La tolérance aux sels biliaires de nos isolats a donc été comparée à celle des trois souches commerciales, selon la méthode décrite dans l'article précédent.

Résultats et Discussion

Production d'exo-polysaccharides

Les trois souches LPO, K45 et LAN1, tout comme nos isolats du genre *Lactobacillus* ne produisent pas d'exo-polysaccharides sur de la gélose MRS-saccharose. La production d'EPS par des souches de *Lb. pentosus* et *Lb. plantarum* isolées d'une fermentation spontanée d'olives vertes et de tofu traditionnel Chinois, respectivement a déjà été reportée [54,126,127].

Séquençage du gène recA

L'amplification du gène *recA* des trois souches a permis de confirmer l'identification de nos isolats. Selon la méthode décrite par Torriani *et al.*, [128], des amplicons de 318 pb, 218 pb et 107 pb étaient attendus pour les espèces *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus* et *Lb. paraplantarum*, respectivement (**Figure 17A**). Un amplicon de 318 pb a bien été obtenu pour les espèces *Lb. plantarum* K45 et LAN1, ce qui a confirmé l'identification de nos isolats, 17a, 29a et 75. Un fragment de 218 pb a bien été obtenu pour la souche *Lb. pentosus* LPO et des fragments de 107 pb ont été obtenus pour nos deux isolats 73 et 74, confirmant ainsi leur appartenance à l'espèce *Lb. paraplantarum*. Aucun fragment n'a été obtenu pour l'isolat 71, pour lequel l'identification par le séquençage du gène 16S a révélé *Lb. paralimentarius/kimchii* (**Figure 17B**).

Les espèces *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus* et *Lb. paraplantarum* sont des espèces génétiquement proches et possèdent plusieurs caractéristiques communes. Il est donc très difficile de les différencier. En effet, le séquençage du gène 16S n'avait pas été suffisant pour identifier nos isolats de *Lactobacillus*. La protéine RecA est impliquée dans les mécanismes de recombinaison homologue et de réparation de l'ADN [128]. Cette protéine est donc ubiquitaire et le séquençage du gène codant pour cette protéine est donc un excellent moyen pour différencier des espèces génétiquement et phénotypiquement proches.

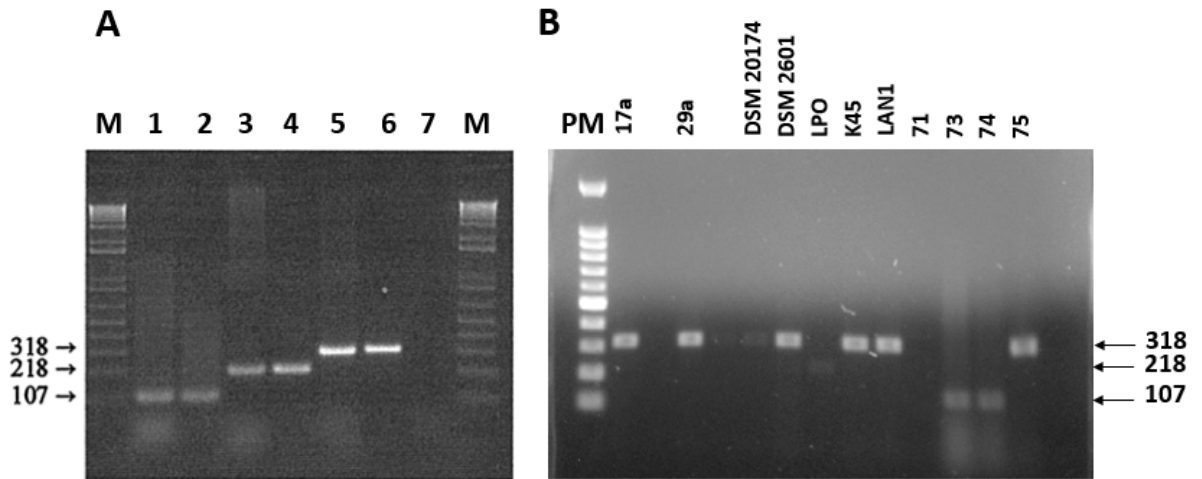


Figure 17 : Produits d'amplification obtenus après séquençage du gène *recA* pour les espèces *Lactobacillus*.

- (A) Produits d'amplification attendus, d'après [128]. **M** : Poids moléculaire ; **1 et 2** : *Lb. paraplantarum* LMG 16673 et NIRD P2 ; **3 et 4** : *Lb. pentosus* LMG 10755 et LMG 18401 ; **5 et 6** : *Lb. plantarum* ATCC 14917 et NCFB 340 ; **7** : *Lb. casei* ATCC 334.
- (B) Produits d'amplification obtenus pour les isolats de fruits et légumes et souches commerciales. **PM** : Poids moléculaire.

Génotypage (GTG)₅

Les profils (GTG)₅ des trois souches LPO, LAN1 et K45 ont été comparés à ceux obtenus pour nos isolats. Les profils (GTG)₅ des deux souches *Lb. plantarum* LAN1 et K45 présentent des bandes similaires. Cependant, leurs profils sont nettement différents de nos isolats *Lb. plantarum* et sont donc classés dans des clusters différents. La souche *Lb. pentosus* LPO montre bien un profil spécifique et bien distinct des autres espèces *Lactobacillus*. La **Figure 18** montre le dendrogramme obtenu après génotypage pour l'ensemble des espèces *Lactobacillus* utilisées dans cette étude.

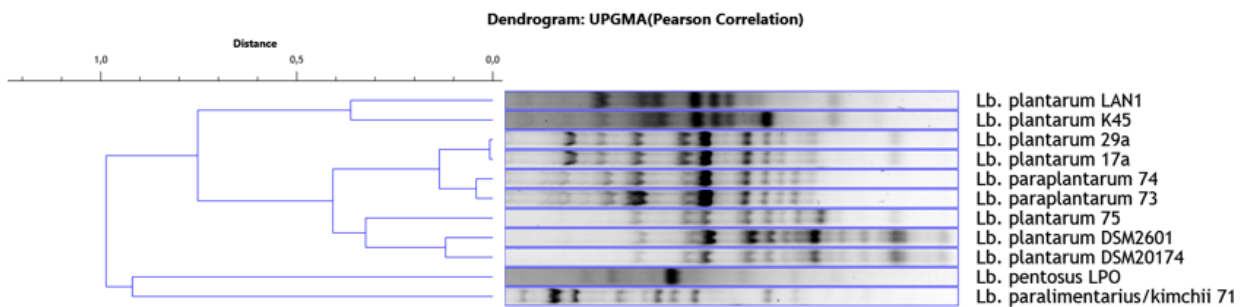


Figure 18 : Dendrogramme des profils (GTG)₅ d'isolats et souches du genre *Lactobacillus*

Les différences de profil génétique entre nos isolats *Lb. plantarum* et les souches commerciales *Lb. plantarum* peuvent s'expliquer à première vue par une origine différente.

Les souches de référence DSM 2601 et DSM 20174 ainsi que l'isolat 75 ont montré des profils très ressemblants. Il est intéressant de noter que ces trois souches ont été isolées de chou mariné ou d'achards. Cependant des profils similaires n'impliquent pas forcément des origines similaires. Les isolats 17a et 29a ont montré exactement le même profil génétique et pourtant, ils ont été isolés de papaye et de tomate, respectivement. Nos isolats montrent des empreintes génétiques très différentes des souches commerciales, ce qui peut suggérer des métabolismes différents.

Tolérance aux sels biliaires

En comparant les données obtenues pour nos isolats et celles obtenues pour les souches commerciales témoin, plusieurs différences significatives se sont révélées en utilisant le test statistique de Dunnett (**Figure 19**). Les isolats 9a, 77, 5, 6a, 28, 17a, 1, 10a, 73 et les souches de référence DSM 20193, DSM 2601, DSM 15878 et DSM 14295 n'ont montré aucune différence significative comparées aux trois souches K45, LAN1 et LPO et ne sont donc pas représentées sur la Figure 19. Trois de nos isolats ont montré une très bonne tolérance aux sels biliaires, *Lc. pseudomesenteroides* 12b, *W. paramesenteroides* 37 et *Lb. plantarum* 75 ainsi qu'une souche de référence *Lc. citreum* DSM 20188. La tolérance aux sels biliaires de ces quatre souches dans les conditions de notre test est significativement plus élevée que celle des trois souches commerciales K45, LAN1 et LPO. De même, la souche de référence *Lc. pseudomesenteroides* DSM 5625 a montré une meilleure tolérance que les souches LAN1 ($p < 0,01$) et LPO ($p < 0,05$). L'isolat *Lc. lactis* 24 a montré une meilleure tolérance que la souche LAN1 ($p < 0,05$). Cependant, plusieurs de nos isolats ont montré une plus faible tolérance aux sels biliaires comparés à la souche K45 : 17, DSM 20196, 16, 38, 60, 1102001, 21, 64, 59 et 30. Tous ces isolats appartiennent aux espèces *W. cibaria* ou *W. confusa*, excepté l'isolat 60 qui est de l'espèce *Lc. pseudomesenteroides*. Les isolats *W. confusa* 38, 16, DSM20196 et 17 se sont révélées moins tolérants que la souche LPO. Et seul l'isolat 17 a montré une plus faible tolérance comparée à la souche LAN1.

Ces résultats se révèlent intéressants pour les isolats 12b, 37 et 75 qui ont montré une meilleure tolérance aux sels biliaires que les souches commerciales et en particulier LAN1, appliquée en tant que probiotique animal. Ces trois isolats couvrent les trois types de végétaux utilisés pour l'isolement (tomate, papaye et achard, respectivement). En effet, plusieurs études ont qualifié les fruits et les légumes comme étant d'excellentes matrices pour les souches probiotiques, apportant des éléments essentiels à leur croissance (minéraux, vitamines,

glucides) [129,130]. Ces résultats suggèrent que la surface des fruits et des légumes peut être une source considérable de souches potentiellement probiotiques, possédant des propriétés nettement plus intéressantes que celles des souches déjà commercialisées.

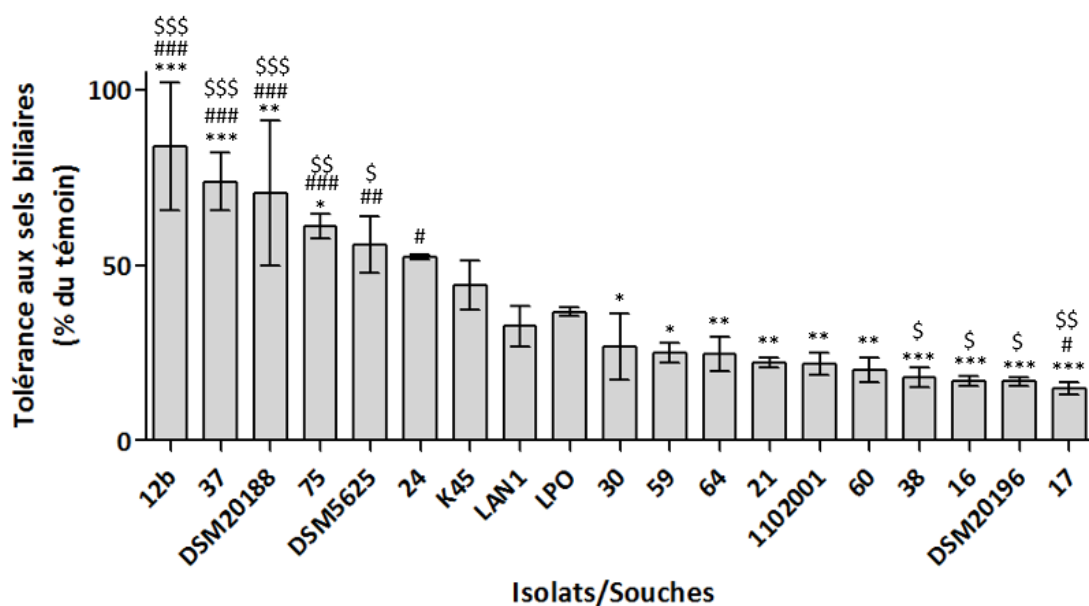


Figure 19 : Tolérance aux sels biliaires (0,1 %) des bactéries lactiques isolées de papaye, de tomate et d’achards de la Réunion en comparaison à des souches commerciales de *Lactobacillus*.

Test comparatif de Dunnett : * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 en comparaison à *Lb. plantarum* K45 ; # p < 0,05 ; ## p < 0,01 ; ### p < 0,001 en comparaison à *Lb. plantarum* LAN1 ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 ; \$\$\$ p < 0,001 en comparaison à *Lb. pentosus* LPO.

En reprenant toutes les caractéristiques étudiées (croissance à différentes températures, production d’EPS, croissance en conditions acide, osmotique et oxydative, tolérance aux sels biliaires), nous avons classés les isolats les plus performants et remarquables dans le **Tableau 5**. Quatre isolats se distinguent nettement des autres et possèdent plusieurs propriétés intéressantes pour la fermentation de fruits et de légumes : *W. cibaria* 30 et 64, *Lc. pseudomesenteroides* 60 et *Lb. plantarum* 75. L’isolat 12b constitue un profil intéressant pour son application en tant que probiotique. Cependant, d’autres isolats montrent quand même des propriétés intéressantes, comme les isolats 59, 17a, 73, 9a, 77, 21, 58. A ce stade, il est donc très difficile de faire un choix pour la suite de l’étude.

Tableau 5 : Récapitulatif des isolats les plus performants aux différentes conditions testées

Caractéristique	<i>W. cibaria</i>	<i>W. confusa</i>	Autre <i>Weissella</i> sp.	<i>Lc. pseudom</i>	<i>Lc. mes</i>	<i>Lc. citreum</i>	Autre <i>Lc</i>	<i>Lb. plantarum</i>	Autre <i>Lb</i>	<i>Fb</i>
Rendement de croissance	64, 30, 21	17, 59						75	73	
μ_{max} 30°C	64, 30	17, 59		60, 79				17a		
Production EPS										
Croissance pH 3				12b, 39		9a		75		
Croissance pH 4,5	64, 30, 21, 10a							17a	73	
Croissance NaCl 5%	64, 30	38, 16, 17	58	60				17a, 75	73	
Croissance NaCl 8%	64, 30	38, 59	58	60				17a, 75		
Croissance H ₂ O ₂ 0,05%	64, 30, 21			60		9a				77
Croissance H ₂ O ₂ 0,1%	64, 30			60						77
Sels biliaires 0,1%			37	12b		9a	24	75		
T° min <10°C	64, 30	38	58	56, 79, 12b, 78	6a, 5	9a	2, 24	75	73	
T° max > 45°C	64, 10a	16, 17		60				75	73	

Les cases orange indiquent les isolats producteurs d'EPS. Les cases grises indiquent l'absence d'isolats avec une propriété remarquable. Chaque isolat est représenté par une couleur différente. Les isolats représentés en gras et soulignés font partie des 10 % les plus performants. Les autres isolats font partie des 25 % les plus performants.

Discussion et perspectives

Lors de cette première étude, 77 bactéries lactiques ont été isolées de papaye, de tomate et d'achards de la Réunion. Nous avons obtenu une majorité d'isolats appartenant aux genres *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Weissella* ainsi que quelques isolats du genre *Lactobacillus* et un isolat de *Fructobacillus tropaeoli*. Les objectifs de cette première étude étaient de caractériser la flore bactérienne lactique présente à la surface de certains fruits et légumes de la Réunion, en ciblant des espèces encore peu connues et de déterminer quelques caractéristiques technologiques de potentiels starters pour la fermentation de fruits et de légumes.

Notre étude n'est pas représentative de la flore bactérienne lactique de l'ensemble des fruits et légumes de la Réunion, mais nous avons observé cependant, une grande diversité d'espèces pour un petit nombre d'échantillons. Cette diversité pourrait être la conséquence d'un mécanisme d'adaptation à notre niche écologique, ce qui expliquerait la grande diversité de profil génétique et phénotypique observée. Phylogénétiquement, les bactéries lactiques sont facilement classées. Elles colonisent cependant une grande diversité d'écosystèmes, incluant les fruits et légumes fermentés, le lait, le vin, les produits carnés et le tube digestif de l'Homme. Cette capacité à coloniser différents types de niches écologiques est certainement due à leur grande capacité d'adaptation et à leur évolution génétique. Ainsi, des gènes spécifiques aux niches écologiques laitière et intestinale ont été caractérisés chez deux souches de *Lb. helveticus* et *Lb. acidophilus*, isolées de fromage et de fèces d'enfants, respectivement [131]. Certains de nos isolats ont montré un certain nombre de propriétés intéressantes, voire plus intéressantes que celles de souches déjà commercialisées. Génétiquement, nos isolats sont également très différents des souches commerciales utilisées dans cette étude. Suite à cette grande diversité observée, nous pensons que la flore bactérienne lactique de surface des fruits et des légumes, étant très peu étudiée, peut constituer le réservoir d'une grande diversité, incluant des isolats à forte potentialité d'application technologique. Cependant, des études comparatives génomiques sont essentielles pour confirmer cette hypothèse.

Afin d'avoir l'assurance d'étudier des phénotypes différents, nous avons choisi de sélectionner des isolats aux profils génétiques différents pour la suite de l'étude. Nous avons ciblé plus particulièrement les isolats appartenant aux genres *Leuconostoc*, *Weissella* et *Fructobacillus*, car certaines espèces de ces genres sont encore peu étudiées. Certaines espèces du genre *Lactobacillus*, plus particulièrement *Lb. plantarum*, sont reconnues sûres pour l'être humain car elles sont utilisées depuis des siècles dans la production d'aliments

fermentés. Elles font également partie des bactéries lactiques les plus tolérantes aux stress. Nous avons donc conservé nos isolats *Lactobacillus* pour pouvoir les comparer aux autres isolats et à des souches commerciales de *Lactobacillus*. Parmi nos isolats, seuls les isolats des espèces *W. cibaria*, *W. confusa* et *Leuconostoc* étaient producteurs d'exo-polysaccharides dans les conditions testées. Notre étude a mis en évidence une bonne performance des isolats *W. cibaria* 64, 30, *Lc. pseudomesenteroides* 60 et *Lb. plantarum* 75 pour la fermentation de fruits et de légumes. D'autres isolats de l'espèce *W. cibaria* ont montré quelques caractéristiques intéressantes, comme les isolats 21 et 10a. L'espèce *W. cibaria* a été décrite pour la première fois en 2002 [132]. Elle est capable de s'adapter à plusieurs niches écologiques, telles que les produits fermentés (fruit, légumes, lait, poissons, viandes, céréales) l'environnement et la surface des fruits et des légumes. Son utilisation en tant que starter pour la fermentation des fruits et des légumes est controversée car elle a déjà été isolée de prélèvements cliniques. Nos résultats montrent cependant, que cette espèce possède un certain nombre de caractéristiques intéressantes pour son utilisation en tant que starter pour la fermentation de fruits et de légumes (fort taux de croissance, tolérance aux stress acide, osmotique et oxydatif, croissance à basse température). Les isolats *Fb. tropaeoli* 77 et *Lc. pseudomesenteroides* 60 ont montré une très bonne tolérance au stress oxydatif. L'espèce *Fb. tropaeoli* ayant été décrite en 2011 [133] est encore très peu connue. Le genre *Fructobacillus* diffère du genre *Leuconostoc* à cause de sa préférence pour le fructose comme source de carbone au lieu du glucose. Les isolats *Lc. pseudomesenteroides* 12b, *W. paramesenteroides* 37 et *Lb. plantarum* 75 ont montré une très bonne tolérance aux sels biliaires et sont donc potentiellement applicables en tant que probiotiques. Cependant, plusieurs autres critères entrent dans la sélection de probiotiques, comme la capacité à adhérer aux cellules intestinales.

Dans l'ensemble, en se basant uniquement sur des critères génétiques et phénotypiques, plusieurs isolats se distinguent clairement des autres par leurs propriétés intéressantes pour la fermentation des fruits et des légumes. Cependant, il reste encore impossible à ce stade d'éliminer les autres isolats qui ont montré certaines caractéristiques (isolats 59, 73, 17a, 9a) intéressantes. Ainsi, la recherche d'autres propriétés, comme la capacité à augmenter les propriétés antioxydantes et à apporter des caractéristiques organoleptiques intéressantes est indispensable pour l'élaboration d'un produit fermenté à base de fruits et/ou de légumes à haute valeur nutritionnelle.

CHAPITRE II
Augmentation de l'activité antioxydante de
préparations/boissons végétales par
fermentation lactique

Introduction

La fermentation lactique des fruits et des légumes est reconnue pour sa capacité à préserver et/ou augmenter les propriétés sanitaires, organoleptiques et nutritionnelles. C'est une voie de transformation permettant d'augmenter la durée de conservation des fruits et des légumes tout en apportant des propriétés fonctionnelles, grâce au métabolisme des bactéries lactiques.

A la Réunion, le secteur de transformation de fruits et de légumes produits localement est encore restreint. En effet, 95 % des fruits et légumes transformés consommés à la Réunion sont des produits d'importation. Les produits transformés localement sont des conserves (tomate transformée, achards, pâte de piments), des confitures et marmelades, des jus pasteurisés et récemment des produits de 4^{ème} gamme [134]. Les produits de 4^{ème} gamme sont des produits frais, lavés, épluchés et découpés prêts à l'emploi généralement conditionnés en sachets plastiques. Contrairement à d'autres régions du monde (Chine, Afrique, Inde), les boissons fermentées lactiques à base de fruits ne font pas partie de l'alimentation traditionnelle réunionnaise. On retrouve cependant quelques produits sur les marchés réunionnais, comme le kombucha, le kéfir et la limonade indienne (Hindu lemonade). Elargir le secteur de transformation des fruits et des légumes est un enjeu économique considérable pour la Réunion, d'une part pour diversifier le panel de produits commercialisés sur le marché et d'autre part de limiter les pertes de production, surtout pour les fruits saisonniers, comme la mangue.

D'autre part, la population réunionnaise est fortement touchée par le diabète et l'obésité, deux troubles métaboliques liés à une condition de stress oxydant. Les fruits et les légumes de par leur composition diversifiée en nutriments essentiels (minéraux, fibres alimentaires) et en antioxydant (vitamines, caroténoïdes, composés phénoliques) sont fortement recommandés pour lutter contre ces maladies métaboliques.

Les enjeux de cette étude sont doubles :

- Proposer aux consommateurs de nouveaux goûts dans la vision d'étendre le secteur de la transformation de fruits et/ou de légumes à la Réunion
- Concevoir des produits fermentés riches en fruits et ou légumes aux propriétés nutritionnelles améliorées, qui participeraient à la baisse de l'incidence du diabète et de l'obésité à la Réunion

La recherche de telles fonctions a animé ce projet de recherche et nous a motivé à concevoir un produit fermenté à base de fruits tropicaux aux propriétés nutritionnelles améliorées. La conception d'un produit alimentaire implique plusieurs étapes : conditionnement, étiquetage, durée de vie, rédaction des cahiers des charges et la conception de fiches techniques. Pour un produit fermenté, la première étape est la sélection de starter, cette étape est indispensable au conditionnement du produit. L'utilisation de starters est une voie plus sûre que la fermentation spontanée et apporte l'ensemble des propriétés finales désirées. Les starters autochtones, c'est-à-dire isolés de la même matrice que celle utilisée pour la fermentation, seraient préférables pour conduire une fermentation lactique, car les bactéries sont a priori mieux adaptées à la niche écologique.

Suite à la première partie de l'étude, nous avons à disposition plusieurs souches de bactéries lactiques isolées de papaye, de tomate ou d'achards. Nous avons choisi trois fruits tropicaux emblématiques de la Réunion pour la fermentation : l'ananas, la papaye et la mangue, qui diffèrent par leurs propriétés organoleptiques mais aussi par leur composition en nutriments et en molécules antioxydantes (**Tableaux 6 et 7**). L'ananas est un fruit riche en acides phénoliques (acide gallique, acide férulique, acide caféique, acide ρ -coumarique), en dérivés glycosidiques, en minéraux et en vitamine C [135]. La papaye est très riche en acides hydroxycinnamiques (acide férulique, acide ρ -coumarique, acide caféique), en caroténoïdes (lycopène, β -cryptoxanthine, β -carotène), en minéraux et en vitamine C [136]. La mangue est très riche en composés phénoliques (gallotanins et mangiférine), en vitamine C et en caroténoïdes [137]. Nous avons également inclus des infusions de thé vert et de thé noir dans cette étude. Le thé est une boisson riche en flavonoïdes (catéchine, épicatechine) et en tanins (théaflavine, théarubigine) et peut être impliquée dans la lutte contre les troubles métaboliques [138,139]. Le thé fermenté est déjà consommé sous forme de Kombucha, issu d'une fermentation qui implique des champignons et des bactéries acétiques. L'augmentation de l'activité antioxydante lors de la fermentation du thé a déjà été mise en évidence [89]. Cette étude a permis également de tester la capacité de nos isolats à moduler l'activité antioxydante de thés tout en apportant des qualités organoleptiques acceptables.

Nous avons donc recherché dans notre collection d'isolats autochtones, des bactéries lactiques capables de fermenter et d'augmenter les propriétés antioxydantes de préparations végétales à base d'ananas, de mangue, de papaye ou de thés, en fabriquant un produit qui plaise aux consommateurs du point de vue sensoriel.

Tableau 6 : Composition en nutriments de l'ananas, la papaye, la mangue et d'infusions de thé [140,141]

		Fruits			Boissons	
		Ananas	Papaye	Mangue	Thé vert	Thé noir
g/100g ou g/100mL	Carbohydrates	13,12	10,2	14,98	nd	2,5
g/100g	Fibres	1,4	1,7	1,6	nd	nd
Macro-nutriments	Vitamine C	47,8	60,9	36,4	nd	nd
mg/100g ou mg/100mL	Phosphore	8	10	14	nd	nd
	Potassium	109	182	168	nd	nd
	Magnésium	12	21	10	nd	nd
	Sodium	1	8	1	nd	nd
	Calcium	13	20	11	nd	nd
Micro-nutriments	Vitamine A	3	47	54	nd	nd
µg/100g	Fer	290	250	160	nd	nd
	Selenium	0,1	0,6	0,6	nd	nd
	Cuivre	110	40	110	nd	nd
	Manganèse	930	40	60	nd	nd
	Zinc	120	80	90	nd	nd
Caroténoïdes						
µg β-carotène équivalent/100g		52,6	1573,4	572,6	nd	nd
Composés phénoliques (Teneur)						
Fruit: mg acide gallique équivalent/100g		33	41,3	41,1	5,067	3,529
Boissons: g/L						
pH		3,5	4,36	3,6	5,39	4,97

Tableau 7 : Composés phénoliques et acides organiques présents dans l'ananas, la papaye, la mangue et les infusions de thé [137,141–144]

	Fruits			Boissons	
	Ananas	Papaye	Mangue	Thé vert	Thé noir
Composés phénoliques	Acide <i>p</i> -coumarique Acide férulique Acide caféique Acide hydroxyférulique-rhamnoside Acide sinapique-hexoside	Acide <i>p</i> -coumarique Acide férulique Acide caféique Rutine	Mangiférine Gallotanins Acide chlorogénique Acide gallique Acide vanillique Acide protocatéchuique Acide gallique-hexoside	(+)Catéchine (-)Epigallocatechine (-)Epicatechine (-)Epigallocatechine gallate	Théaflavine Théarubigine Epicatechine digallate
Acides organiques	Acide citrique Acide malique Acide oxalique Acide quinique Acide succinique	Acide oxalique Acide citrique Acide tartrique Acide malique Acide quinique Acide succinique Acide fumarique	Acide citrique Acide malique Acide tartrique Acide oxalique	Acide citrique Acide fluorique Acide quinique Acide oxalique Acide malique Acide aspartique Acide glutamique	Acide fluorique Acide glutamique Acide citrique Acide quinique Acide aspartique Acide oxalique Acide malique

Résultats

Les résultats de cette étude sont décrits dans un article publié dans le journal *Microorganisms*, intitulé **Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas**.

Fessard A., Kapoor A., Patche J., Assemat S., Hoarau M., Bourdon E., Bahorun T., Remize F., Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas. *Microorganisms* 2017, 5(2), 23; doi: 10.3390/microorganisms5020023

Article 2 : *Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas*



Article

Lactic Fermentation as an Efficient Tool to Enhance the Antioxidant Activity of Tropical Fruit Juices and Teas

Amandine Fessard ¹, Ashish Kapoor ¹, Jessica Patche ², Sophie Assemat ¹, Mathilde Hoarau ¹, Emmanuel Bourdon ², Theeshan Bahorun ³ and Fabienne Remize ^{1,*}

¹ UMR C-95 QualiSud, Université de La Réunion, CIRAD, Université Montpellier, Montpellier SupAgro, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, ESIROI, 2 rue Wetzell, 97490 Sainte Clotilde, France; amandine.fessard@univ-reunion.fr (A.F.); 113ft0556@nitrkl.ac.in (A.K.); sophie.assemat@cirad.fr (S.A.); mathilde.hoarau@cirad.fr (M.H.)

² Université de La Réunion, INSERM, UMR 1188, Diabète athérombose Thérapies Réunion Océan Indien (DéTROI), plateforme CYROI, 97490 SaintDenis de La Réunion, France; jessica.patche@univ-reunion.fr (J.P.); emmanuel.bourdon@univ-reunion.fr (E.B.)

³ ANDI Centre of Excellence for Biomedical and Biomaterials Research, MSIRI Building, University of Mauritius, 80837 Réduit, Mauritius; tbahorun@uom.ac.mu

* Correspondence: fabienne.remize@univ-reunion.fr; Tel.: +26-269-220-0785

Academic Editors: Régine Talon and Monique Zagorec

Received: 29 March 2017; Accepted: 3 May 2017; Published: 10 May 2017

Abstract: Tropical fruits like pineapple, papaya, mango, and beverages such as green or black teas, represent an underestimated source of antioxidants that could exert health-promoting properties. Most food processing technologies applied to fruit beverages or teas result in an impairment of inherent nutritional properties. Conversely, we hypothesise that lactic acid fermentation may constitute a promising route to maintain and even improve the nutritional qualities of processed fruits. Using specific growth media, lactic acid bacteria were selected from the fruit phyllosphere diversity and fruit juice, with the latter undergoing acidification kinetics analyses and characterised for exopolysaccharide production. Strains able to ferment tropical fruit juices or teas into pleasant beverages, within a short time, were of particular interest. Strains *Weissella cibaria* 64 and *Leuconostoc mesenteroides* 12b, able to increase antioxidant activity, were specifically studied as potential starters for lactic fermented pineapple juice.

Keywords: lactic acid fermentation; fruits; pineapple; tea; antioxidant

1. Introduction

One of the objectives of food research is to investigate new food products that promote health. During the last decade, consumers have increasingly believed that food contributes directly and effectively to health promotion. In this context it has been widely suggested that high intake of fruits and vegetables, nutrient-rich plants and antioxidant-rich beverages like tea and coffee may reduce the risk of degenerative and oxidative-stress related diseases [1,2]. Fresh fruit and vegetables are, however, rapidly perishable; thus the interest for processing which guarantees their safety for consumption. Nevertheless, food processing can trigger undesirable chemical and physical changes [3]. For instance, it has been reported that vitamins and natural antioxidants are rapidly degraded during thermal processing techniques like blanching, cooking, pasteurisation or sterilisation [4], leading to a decrease in antioxidant activity. Significant loss in the vitamin C and flavonoid contents was observed after blanching, air drying, water immersion or boiling of green leafy vegetables, celery and onion

bulbs [5,6]. The food industry has thus increasingly considered new alternatives in order to preserve the nutritional and antioxidant properties of foods during food processing.

Lactic acid fermentation is one of the oldest ways of food processing and preservation, liable to keep or increase the safety, nutritional, sensory and shelf-life properties of foods. Lactic acid bacteria (LAB) are a group of gram-positive bacteria, producing lactic acid as the main product of carbohydrate fermentation. During fermentation, LAB produce substances such as bacteriocins, exo-polysaccharides (EPS), aroma compounds, enzymes, B vitamins (mainly folate, riboflavin, cobalamin) or low-calorie polyols (mannitol, sorbitol), which enhance the safety, nutritional quality, sensory properties or antioxidant activities of food [7]. In this vein, *Kimchi*, a traditional fermented mix of vegetables and *Kombucha*, a fermented tea beverage, were associated with antimutagenic, antioxidative, antiaging, cholesterol-lowering activities and prevention against cancer and cardiovascular diseases [8,9]. Several studies have also investigated the ability of lactic acid fermentation to improve the antioxidant properties of fruits and vegetables [10–13]. An improved preservation of ascorbic acid, glutathione, phenolic compounds and antioxidant activity was observed following lactic acid fermentation of smoothies and tomato juice with *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* or *Weissella cibaria* [10,14]. Lactic acid fermentation started with *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *P. pentosaceus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium breve* and *B. thermophilum* increases Vitamin C concentration, phenolic content and antioxidant activity of carrots, French beans, marrows, black beans, pomegranate juice, soy milk and cowpeas [11,15–18]. Enhancement of antioxidant propensity during fermentation is mainly ascribed to the release of bioactive compounds by LAB [12]. It was reported that LAB were able to increase the antioxidant activity of tea extracts as a result of the modification of tea phenolics [19]. Lactic acid fermentation is thus a promising alternative to expand the range of utilisation of processed foods, while concurrently maintaining and/or boosting nutritional benefits.

In this study, we aimed to develop an attractive fermented beverage through the action of autochthonous lactic acid bacteria isolated from fruit and vegetables grown in Réunion Island. Tropical fruits like pineapple, papaya and mango, together with antioxidant-rich beverages like green and black teas, were chosen as substrates for lactic acid fermentation. The selected raw materials characterised by varying phytochemical composition, more particularly phenolic compounds, were subjected to lactic acid fermentation with the view to identifying pairs of lactic acid bacteria strains and raw material that result in fermented beverages which are technologically feasible, characterised by a pleasant sensory and endowed with increased antioxidant activity.

2. Materials and Methods

2.1. Bacterial Strain and Culture Media

A total of 28 lactic acid bacteria, isolated from tomatoes (*Lycopersicon esculantum*), papaya (*Carica papaya*) and sliced cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) grown on Réunion Island, were studied to produce a fermented beverage [20]. Isolates were stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. These LAB strains were identified by 16S-rRNA, *pheS* and *recA* gene sequencing. *Lc. citreum* DSM20188, *W. confusa* DSM20196, *W. cibaria* DSM14295, *Lc. pseudomesenteroides* DSM20193 and DSM5625, *Lb. plantarum* DSM2601 were used as reference strains. LAB were grown on MRS (Man Rogosa Sharpe) agar at $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 72 h. For strain reactivation, one or two colonies or a loop of $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ stock were suspended in 9 mL of MRS broth and incubated at $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 48 h. Thereafter, cultures were homogenised by vortex and 0.2 mL of this suspension was used to inoculate 9 mL of MRS broth. Cell population was estimated by measuring absorbance at 660 nm wavelength.

DNA extraction was performed by using Instagen protocol (Instagen Matrix, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France). *Leuconostoc* and *Weissella* spp. were identified by 16S-rRNA and *pheS* gene sequencing while *Lactobacillus* spp. was identified by *recA* gene sequencing. 16S rRNA gene sequencing was performed using FD1m and RD1m primers as previously described [20]. The amplification of *pheS* gene was performed according to Naser et al., (2005) and Rubio et al.,

(2014) [21,22] with some modifications. Primers pheS-21-F (5'-CAYCCNGCHCGYGAYATGC-3') and pheS-23-R (5'-GGRTGRACCATVCCNGCHCC-3') were used. The reaction mixture contained buffer 1×, 0.2 mmol·L⁻¹ dNTP, 0.5 μmol·L⁻¹ each primer, 1.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂ and 0.04 U·μL⁻¹ *Taq* polymerase (Thermo Fisher Scientific, Villebon, France). The PCR reaction was performed in a 45 μL volume with 10 μL of DNA solution. The thermal program consisted of 5 min at 95 °C; 35 cycles of 1 min at 95 °C, 30 s at 56 °C, 1 min 15 s at 72 °C; 7 min at 72 °C. In order to differentiate *Lb. plantarum/paraplantarum/pentosus*, *recA* gene sequencing was performed according to Torriani et al., (2001) [23]. Multiplex PCR was performed using primers PlanF (5'-CCGTTTATGCGGAACACCTA-3'), ParaF (5'-GTCACAGGCATTACGAAAAC-3'), PentF (5'-CAGTGGCGCGTTGATATC) and PREV (5'-TCGGGATTACCAAACATAAC-3'). The reaction mixture contained buffer 1×, 1.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 0.25 μmol·L⁻¹ ParaF, PentF and PREV, 0.12 μmol·L⁻¹ PlanF, 12 μmol·L⁻¹ dNTP and 0.025 U·μL⁻¹ *Taq* polymerase. The thermal program consisted of 3 min at 94 °C; 30 cycles of 30 s at 94 °C, 10 s at 56 °C, 30 s at 72 °C; 5 min at 72 °C. The products of positive PCRs (a 318 bp amplicon for *Lb. plantarum* spp. or a 107 pb amplicon for *Lb. paraplantarum* spp.) were purified with a GelElute Extraction kit (5Prime, Duscher SA, Brumath, France).

PCR products were sequenced by the Sanger method with FD1m, pheS-21F, PlanF and ParaF primers as previously described [20].

2.2. EPS Production

EPS production was determined using MRS sucrose (40 g·L⁻¹) agar as previously described [20].

2.3. Kinetics of Acidification

Kinetics of acidification was performed as previously described using MRS broth as culture media [20]. Each culture was performed in triplicate. Parameters of acidification lag time, pH_{min}, V_M, t_M, pH_M were determined from dpH/dt = f(t) curves as previously described. Lag time (λ) was the time corresponding to an initial pH variation of less than 0.1. Minimal pH (pH_{min}) was the final constant pH value. Maximum acidification rate (V_M), time to reach the maximum acidification rate without the lag phase (t_M), and pH at maximal acidification rate (pH_M) were determined from dpH/dt = f(t) curves.

2.4. Growth in Apple Juice

Growth in apple juice was performed in sterile 96-well microplates. LAB were grown for 48 h at 30 °C in 9 mL MRS broth. Bacterial suspension was centrifuged at 8000× g for 5 min. The supernatant was removed and the cell pellet was washed twice with sterile distilled water and re-suspended in 9 mL of water. Then, 20 μL of this bacterial suspension were inoculated in 180 μL of clarified apple juice (Carrefour, Sainte Clotilde, France). This juice contained 19.4 g·L⁻¹ glucose, 63.1 g·L⁻¹ fructose and 9.7 g·L⁻¹ sucrose. The control medium corresponds to apple juice plus 20 μL of distilled water. Microplates were incubated at 30 °C for 96 h. OD at 660 nm was measured every 2 h (Infinite M200 Pro, Tecan, Lyon, France). Results were expressed as log (OD₉₆/OD₀). Apple juice culture was performed in triplicate for each strain.

2.5. Preparation of Substrate

Commercial pineapple juice was used directly for all experiments. Pineapple juice contained 41.1 g·L⁻¹ glucose, 41.8 g·L⁻¹ fructose and 42.1 g·L⁻¹ sucrose. Papayas or mangoes were washed and peeled. The seeds or stones were removed and mixed in order to obtain a purée. The latter was pasteurised for 5 min at 75 °C using a water bath with temperature monitoring and cooled to room temperature before fermentation. For the tea infusion, sugar cane syrup was added to distilled water in order to reach 10% sucrose concentration. One tea bag was infused for 5 min in 250 mL of boiling sweetened water and the infusion was cooled at room temperature before fermentation.

2.6. Fermentation

LAB strains were reactivated for 48 h at 30 °C in 9 mL of MRS broth. Then, 48 h reactivated cultures were used to inoculate 50 mL pre-culture of MRS broth with an initial optical density at 660 nm of 0.05. Pre-cultures were incubated at 30 °C for 48 h. After centrifugation at 8000× *g* for 5 min, the cell pellet was washed twice with sterile distilled water and re-suspended in 20 mL of sterile water in order to have a concentrated cell culture. Optical density at 660 nm was measured and volume of inoculation was calculated in order to have an initial OD of 0.05. With the appropriate volume, 40 mL of pineapple juice or green tea or black tea or 40 g of papaya or mango purée were inoculated with the concentrated culture. Substrates were incubated at 30 °C without agitation. Thereafter, fermented products were incubated at −20 °C for 15 min to stop the fermentation. Fermentation was performed in triplicate for each strain.

2.7. Qualitative Sensory Analysis and Determination of Fermentation Optimal Time

In order to determine optimal time for fermentation and select a reduced number of potential starters, pineapple juice was subjected to fermentation at 30 °C for two days or four days with each of the 35 strains and placed at 4 °C for 24 h before sensory analysis. A qualitative sensory analysis was carried out by five non-trained people. Substrates were scored from “excellent” to “unsatisfactory” for colour, aroma, appearance and uniformity. Strains were scored as (++) if global sensory analysis was excellent, (+) for a good global sensory analysis and (−) for an unsatisfactory global sensory analysis.

2.8. Shelf-Life Determination

After 48 h of fermentation, control juice and started pineapple juice with *W. cibaria* 64 and *Lc. pseudomesenteroides* 12b were placed at 4 °C for 16 days. After inoculation, following fermentation or periodically over storage, 1 mL of non-started and started juices were suspended into 9 mL sterile peptone water solution and homogenised. Lactic acid bacteria population was determined on MRS agar at 30 °C for 48–72 h. Yeast counts were determined on glucose chloramphenicol agar at 25 °C for 5 days. Total mesophilic bacteria counts were determined on nutritive agar at 30 °C for 72 h. Enterobacteria population was calculated from colonies observation on VRBG agar after 48 h at 37 °C. The pH, sugar concentration and antioxidant activity were also monitored during the same period.

2.9. Sugar Content Determination

The Miller method was used to determine reducing sugar concentration [24], with glucose as standard. Sugar concentration (sucrose, glucose and fructose) were also analysed by HPLC (UltiMate 3000 system 6-1, Dionex, Thermo Fisher Scientific, Villebon, France) with a refractometry detector. For the HPLC column, milliQ water was used as the mobile phase and injection volume was 20 µL. The analysis was performed isocratically at 0.6 mL·min^{−1} flow rate at 80 °C with a Ca USP L19 (250 × 4.0 mm) column (Hi-Plex, Agilent Technologies, Les Ulis, France). Calibration curves were prepared from sucrose, glucose and fructose standards and were used for the quantification. The concentration range for each standard was 0.5 g·L^{−1} to 0.03125 g·L^{−1}. The correlation coefficient *r*² for the calibration curves were 0.9987, 0.9993 and 0.9860 for sucrose, glucose and fructose, respectively. Pineapple and apple juice were 100-fold diluted for HPLC analysis.

2.10. Sensory Analysis

Sensory profile was carried out by a panel of nine trained members. After fermentation, non-started pineapple juice and fermented juice started with the strains *W. cibaria* 64 or *Lc. pseudomesenteroides* 12b were refrigerated, encoded with three-digit random numbers and served (20 mL). Products were served anonymously with randomisation, and the analysis was performed in triplicate. Control and fermented juices were scored from 0 to 10 for colour, odour, texture, flavour, taste and general quality. The sensory attributes used for this study were: yellow, green, and orange

for the colour; pineapple, soft, acid, fermented, fruity, yoghurt and sweet for the odour; smoothness, fluidity, watery and syrupy for texture; acid, sweet, bitter and salt for the flavour; fresh, pineapple, fruity, yoghurt, spicy, astringent, hot, fermented, sweet-sour, and sparkling for the taste.

The fermented juice started with strains *W. cibaria* 64 or *Lc. pseudomesenteroides* 12b were also evaluated by 37 untrained panellists (17–50 years old). The panel was composed of 59.5% women and 40.5% men. Most of the panellists were under 20 years old or 20–30 years old. Most of the panellists are used to drinking pineapple juice at least once per month or not at all (51% and 32%, respectively). The two fermented pineapple juices were placed at 4 °C for two days before hedonic analysis. The samples were identified with random three-digit codes, distributed in portions of 20 mL into transparent cups and served in a randomised order. The panellists were asked to evaluate the overall acceptability, colour, odour, taste, pineapple taste and texture. Scales from 1 (dislike extremely) to 10 (like extremely) were used for overall acceptability, odour and taste. Scales from –2 (very repulsive, too discreet, or too fluid) to 2 (very attractive, too intense or too viscous) were used to evaluate the colour, pineapple taste and texture, respectively.

2.11. Determination of Total Phenolic Content (TPC)

Determination of TPC was performed using the Folin–Ciocalteu method with gallic acid as standard as previously described [20]. Pineapple juice and tea were centrifuged at 8000× *g* for 5 min at 4 °C. The supernatants were collected and stored at –20 °C until use. For papaya and mango purée, phenolic compounds were extracted according to Septembre-Malaterre et al., (2016) [25] with some modifications. Purée (6 g) was mixed to 30 mL of distilled water and incubated at 4 °C for 90 min. Then after, samples were centrifuged at 4000× *g* for 20 min at 4 °C. Results are expressed in grams of gallic acid equivalent (GAE) per litre for pineapple juice, green and black tea. For mango and papaya purée, results were expressed in milligrams of GAE per 100 g of puree.

2.12. 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) Free-Radical Scavenging Activity (RSA)

DPPH radical scavenging activity was performed as previously described [20] with some modifications. Gallic acid and water were used as positive and negative control, respectively. All samples were 10-fold diluted for this assay. Results were expressed in % DPPH according to the formula:

$$\% \text{ of DPPH reduced} = \frac{(\text{OD Control} - \text{OD sample})}{\text{OD Control}} \times 100$$

2.13. Red Blood Cell Haemolysis Assay

Red blood cell haemolysis assay was performed as previously described [20]. Blood samples were obtained from healthy volunteers. Pineapple juices and papaya pulps were 100-fold and 50-fold diluted, respectively. Cell lysis was followed by the decrease of absorbance at 450 nm at 10-min intervals for 16 h at 37 °C (Infinite M200 Pro, Tecan, Lyon, France). Results are expressed as half-time of haemolysis (HT-50), determined from GraphPad Prism 5.01 with a Boltzman sigmoidal nonlinear regression as previously described.

2.14. Low Density Lipoprotein (LDL) Oxidation

Blood samples were obtained from normolipidemic healthy volunteers. Red blood cells and plasma were separated by centrifugation at 2000× *g* for 5 min. For each preparation, at least 30 mL of pooled plasma was used as starting material. Plasma density was adjusted to 1.22 g·mL^{–1} by adding solid KBr. Three millilitres of KBr-loaded plasma was layered in the bottom of a centrifuge tube (Beckman centrifuge, Beckman Coulter, Villepinte, France). The loaded plasma fraction was gently overlaid with five millilitres of a KBr solution (density 1.063 g·mL^{–1}). Finally, the KBr solution was overlaid with one millilitre of milliQ water. LDLs isolation was performed by ultracentrifugation (24 h, 29,000 rpm, 4 °C) in a Beckman Coulter centrifuge equipped with a SW 41 Ti rotor. This step resulted

in five layers from top to bottom: Residual water solution; Low-density lipoprotein fraction (density lower than $1.063 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$); Residual KBr solution; High-density lipoprotein fraction; Residual plasma solution. LDL was gently collected and dialyzed against PBS $1\times$ (pH 7.4). LDLs were assayed for protein concentration by the Bradford method using Bovine Serum Albumin (BSA) as the standard. LDLs were sterile filtered and stored at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in the dark for no longer than 15 days. LDL oxidation was determined by measuring conjugated diene formation at 234 nm, as previously described [20] with some modifications. Final LDL protein concentration in each well was $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Pineapple juices and papaya pulps were 500-fold and 50-fold diluted, respectively. Results are expressed in half-time oxidation (V-50) in min, obtained from GraphPad Prism 5.01 with a Blotzman sigmoidal nonlinear regression, as previously described.

2.15. Statistics

The software XLSTAT (Addinsoft, Paris, France) was used for all statistical analyses. Significant effects of factors were detected with a Fisher test (p -value < 0.0001). Significant differences versus a control or by pairs were tested with Dunnett's and Ryan, Einot, Gabriel, Welch q (REGWQ) tests respectively.

3. Results and Discussion

3.1. EPS Formation and Acidification Kinetics

In this study, a set of strains originating from tropically grown plant phyllosphere and belonging to several species were used. The strains were classified under the genera *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Lactococcus* and *Fructobacillus*. Among those, 13 species were represented. Strains were characterised by determination of EPS production ability and acidification kinetic parameters.

EPS formation was observed for all *Leuconostoc* spp., *W. confusa* and *W. cibaria* strains, with liquid or creamy colony phenotypes depending on the strain (Table 1). These three groups were previously reported as EPS producers [26]. Other *Weissella* species and other genera did not exhibit EPS production under these conditions.

Table 1. Identification, origin and exo-polysaccharide (EPS) phenotype of LAB strains used in the study.

Strain	Species	Origin	Production EPS	Aspect
1	<i>Lc. mesenteroides</i>	Papaya	+	Liquid
2	<i>Lc. citreum</i>	Sliced cabbage	+	Creamy
5	<i>Lc. mesenteroides</i>	Sliced cabbage	+	Liquid
17	<i>W. confusa</i>	Sliced cabbage	ND *	ND *
21	<i>W. cibaria</i>	Sliced cabbage	+	Creamy
24	<i>Lc. lactis</i>	Sliced cabbage	+	Creamy
28	<i>Lc. mesenteroides</i>	Sliced cabbage	+	Creamy
30	<i>W. cibaria</i>	Sliced cabbage	+	Liquid
37	<i>W. paramesenteroides</i>	Papaya	-	-
38	<i>W. confusa</i>	Papaya	+	Creamy
39	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Papaya	+	Liquid
56	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Sliced cabbage	+	Creamy
58	<i>W. soli</i>	Sliced cabbage	-	-
59	<i>W. confusa</i>	Sliced cabbage	+	Liquid
60	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Sliced cabbage	+	Creamy
64	<i>W. cibaria</i>	Sliced cabbage	+	Creamy
73	<i>Lb. paraplantarum</i>	Sliced cabbage	-	-
75	<i>Lb. plantarum</i>	Sliced cabbage	-	-
77	<i>Fb. tropaeoli</i>	Papaya	-	-
78	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Papaya	+	Liquid
79	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Papaya	+	Liquid
89	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Sliced cabbage	+	Creamy
10b	<i>W. cibaria</i>	Tomato	+	Creamy
12b	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Tomato	+	Liquid
17a	<i>Lb. plantarum</i>	Tomato	-	-

Table 1. Cont.

Strain	Species	Origin	Production EPS	Aspect
27b	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Papaya	+	Liquid
6a	<i>Lc. mesenteroides</i>	Papaya	+	Creamy
9a	<i>Lc. citreum</i>	Tomato	+	Creamy
DSM14295	<i>W. cibaria</i>	Kimchi	+	Creamy
DSM20188	<i>Lc. citreum</i>	ND*	+	Creamy
DSM20193	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Sugar cane juice	+	Liquid
DSM20196	<i>W. confusa</i>	Cane sugar	+	Creamy
DSM2601	<i>Lb. plantarum</i>	Pickled cabbage	-	-
DSM5625	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	Commercial starter	+	Creamy

* ND, not determined.

Acidification kinetic parameters were obtained from the curves of pH determination over time in MRS (Table 2). Latency time varied greatly, from 2.5 h for *W. confusa* 17 to 26.1 h for *Lc. pseudomesenteroides* 89. Except for those extreme behaviours, half the latency times were in the range 9–14.7 h. Another parameter that varied greatly was the maximal acidification rate, V_M . Extreme values were 84 mUpH·h⁻¹ for *W. paramesenteroides* 37 and 377 mUpH·h⁻¹ for *W. confusa* DSM20196. Half of the strains exhibited V_M in the range 155 to 220 mUpH·h⁻¹. Lastly, T_M , which is the time required for V_M after latency, exhibited a variation coefficient of 13%. This time was comprised between 2.8 h and 8.8 h, respectively, for *W. confusa* DSM20196 and *Lc. pseudomesenteroides* 12b.

Table 2. Parameters of acidification (mean ± SD).

Strain	Species	Latency (h)	pH min	Vm (mUpH·h ⁻¹)	Tm (h)	pHm
1	<i>Lc. mesenteroides</i>	25.3 ± 7.3	3.9 ± 0.4	205 ± 91	4.5 ± 0.2	5 ± 0.1
2	<i>Lc. citreum</i>	12.0 ± 0.8	4.3 ± 0.2	154 ± 2	4.1 ± 0.5	5.1 ± 0.1
5	<i>Lc. mesenteroides</i>	12.3 ± 5.1	3.7 ± 0.2	218 ± 47	5.4 ± 1.2	4.9 ± 0.2
17	<i>W. confusa</i>	2.5 ± 0.0	4.1 ± 0	211 ± 33	3.6 ± 0.3	5.1 ± 0.2
21	<i>W. cibaria</i>	9.0 ± 3.6	4 ± 0.1	180 ± 38	4.1 ± 0.9	5 ± 0.1
24	<i>Lc. lactis</i>	6.6 ± 3.3	4.1 ± 0.1	170 ± 36	3.3 ± 0.7	5.3 ± 0.2
28	<i>Lc. mesenteroides</i>	17.3 ± 5.3	3.9 ± 0.2	212 ± 68	4.7 ± 0.5	5 ± 0.2
30	<i>W. cibaria</i>	8.4 ± 0.2	4.1 ± 0.1	180 ± 72	4.3 ± 0.1	5 ± 0.2
37	<i>W. paramesenteroides</i>	12.0 ± 3.7	3.9 ± 0.1	84 ± 9	4.8 ± 0.3	5 ± 0
38	<i>W. confusa</i>	16.2 ± 2.0	4.1 ± 0.1	144 ± 25	4.3 ± 0.9	5 ± 0.1
39	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	7.5 ± 3.1	4 ± 0.2	196 ± 63	4.9 ± 1.1	5 ± 0.1
56	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	12.2 ± 4.6	4 ± 0.2	258 ± 44	5 ± 0	5 ± 0
58	<i>W. soli</i>	18.2 ± 4.1	4.3 ± 0.2	128 ± 20	8.6 ± 0.4	5 ± 0.5
59	<i>W. confusa</i>	16.1 ± 2.6	4.3 ± 0.1	126 ± 51	4.8 ± 0.5	5.2 ± 0.1
60	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	14.1 ± 0.6	4 ± 0.1	257 ± 55	3.2 ± 0.6	5 ± 0
64	<i>W. cibaria</i>	10.8 ± 2.0	4 ± 0.2	192 ± 11	3.3 ± 0.2	4.9 ± 0.2
73	<i>Lb. paraplantarum</i>	11.2 ± 1.4	3.8 ± 0.1	234 ± 5	5 ± 0.4	5 ± 0
75	<i>Lb. plantarum</i>	8.8 ± 3.4	3.7 ± 0.1	225 ± 83	4.2 ± 0.5	5.1 ± 0.1
77	<i>Fb. tropaeoli</i>	13.3 ± 6.9	3.7 ± 0.1	263 ± 28	4.9 ± 0.3	5 ± 0
78	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	14.7 ± 0.6	4 ± 0.2	206 ± 48	4.3 ± 0.4	4.9 ± 0.1
79	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	17.8 ± 7.1	4.5 ± 0.4	133 ± 12	4.6 ± 0.6	5.1 ± 0.2
89	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	26.1 ± 7.1	3.8 ± 0.3	165 ± 23	6.1 ± 1.5	4.8 ± 0.1
10b	<i>W. cibaria</i>	9 ± ND*	4.1 ± ND	100 ± ND	6.3 ± ND	5 ± ND
12b	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	8.6 ± 2.7	4 ± 0.3	138 ± 19	8.8 ± 2.8	5 ± 0.2
17a	<i>Lb. plantarum</i>	7.3 ± 4.7	3.6 ± 0.2	237 ± 35	4.6 ± 1.1	5 ± 0.3
27b	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	10 ± 3.9	3.9 ± 0.2	149 ± 13	8.1 ± 1.5	4.9 ± 0.3
6a	<i>Lc. mesenteroides</i>	10.6 ± 5.2	4 ± 0	184 ± 15	4.1 ± 0.8	5.1 ± 0.2
9a	<i>Lc. citreum</i>	16.5 ± 0.7	3.8 ± 0.1	243 ± 40	4.1 ± 0.2	5 ± 0
DSM14295	<i>W. cibaria</i>	10.5 ± 1.4	4 ± 0.1	200 ± 6	3.7 ± 0.6	5.1 ± 0.1
DSM20188	<i>Lc. citreum</i>	10 ± 1.4	4 ± 0.1	184 ± 45	8.1 ± 1.6	5.2 ± 0.1
DSM20193	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	13.1 ± 3	4.1 ± 0.6	221 ± 73	4.1 ± 0.5	5.1 ± 0.1
DSM20196	<i>W. confusa</i>	14.7 ± 3	4 ± 0.1	377 ± 31	2.8 ± 0.5	5 ± 0.1
DSM2601	<i>Lb. plantarum</i>	7.2 ± 1.6	3.6 ± 0	193 ± 52	5.6 ± 0.6	4.8 ± 0
DSM5625	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	10.5 ± 1.9	3.9 ± 0.1	159 ± 36	5.9 ± 0	4.9 ± 0.1

* ND, not determined.

The minimal pH range was narrow, with extreme values of 3.6 and 4.5. The lowest minimal pH was observed for two *Lb. plantarum* strains, 17a and DSM2601, followed by *Lb. plantarum* 75,

Lc. mesenteroides 5 and *Fb. tropaeoli* 77. The highest final acidification pH was observed for *Lc. pseudomesenteroides* 79, followed by *Lc. citreum* 2, *W. confusa* 59 and *W. soli* 58. Dispersion of minimal pH was low with a variation coefficient of 4%. A very low dispersion was also observed for values of pH_M , which is the pH corresponding to the maximal rate of acidification. More than half of strains exhibited a pH_M between 5.0 and 5.1.

A remarkable diversity of behaviour was observed within the group of strains. Acidification kinetic parameters were not related to species or strain origin. This diversity is an opportunity regarding possible application of these strains as starters as it could lead to diverse fermentation profiles. Moreover, a starter preparation requires us to define conditions and duration to obtain strains with a good fitness.

3.2. Growth in Apple Juice

Apple juice was chosen as it was shown to be a substrate which supported growth of *Lactobacillus* spp. strains [27]. Moreover, this substrate resulted in large differences of growth performances within the genus. The growth yield of the 34 strains was determined from turbidity change in apple juice over the 96-hour culture. The growth yield was significantly different from the non-inoculated control, for 19 strains, as assayed by Dunnett's unilateral test (p -value being comprised between 0.05 and <0.0001). Pairwise comparison showed that three strains, *Lc. pseudomesenteroides* 89, *Lc. mesenteroides* 1 and *Lc. mesenteroides* 28 exhibited the highest growth yield. Other strains with significant growth ranked from the highest to the lowest growth yield were *Lc. pseudomesenteroides* 39, *Lc. lactis* 24, *Lc. mesenteroides* 6a, *Lc. pseudomesenteroides* 27b, *W. confusa* 38, *W. confusa* 59, *Lc. pseudomesenteroides* 60, *Lb. plantarum* 17a, *W. cibaria* 21, *Lc. pseudomesenteroides* 56, *Lc. citreum* 2, *Fb. tropaeoli* 77 and *W. paramesenteroides* 37, in addition to three reference strains, *Lc. citreum* DSM20188, *W. confusa* DSM10196 and *W. cibaria* DSM14295 (Figure 1). All the *W. confusa* and the *Lc. mesenteroides* strains were within the 19-strain group, whereas no *Lactobacillus* spp. strain was present in this group. The other 16 strains exhibited a much lower growth yield than the 19-strain group. They were grouped in a narrow range of growth yield close to the first quartile value (Figure 1).

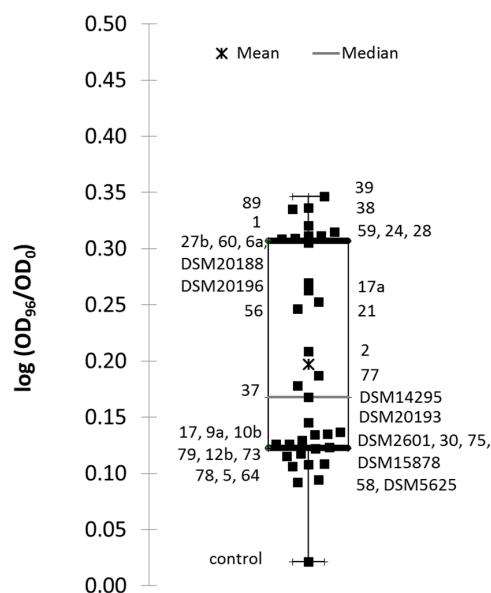


Figure 1. Boxplot of means of growth yield expressed as $\log(OD_{96h}/OD_{0h})$ for strains cultivated into apple juice. Each black square corresponds to the mean growth yield for the indicated strain. Lowest and upper bars correspond to extreme values of yield. The empty box corresponds to second and third quartiles, star to the general mean and line in the box to the median value.

3.3. Starter Selection Based on Hedonic Evaluation

In order to make a selection of starters, each strain was used to start pineapple juice fermentation and hedonic evaluations of fermented juice were performed after two days and four days of fermentation (Table 3). From the results obtained, strains 2, 73, 75, 77, 78, 79, 89, 9a, DSM2601, DSM5625 and DSM20188, were not taken on for further assays. From retained strains, fermentation assays were conducted over two days at 30 °C, then subsequently cooled down before storage. Potential starters were screened for their capacity to increase antioxidant activity of substrate over-fermentation. Fermented products that exhibited off flavours were not included in the antioxidant assay determination.

Table 3. Sensory attributes and optimal time fermentation. (–) not acceptable, (+) acceptable, (++) pleasant odour.

Sensory Properties of Pineapple Juice After Fermentation			
Strain	Species	2 Days	4 Days
5	<i>Lc. mesenteroides</i>	+	+
17	<i>W. confusa</i>	++	++
21	<i>W. cibaria</i>	+	+
37	<i>W. paramesenteroides</i>	++	++
56	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	+	+
58	<i>W. soli</i>	+	++
59	<i>W. confusa</i>	++	++
12b	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	+	+
1	<i>Lc. mesenteroides</i>	+	-
24	<i>Lc. lactis</i>	++	-
28	<i>Lc. mesenteroides</i>	+	-
30	<i>W. cibaria</i>	-	++
38	<i>W. confusa</i>	-	++
39	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	-	+
60	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	-	+
10b	<i>W. cibaria</i>	+	-
17a	<i>Lb. plantarum</i>	-	+
27b	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	-	++
6a	<i>Lc. mesenteroides</i>	++	-
64	<i>W. cibaria</i>	+	+
DSM14295	<i>W. cibaria</i>	-	+
DSM20193	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	-	++
DSM20196	<i>W. confusa</i>	+	+
DSM2601	<i>Lb. plantarum</i>	-	-
2	<i>Lc. citreum</i>	-	-
73	<i>Lb. paraplantarum</i>	-	-
75	<i>Lb. plantarum</i>	-	-
77	<i>Fb. tropaeoli</i>	-	-
78	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	-	-
79	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	-	-
89	<i>Lc. pseudomesenteroides</i>	-	-
9a	<i>Lc. citreum</i>	-	-
DSM20188	<i>Lc. citreum</i>	-	-

3.4. Lactic Fermentation of Black or Green Tea Infusion

Control green and black tea infusions differed by their TPC and antioxidant activity (Figure 2A,B). TPC were 0.63 ± 0.03 and 0.48 ± 0.04 g GAE·L⁻¹ and RSA were $85.9\% \pm 1.7\%$ and $80.7\% \pm 1.7\%$, respectively, for green and for black tea. This is consistent with tea characteristics, as green tea has been reported to have a higher antioxidant potency than black tea [28–31]. TPC may vary by time of infusion, teabag and type of tea [32]. Green and black teas differ in their composition but also in their

manufacturing process. After harvest, leaves for green tea are rapidly processed in order to inactivate enzymes and avoid polyphenol oxidation. On the contrary, black tea leaves are first withered in order to concentrate polyphenols. The withered leaves are fermented and in that process the polyphenols are oxidised [33]. As a consequence, green tea is richer in catechins, the most important ones being (–) epigallocatechin gallate, (–) epicatechin gallate, (+) catechin, (–) epicatechin and (–) epigallocatechin, whereas black tea contains high levels of theaflavins and thearubigins, the resulting oxidised and polymerised forms of catechins [19,34]. For green tea infusions, neither TPC nor RSA was modified by the fermentation process (Figure 2A). A mean total polyphenol content of 0.63 g GAE·L⁻¹ was observed, with a variation coefficient of 20%. RSA ranged between 75.6 and 90.7% whatever the nature of sample, fermented or not. For black tea infusions, RSA was not affected by fermentation with any of the strains and ranged between 63.3 and 90.4% (Figure 2B). Concerning TPC, a significant effect was observed for some fermented product. However, the change corresponded to a decrease of the content. The average value of total polyphenols was 0.45 g GAE·L⁻¹ (Figure 2B). *Lactobacillus* spp. have been shown to increase the antioxidant activity of tea extracts by catabolism of tea phenolics [19]. However, to the best of our knowledge, no study has reported on the lactic acid fermentation of tea infusions by *Weissella* or *Leuconostoc* spp.

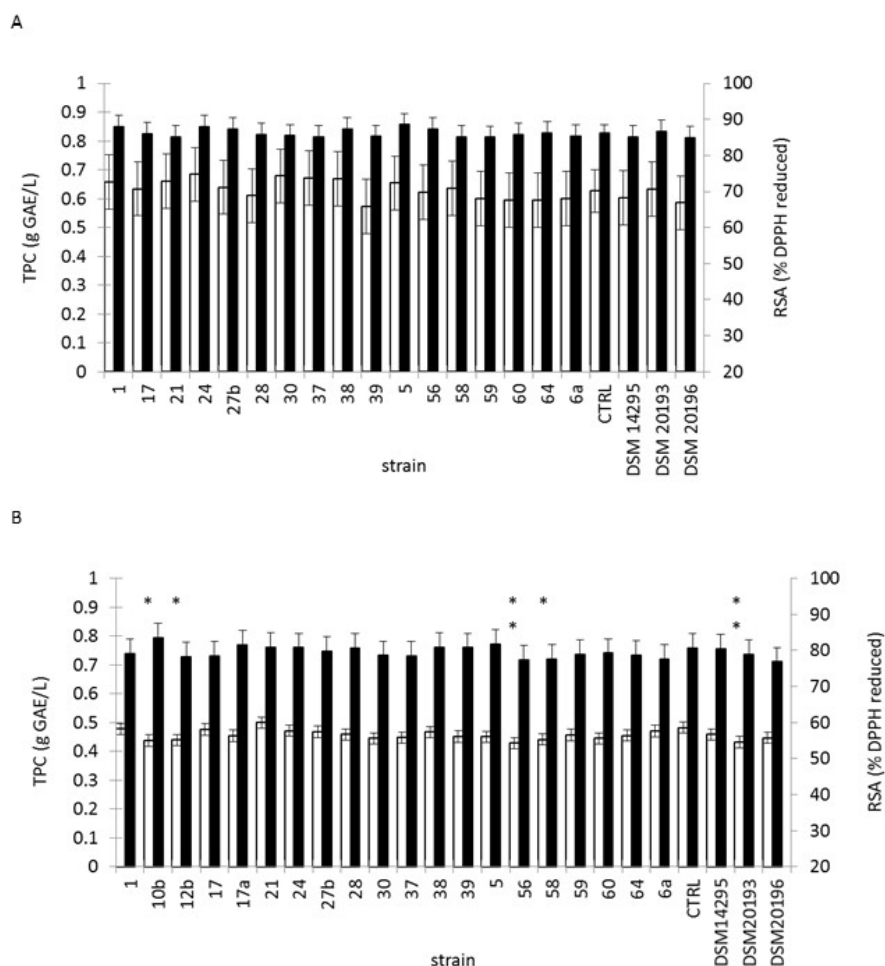


Figure 2. Total phenolic content and radical scavenging activity in tea (a) green tea and (b) black tea. White bar: Total polyphenol content (TPC) of material fermented for 48 h with the indicated starter strain. Black bar: Radical scavenging activity (RSA) of material fermented for 48 h with the indicated starter strain. Control, labelled CTRL, corresponds to incubated juice. ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ from Dunnett's test versus control.

3.5. Fermentation of Tropical Fruit Preparations

Mango pulp, papaya pulp and pineapple juice were used as substrates for fermentation, started with previously selected starters.

Mango pulp fermentation resulted in the absence of changes in RSA (Figure 3A). This activity was comprised between 45.3 and 80.3%, with a mean at 69.1%. On the opposite, TPC was decreased during fermentation of several mango pulp samples. Nevertheless, the phenolic content determined for mango pulp was higher than those reported in the literature (41.1 mg GAE/100 g and 78.3 mg GAE/100 g, by Chen et al., 2014 [35] and by Septembre-Malaterre et al., 2016 [25], respectively). Mango fruit was shown to be rich in hydroxybenzoic acids (gallic acid, vanillic acid, protocatechic acid), in chlorogenic acid and in glucoside hydroxybenzoic derivatives (gallic acid-O-hexoside, syringic acid-O-hexoside) [25,36].

Fermentation of papaya pulp resulted for several starter strains in changes in TPC and in RSA, compared to the control conditions (Figure 3B). Dunnett's test pointed out a significant increase of TPC, when fermentation was started with DSM20193 (p -value 0.027). The same test applied to RSA, showed increases for fermented papaya started with DSM10196, 6a, 39, 5, 17, 28, 1, 56, 10b and 12b with p -values ranging from 0.001 to 0.05, respectively. In fermented papaya pulp, TPC ranged between 32.8 and 64.8 mg GAE/100g of pulp. RSA was in the extreme range of 2.9%–57.9% with a mean at 38.6%. These values were notably below the ones observed for tea. The phenolic level detected for papaya was close to that reported by Septembre-Malaterre et al., (2016) [25]: 33.4 and 41.3 mg GAE/100g for papaya Colombo and for papaya Solo respectively.

Non-fermented pineapple juice exhibited a TPC of 0.45 ± 0.02 g GAE·L⁻¹ and a RSA of $57.3\% \pm 1.3\%$, which is consistent with previous data [25]. For pineapple juice, TPC exhibited a significant increase as detected by the Dunnett's unilateral test, only for juice started with *W. cibaria* 64 (p -value 0.045) (Figure 3C). Fermented juice started with strain 17 exhibited a marked decrease in TPC and antioxidant activity (data not shown). A significant increase of antioxidant activity as measured with the DPPH assay was also observed for pineapple juice started with strain 64 (p -value < 0.0001). With this assay, other significant increases of activity were detected for juice started with *Lc. pseudomesenteroides* DSM10193 (p -value 0.005) and *Lc. pseudomesenteroides* 56 (p -value 0.013).

Papaya pulp and pineapple juice share several common features. They are rich in hydroxycinnamic acids (ferulic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid and sinapic acid) and in glucoside hydroxycinnamic derivatives [25,37,38]. By contrast, these molecules are not the main polyphenolics in tea and in mango pulp. The observed increase of phenolic content during lactic acid fermentation may result from the depolymerisation or hydrolysis of phenolic compounds [12]. Several enzymes, like β -glucosidase, tannase, feruloyl-esterase or phenolic acid decarboxylase have been characterised in *Lactobacillus* spp [18,39,40]. Tannase and β -glucosidase were detected in *W. paramesenteroides*, *Lc. mesenteroides* and *Lc. fallax* while feruloyl esterase was observed in *Leuconostoc* spp. [41,42]. Formation of exopolysaccharides, glutathione, superoxide dismutase and catalase was also involved in the increase of antioxidant activities during lactic acid fermentation [12]. EPS production by *W. confusa*, *W. cibaria* and *Leuconostoc* spp. may partly explain the observed changes but RSA modulation was not species-dependent.

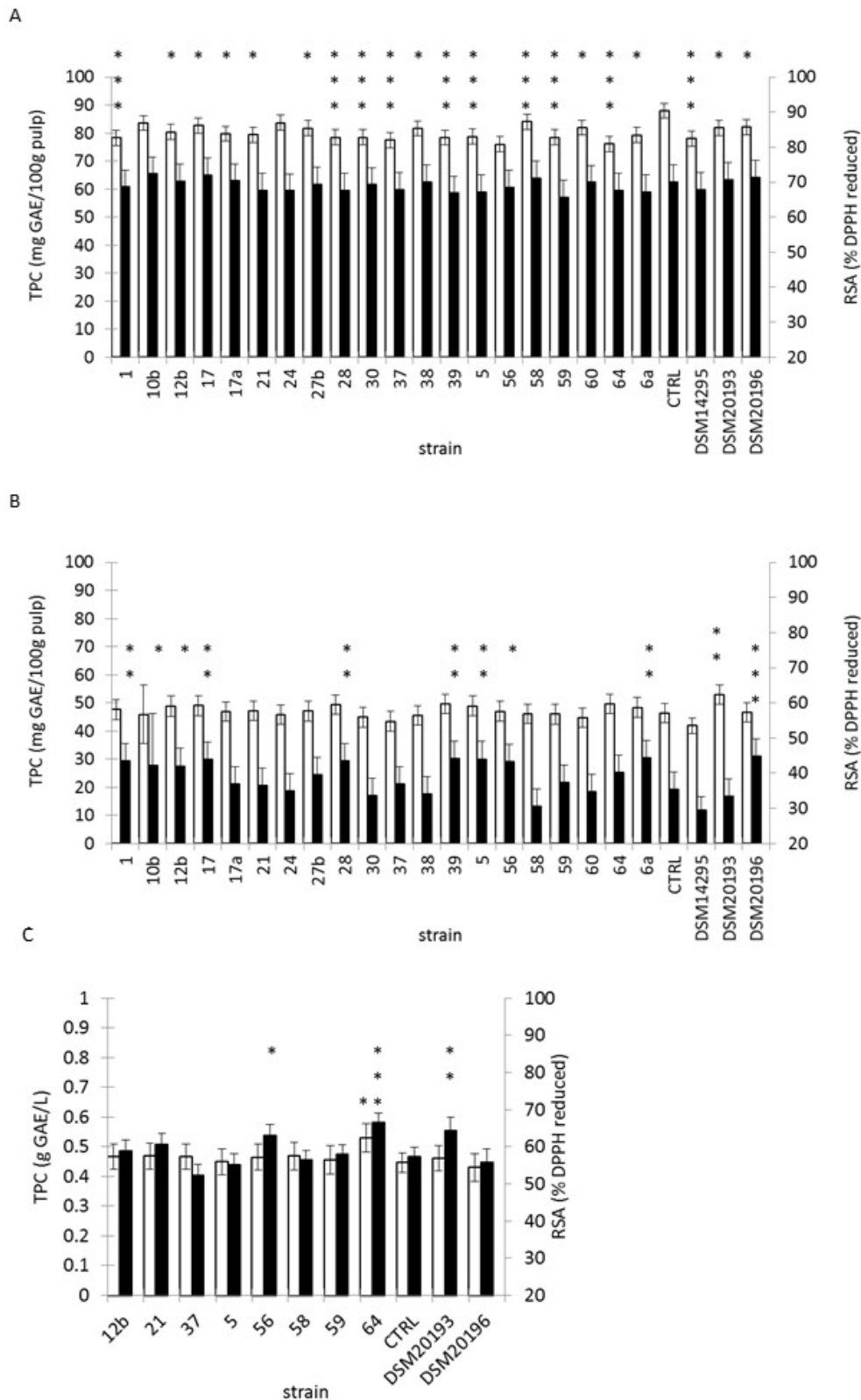


Figure 3. Total phenolic content and radical scavenging activity of fruits: (A) mango pulp; (B) papaya pulp; (C) pineapple juice. White bar: Total polyphenol content (TPC) of material fermented for 48 h with the indicated starter strain. Black bar: Radical scavenging activity (RSA) of material fermented for 48 h with the indicated starter strain. Control, labelled CTRL, corresponds to incubated juice. *** $p < 0.0001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ from Dunnett’s test versus control.

A subset of pair's food material—strain was assayed for red blood cell protection from free-radical induced haemolysis and for LDL protection from copper-induced oxidation activity. Papaya pulp and pineapple juice were used as they were the only substrates in which increases of TPC or RSA were observed during fermentation. Moreover, these two substrates exhibited the lowest RSA values, which might facilitate the detection of RSA increase. Fermentation was started with strain 64, DSM20193, 56 or 12b for both substrates and with strains 17, 28, 1, 56 or 10b for papaya pulp only. Haemolysis half-time values increased from 269 ± 20 min for control cells to 302 ± 24 min for 50-fold-diluted papaya pulp and to 282 ± 24 for 100-fold-diluted pineapple juice (Table 4). The haemolysis half-time of pulp started with strain 1 was significantly higher than for control cell (p -value 0.032). Besides this observation, the half-time was reduced for pulp started with 10b versus incubated pulp (p -value 0.028) and for juice started with 12b versus incubated juice. For LDL oxidation assay, half-time with control cells was significantly lower than with 500-fold-diluted incubated pineapple juice and juice started with 56, 12b or 64 (Table 4). LDL oxidation half-time data was higher for 500-fold-diluted pineapple juice than for 50-fold-diluted papaya pulp. No significant difference between fermented and unfermented pulp was observed. The effects observed with DPPH assay were not reflected by haemolysis inhibition neither by LDL oxidation inhibition. This discrepancy can be explained by the differences in methods that do not trigger the same types of molecular mechanisms and/or involve different radicals or pro-oxidants and/or are conditional on the experimental time [43]. A further analysis of polyphenols, but also EPS and peptide composition changes during fermentation, would be necessary to understand these observations.

Table 4. Haemolysis inhibition and LDL oxidation inhibition by fermented papaya pulp or pineapple juice started with different strains (mean \pm SD). * Correspond to a p -value < 0.05 . Different letters correspond to significant differences.

Condition	Half-Time for Haemolysis (Min)		Half-Time for Ldl Oxidation (Min)	
CONTROL CELLS	269 ± 20		28.1 ± 4.2	B
PAPAYA PULP	302 ± 24		45.1 ± 5.1	AB
PAPAYA/STRAIN 1	340 ± 27	* vs control cells		
PAPAYA/STRAIN 10B	257 ± 94	* vs pulp		
PAPAYA/STRAIN 12B	264 ± 70		52.3 ± 23.0	AB
PAPAYA/STRAIN 28	280 ± 40			
PAPAYA/STRAIN DSM20193	319 ± 20			
PAPAYA/STRAIN 56	259 ± 46		52.0 ± 15.0	AB
PAPAYA/STRAIN 64	279 ± 12		54.2 ± 28.2	AB
PAPAYA/STRAIN 17	278 ± 7			
PINEAPPLE JUICE	282 ± 24		71.7 ± 9.4	A
PINEAPPLE/STRAIN 12B	208 ± 72	* vs juice	75.9 ± 12.7	A
PINEAPPLE/STRAIN DSM20193	273 ± 73			
PINEAPPLE/STRAIN 56	234 ± 79		75.7 ± 12.4	A
PINEAPPLE/STRAIN 64	289 ± 47		54.2 ± 28.2	A

3.6. Changes in Microbial Counts, pH, Sugar and RSA Over-Fermentation and Refrigerated Storage

The pH during fermentation showed an increase from 3.4 to 4.0 for 64-started juice and to 3.5 for 12b-started juice. The pH became constant after 16 days of storage. This pH increase could result from decarboxylation of malic or citric acids, the main organic acids in pineapple, which have two and three carboxyl groups, respectively [44,45]. Reducing the sugar level decreased over-fermentation, starting from $79 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and reaching 60.5 and $61.8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, for juice started with 64 and with 12b. HPLC sugar analyses showed different patterns. For juice started with 64, glucose was the main sugar consumed with concentration decreasing from $39.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ to $28.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ over-fermentation. Sucrose content decreased from $36.6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ to $32.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and fructose content decreased from $44.7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ to $40.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. The resulting product is 20% poorer in sugars compared to the non-fermented juice, which

is another interesting nutritional property. For juice started with 12b, only glucose was consumed, resulting in a content of $33.3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Surprisingly, after 16 days of storage at 4°C , the reducing sugar level was 79.2 and $71.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, for juice started with 64 and with 12b. The concentration of glucose, fructose and sucrose was 38.1 , 46.4 and $48.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, for juice started with 64. For juice started with 12b, the concentration of glucose, fructose and sucrose was 36.6 , 40.7 and $40.9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. Altogether, an increase of reducing sugar content and of glucose, fructose and sucrose was observed for 64-started juice over shelf-life. This observation stems probably from the hydrolysis of polysaccharides or ester bounds releasing sugars or, in a lesser extent, from the synthesis of aldehydes or ketones which contain reducing extremities. The synthesis of different aldehydes and ketones was previously observed for *W. cibaria* and numerous *Leuconostoc* species in sourdough and cheeses [46,47]. This observation further warrants the requirement for analysis of composition changes during fermentation and storage. During storage, the RSA of started juice increased by 34% and by 29%, with strains 64 and 12b, respectively.

LAB count at inoculation was $1.0 \times 10^5 \text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$. It increased to $7.5 \times 10^5 \text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ over-fermentation with strain 64 and decreased during refrigerated storage to $1.5 \times 10^5 \text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$. For 12b, a marked increase was evident during fermentation and the counts reached $7.5 \times 10^7 \text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$. An additional increase up to $1.6 \times 10^8 \text{ cfu}\cdot\text{mL}\cdot\text{mL}^{-1}$ was observed during storage. Neither enterobacteria nor yeasts and moulds were detected in started juices and total bacterial counts corresponded exactly to LAB counts.

On the whole, 16 days of refrigerated storage did not significantly alter the microbial quality of fermented juices and preserved antioxidant properties.

3.7. Sensory Profile and Fermented Juice Quality Evaluation

Pineapple juice started with *W. cibaria* 64 or with *Lc. pseudomesenteroides* 12b was chosen for sensory analysis. Pineapple juice was characterised by a high acidity and a sweet flavour, but also by fluidity, smoothness and freshness. Yogurt odour and taste were significantly more marked in started juice compared to control juice (strain 64 $p < 0.001$; strain 12b $p < 0.05$). Other sensory attributes did not significantly differ between the control and the 64-started juice. Hot and sparkling tastes were more present in pineapple juice started with strain 12b compared to the control and to 64-started juice ($p < 0.001$). Moreover, 12b-started juice was characterised by a more pronounced sweet and sour taste compared to the control juice ($p < 0.05$). Lastly, the pineapple character was significantly lower in 12b started juice compared to control juice ($p < 0.01$). These characteristics result in a significantly reduced overall quality for 12b started juice compared to non-fermented juice ($p < 0.05$). Interestingly, PCA analysis showed a very clear grouping of assays according to a limited number of sensory attributes (Figure 4). Yogurt character and sweet taste reflect *W. cibaria* 64-started juice properties, whereas *Lc. pseudomesenteroides* 12b-started juices were characterised by hot and sparkling tastes and non-fermented juice by its marked pineapple taste.

Altogether, started juice was liked with global quality scores of 5.5 and 5.1, respectively, for juices started with 64 and 12b. The non-started juice was more appreciated, with a score of overall quality of 6.9.

Hedonic test scores showed that fermented pineapple juice started with strain 12b was more appreciated than that started with strain 64, but the difference was not significant (Figure 5). Colour, taste, pineapple flavour and texture evaluation did not show differences according to the starter strain. The only difference was for odour, slightly more appreciated in 12b-started juices.

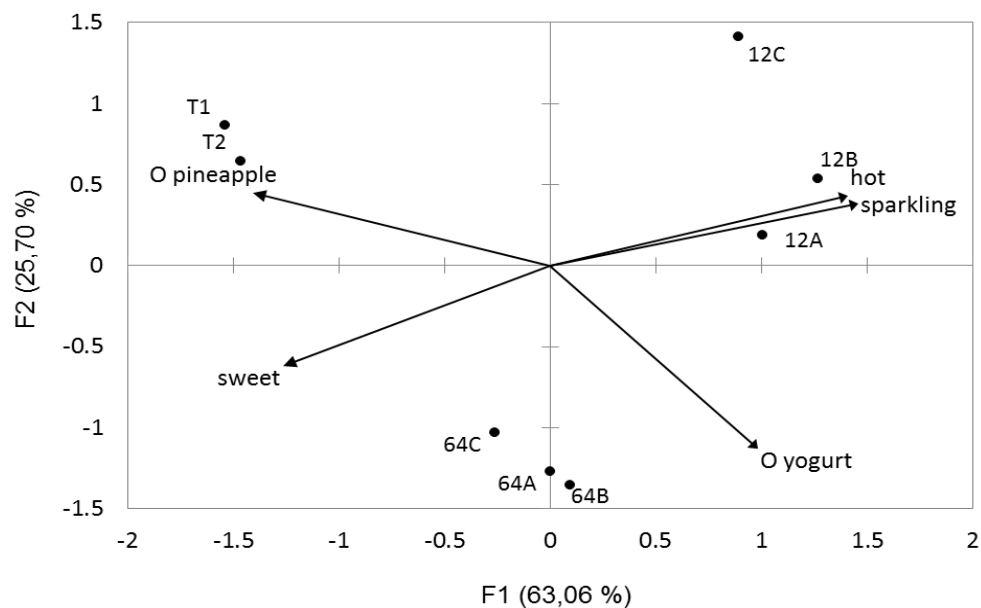
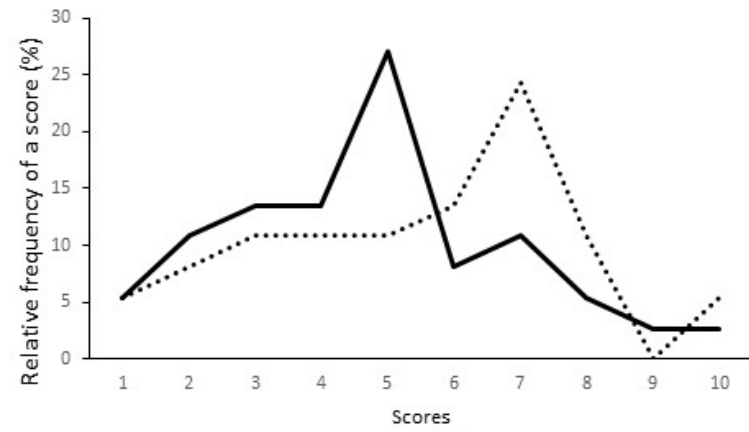


Figure 4. Principal component analysis of sensory profiles of pineapple juice non-fermented or started with 64 and 12b strains. T1 and T2, pineapple juice; 64A, 64B, 64C, juice started with strain 64; 12A, 12B, 12C, juice started with strain 12b. Arrows correspond to eigenvectors for indicated descriptors.

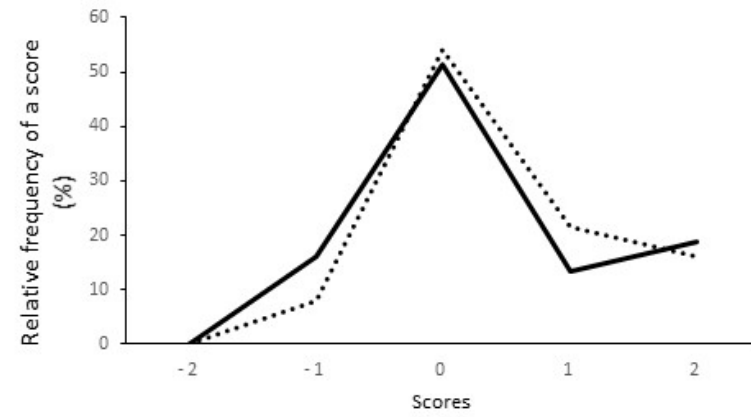
4. Conclusions

A set of 34 strains from 13 species with highly diverse characteristics was screened for the ability to start lactic fermentation of juice, pulps and tea infusions and to lead to pleasant beverages with preserved antioxidant properties. Two strains were particularly investigated, 64 and 12b. The fermented juices were globally appreciated and exhibited peculiar sensory characteristics.

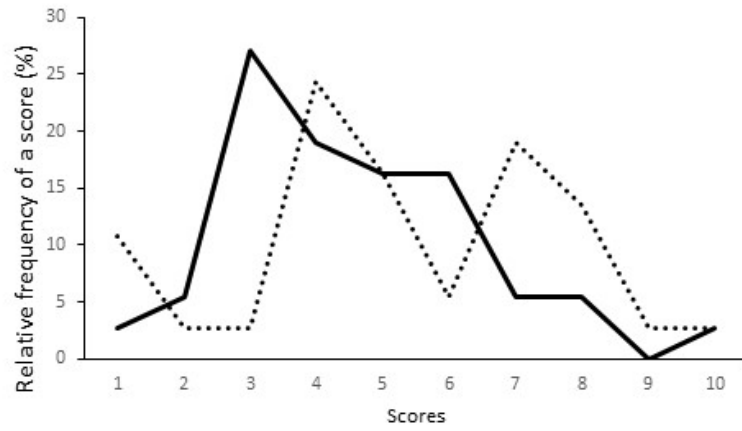
W. cibaria 64 produced EPS, had moderate acidification ability and grew poorly in apple or pineapple juice. Pineapple juice fermented with this strain exhibited a significant increase in TPC and RSA, which was maintained during refrigerated storage. However, other antioxidant activity determination assays did not succeed in detecting changes. *Lc. pseudomesenteroides* 12b also produced EPS but exhibited a slow acidification profile. Its growth in apple juice was poor but good in pineapple juice. With this strain as starter, an increase in antioxidant activity was noted in fermented papaya pulp but remained unchanged in fermented pineapple juice. In a green tea infusion or mango pulp, fermentation with this strain resulted in decreased TPC. These differences probably reflect different enzymatic activities that modulate the composition of fruit juice over-fermentation. The investigation of metabolite changes in fruit juice during lactic fermentation with these strains and the determination of enzymatic activities involved in polyphenolic compounds' hydrolysis would lead to a better understanding of the observed properties of fermented juices. Lastly, fruit lactic fermentation with strains from those species is an unusual event, though these species are often detected in fermented foods of plant origin [48–50] and would thus require safety studies. In particular, this might entail that biogenic amine formation and infectious potential would have to be carefully investigated [51,52].



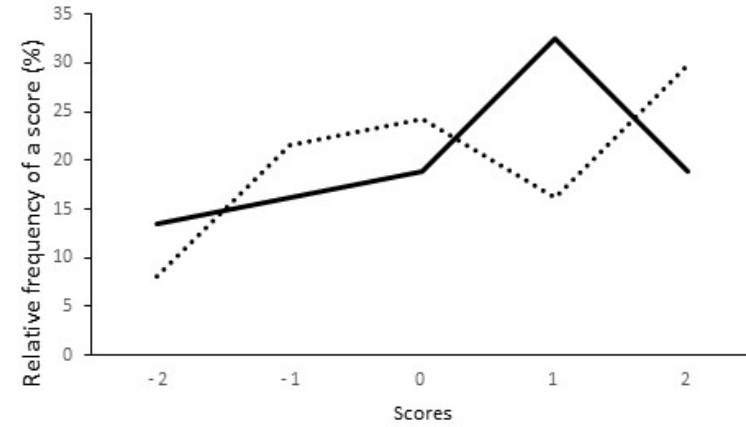
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 5. Cont.

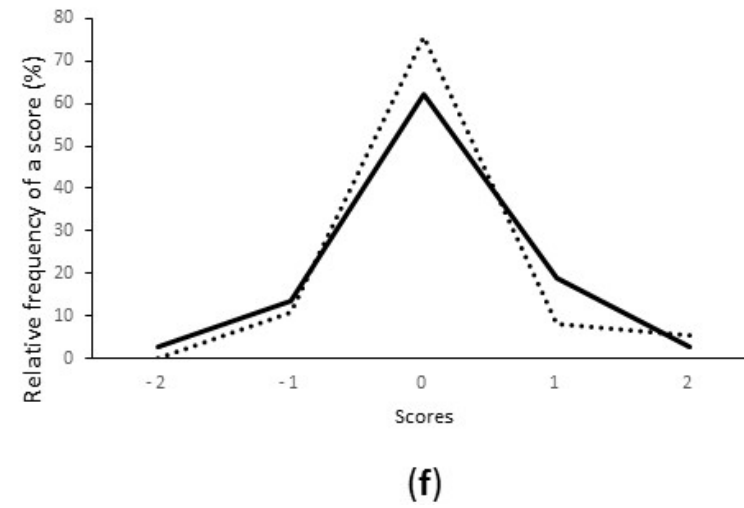
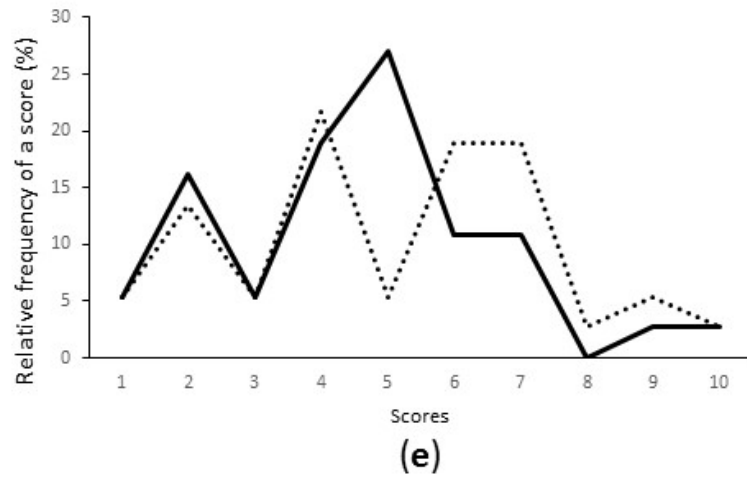


Figure 5. Hedonic sensory analysis: (a) overall acceptability; (b) colour; (c) odour; (d) pineapple taste; (e) taste; (f) texture. Light dotted line: juice started with 12b; black line: juice started with 64.

Acknowledgments: We acknowledge Marina Chopinet from the Regional Centre for Innovation and technology transfer of Réunion Island for her grateful help for hedonic sensory analysis. We thank Jerome Minier for technical assistance with sugar analysis. Amandine Fessard's PhD is supported by a fellowship from the "Conseil Régional de La Réunion et l'Europe". Ashish Kapoor's fellowship was provided by Qual'innov.

Author Contributions: Emmanuel Bourdon and Fabienne Remize supervised the work, in their fields, health related effects and microbiology respectively. Theeshan Bahorun supported the work for antioxidant activities of fermented foods. Sophie Assemat supervised sensory analyses. Experimental work was performed by Amandine Fessard, with support of Ashish Kapoor, Bachelor student, Jessica Patche and Mathilde Hoarau, technicians.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Arts, I.C.W.; Hollman, P.C.H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies 1–4. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*, 3175–3255.
2. McKay, D.L.; Blumberg, J.B. The role of tea in human health: An update. *J. Am. Coll. Nutr.* **2002**, *21*, 1–13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Di Cagno, R.; Coda, R.; de Angelis, M.; Gobbetti, M. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol.* **2013**, *33*, 1–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Nicoli, M.; Anese, M.; Parpinel, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.* **1999**, *10*, 94–100. [[CrossRef](#)]
5. Ioannou, I.; Hafsa, I.; Hamdi, S.; Charbonnel, C.; Ghoul, M. Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behaviour. *J. Food Eng.* **2012**, *111*, 208–217. [[CrossRef](#)]
6. Oboh, G. Effect of blanching on the antioxidant properties of some tropical green leafy vegetables. *LWT Food Sci. Technol.* **2005**, *38*, 513–517. [[CrossRef](#)]
7. Beena Divya, J.; Kulangara Varsha, K.; Madhavan Nampoothiri, K.; Ismail, B.; Pandey, A. Probiotic fermented foods for health benefits. *Eng. Life Sci.* **2012**, *12*, 377–390. [[CrossRef](#)]
8. Dufresne, C.; Farnworth, E. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Res. Int.* **2000**, *33*, 409–421. [[CrossRef](#)]
9. Park, K.Y.; Jeong, J.K.; Lee, Y.E.; Daily, J.W. Health benefits of Kimchi (Korean fermented vegetables) as a probiotic food. *J. Med. Food* **2014**, *17*, 6–20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Di Cagno, R.; Minervini, G.; Rizzello, C.G.; de Angelis, M.; Gobbetti, M. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiol.* **2011**, *28*, 1062–1071. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Filannino, P.; Azzi, L.; Cavoski, I.; Vincentini, O.; Rizzello, C.G.; Gobbetti, M.; di Cagno, R. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **2013**, *163*, 184–192. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Hur, S.J.; Lee, S.Y.; Kim, Y.C.; Choi, I.; Kim, G.B. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chem.* **2014**, *160*, 346–356. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Ng, C.C.; Wang, C.Y.; Wang, Y.P.; Tzeng, W.S.; Shyu, Y.T. Lactic acid bacterial fermentation on the production of functional antioxidant herbal *Anoectochilus formosanus* Hayata. *J. Biosci. Bioeng.* **2011**, *111*, 289–293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Di Cagno, R.; Surico, R.F.; Paradiso, A.; de Angelis, M.; Salmon, J.C.; Buchin, S.; de Gara, L.; Gobbetti, M. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *128*, 473–483. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Di Cagno, R.; Surico, R.F.; Siragusa, S.; de Angelis, M.; Paradiso, A.; Minervini, F.; de Gara, L.; Gobbetti, M. Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. *Int. J. Food Microbiol.* **2008**, *127*, 220–228. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Dueñas, M.; Fernández, D.; Hernández, T.; Estrella, I.; Muñoz, R. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. *J. Sci. Food Agric.* **2005**, *85*, 297–304.
17. Marazza, J.A.; Nazareno, M.A.; Savoy de Giori, G.; Garro, M.S. Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus*. *J. Funct. Foods* **2012**, *4*, 594–601. [[CrossRef](#)]
18. Pyo, Y.H.; Lee, T.C.; Lee, Y.C. Enrichment of bioactive isoflavones in soymilk fermented with β -glucosidase-producing lactic acid bacteria. *Food Res. Int.* **2005**, *38*, 551–559. [[CrossRef](#)]

19. Zhao, D.; Shah, N.P. Lactic acid bacterial fermentation modified phenolic composition in tea extracts and enhanced their antioxidant activity and cellular uptake of phenolic compounds following *in vitro* digestion. *J. Funct. Foods* **2016**, *20*, 182–194. [[CrossRef](#)]
20. Fessard, A.; Bourdon, E.; Payet, B.; Remize, F. Identification, stress tolerance, and antioxidant activity of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and leaves. *Can. J. Microbiol.* **2016**, *62*, 550–561. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Naser, S.M.; Thompson, F.L.; Hoste, B.; Gevers, D.; Dawyndt, P.; Vancanneyt, M.; Swings, J. Application of multilocus sequence analysis (MLSA) for rapid identification of *Enterococcus* species based on *rpoA* and *pheS* genes. *Microbiology* **2005**, *151*, 2141–2150. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Rubio, R.; Jofré, A.; Martín, B.; Aymerich, T.; Garriga, M. Characterization of lactic acid bacteria isolated from infant faeces as potential probiotic starter cultures for fermented sausages. *Food Microbiol.* **2014**, *38*, 303–311. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Torriani, S.; Felis, G.E.; Dellaglio, F. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, and *L. paraplantarum* by *recA* Gene Sequence Analysis and Multiplex PCR Assay with *recA* Gene-Derived Primers. *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, *67*, 3450–3454. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Miller, G.L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* **1959**, *31*, 426–428. [[CrossRef](#)]
25. Septembre-Malaterre, A.; Stanislas, G.; Douraguia, E.; Gonthier, M.P.P. Evaluation of nutritional and antioxidant properties of the tropical fruits banana, litchi, mango, papaya, passion fruit and pineapple cultivated in Reunion French Island. *Food Chem.* **2016**, *212*, 225–233. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Vos, P.; Garrity, G.; Jones, D.; Krieg, N.R.; Ludwig, W.; Rainey, F.A.; Schleifer, K.H.; Whitman, W. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*; Springer: New York, NY, USA, 2009.
27. Espirito-Santo, A.P.; Carlin, F.; Renard, C.M.G.C. Apple, grape or orange juice: Which one offers the best substrate for lactobacilli growth?—A screening study on bacteria viability, superoxide dismutase activity, folates production and hedonic characteristics. *Food Res. Int.* **2015**, *78*, 352–360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Almajano, M.P.; Carbó, R.; Jiménez, J.A.L.; Gordon, M.H. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem.* **2007**, *108*, 55–63. [[CrossRef](#)]
29. Atoui, A. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem.* **2005**, *89*, 27–36. [[CrossRef](#)]
30. Karori, S.M.; Wachira, F.N.; Wanyoko, J.K.; Ngure, R.M. Antioxidant capacity of different types of tea products. *Afr. J. Biotechnol.* **2007**, *6*, 2287–2296. [[CrossRef](#)]
31. Malbaša, R.V.; Lončar, E.S.; Vitas, J.S.; Čanadanović-Brunet, J.M. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chem.* **2011**, *127*, 1727–1731. [[CrossRef](#)]
32. Peterson, J.; Dwyer, J.; Bhagwat, S.; Haytowitz, D.; Holden, J.; Eldridge, A.L.; Beecher, G.; Aladesanmi, J. Major flavonoids in dry tea. *J. Food Compos. Anal.* **2005**, *18*, 487–501. [[CrossRef](#)]
33. Mukhtar, H.; Ahmad, N. Tea polyphenols: Prevention of cancer and optimizing health. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *71*, 1698–1702.
34. Sang, S.; Lambert, J.D.; Ho, C.T.; Yang, C.S. The chemistry and biotransformation of tea constituents. *Pharmacol. Res.* **2011**, *64*, 87–99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Chen, G.L.; Chen, S.G.; Zhao, Y.Y.; Luo, C.X.; Li, J.; Gao, Y.Q. Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after *in vitro* digestion. *Ind. Crop. Prod.* **2014**, *57*, 150–157. [[CrossRef](#)]
36. Palafox-Carlos, H.; Yahia, E.M.; González-Aguilar, G.A. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS–ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chem.* **2012**, *135*, 105–111. [[CrossRef](#)]
37. Nguyen, T.T.T.; Shaw, P.N.; Parat, M.O.; Hewavitharana, A.K. Anticancer activity of *Carica papaya*: A review. *Mol. Nutr. Food Res.* **2013**, *57*, 153–164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Rivera-Pastrana, D.M.; Yahia, E.M.; González-Aguilar, G.A. Phenolic and carotenoid profiles of papaya fruit (*Carica papaya* L.) and their contents under low temperature storage. *J. Sci. Food Agric.* **2010**, *90*, 2358–2365. [[PubMed](#)]
39. Rodriguez, H.; Curiel, J.A.; Landete, J.M.; de las Rivas, B.; Lopez de Felipe, F.; Gomez-Cordoves, C.; Mancheno, J.M.; Munoz, R. Food phenolics and lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *132*, 79–90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

40. Rodríguez, H.; Landete, J.M.; de las Rivas, B.; Muñoz, R. Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748^T. *Food Chem.* **2008**, *107*, 1393–1398. [[CrossRef](#)]
41. Kostinek, M.; Specht, I.; Edward, V.A.; Pinto, C.; Egounlety, M.; Sossa, C.; Mbugua, S.; Dortu, C.; Thonart, P.; Taljaard, L.; et al. Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. *Int. J. Food Microbiol.* **2007**, *114*, 342–351. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Ramos-de-la-Peña, A.M.; Contreras-Esquivel, J.C. Methods and substrates for feruloyl esterase activity detection, a review. *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2016**, *130*, 74–87. [[CrossRef](#)]
43. Niki, E.; Noguchi, N. Evaluation of Antioxidant Capacity. What Capacity is Being Measured by Which Method? *IUBMB Life* **2001**, *50*, 323–329. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Bartolomé, A.P.; Rupérez, P.; Fúster, C. Pineapple fruit: Morphological characteristics, chemical composition and sensory analysis of red Spanish and Smooth Cayenne cultivars. *Food Chem.* **1995**, *53*, 75–79. [[CrossRef](#)]
45. Cárnara, M.; Díez, C.; Torija, E. Chemical characterization of pineapple juices and nectars. Principal components analysis. *Food Chem.* **1995**, *54*, 93–100. [[CrossRef](#)]
46. Corona, O.; Alfonzo, A.; Ventimiglia, G.; Nasca, A.; Francesca, N.; Martorana, A.; Moschetti, G.; Settanni, L. Industrial application of selected lactic acid bacteria isolated from local semolinas for typical sourdough bread production. *Food Microbiol.* **2016**, *59*, 43–56. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Pogačić, T.; Maillard, M.B.; Leclerc, A.; Hervé, C.; Chuat, V.; Valence, F.; Thierry, A. *Lactobacillus* and *Leuconostoc* volatilomes in cheese conditions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *100*, 2335–2346. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Altay, F.; Karbancioglu-Güler, F.; Daskaya-Dikmen, C. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *Int. J. Food Microbiol.* **2013**, *167*, 44–56. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Jung, J.Y.; Lee, S.H.; Lee, H.J.; Seo, H.Y.; Park, W.S.; Jeon, C.O. Effects of *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **2012**, *153*, 378–387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Park, E.J.; Chun, J.; Cha, C.J.; Park, W.S.; Jeon, C.O.; Bae, J.W. Bacterial community analysis during fermentation of ten representative kinds of kimchi with barcoded pyrosequencing. *Food Microbiol.* **2012**, *30*, 197–204. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Abriouel, H.; Lerma, L.L.; Casado Muñoz, M.d.C.; Montoro, B.P.; Kabisch, J.; Pichner, R.; Cho, G.S.; Neve, H.; Fusco, V.; Franz, C.M.A.P.; et al. The controversial nature of the *Weissella* genus: Technological and functional aspects versus whole genome analysis-based pathogenic potential for their application in food and health. *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 1197. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Jeong, D.W.; Lee, J.H. Antibiotic resistance, hemolysis and biogenic amine production assessments of *Leuconostoc* and *Weissella* isolates for kimchi starter development. *LWT Food Sci. Technol.* **2015**, *64*, 1078–1084. [[CrossRef](#)]



Résultats complémentaires

Introduction

Les résultats présentés dans la publication précédente ont été obtenus avec du jus d'ananas commercial (Carrefour ou Albius - Royal Bourbon Industries). Le jus commercial a d'abord été préféré au jus frais, afin de s'affranchir de la flore naturellement présente dans les jus fraîchement pressés. D'autre part, les premiers essais à partir de jus fraîchement pressés avaient montré une dominance de levures et l'incapacité des starters utilisés à s'implanter. Avec le succès de la fermentation menée par les deux isolats 64 ou 12b, nous avons décidé d'essayer à nouveau la fermentation de jus d'ananas frais en utilisant ces deux souches. L'étude sur du jus frais permettrait dans un premier temps de confirmer les résultats obtenus sur du jus commercial, et dans un deuxième temps de tester ces deux souches sur une boisson de qualité organoleptique bien supérieure.

Notre protocole de fermentation à partir de fruits fraîchement pressés ou mixés nécessitait une première étape de pasteurisation de la matière première avant l'inoculation du starter (afin de limiter la population en levures, résultat non montré). Or, la pasteurisation peut entraîner des pertes en composés antioxydants, diminuant ainsi l'activité antioxydante. Ainsi, il paraissait important de quantifier dans quelle mesure cette étape de pasteurisation des jus et des pulpes de fruit (ananas, papaye, mangue) pouvait diminuer l'activité antioxydante.

Dans la publication ci-dessus, la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante augmentaient au cours de la fermentation de jus d'ananas avec les isolats 64, 56 et DSM 20193 et de pulpe de papaye avec les isolats DSM 20193, DSM 20196, 6a, 39, 5 17, 28, 1, 56, 10b et 12b. Ces résultats ont été déterminés par les tests Folin-Ciocalteu et DPPH. Afin de confirmer ces résultats, nous avons déterminé l'activité anti-radicalaire par un troisième test : le test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).

Matériels et méthodes

Effet de la pasteurisation sur les propriétés antioxydantes des jus et des pulpes de fruit

La pasteurisation a été réalisée avec un traitement de 5 min à 75°C. La teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité anti-radicalaire ont été mesurées pour de la pulpe pasteurisée et non pasteurisée, et pour du jus frais et du jus frais pasteurisé en utilisant le test de Folin-Ciocalteu et le test DPPH, respectivement. Les méthodes sont décrites dans l'article précédent. Les jus frais ont été également comparés aux jus commerciaux.

Test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Le test ORAC permet de mesurer l'activité antioxydante d'un échantillon vis-à-vis d'un générateur de radicaux : l'AAPH (2,2'-Azobis [2-méthyl- propionamidin]dihydrochloride). Les échantillons ont été dilués 400 fois dans du tampon phosphate 75 mM (pH 7,4) pour l'expérience. Dans une plaque de 96 puits (noire), 25 µL d'échantillon sont mélangés avec 150 µL de fluorescéine puis incubé pendant 15 min à 37°C. 25 µL d'AAPH sont ensuite ajoutés et la décroissance de la fluorescence est suivie pendant 1h40, à une longueur d'onde d'excitation et d'émission respectivement de 485 nm et 530 nm. L'AAPH, en générant des radicaux libres va entraîner la dégradation de la fluorescéine et donc une diminution de la fluorescence. L'ajout de molécules antioxydantes permet de retarder cette dégradation. La réaction est standardisée en utilisant une gamme de Trolox (6,25-75 µM). Les résultats sont exprimés en Trolox équivalent (µM). Ils représentent la moyenne de trois expériences réalisées indépendamment et analysées en triplicat.

Fermentation lactique de jus d'ananas frais

Les ananas ont été lavés, épluchés puis coupés avant de les presser. Les jus ont été obtenus grâce à un extracteur de jus (Philips, Masticating juicer). L'extracteur de jus broie les fruits en les pressant avec une vis sans fin contre les grilles d'un tamis, ce qui permet de séparer les fibres du jus. Avant fermentation, les jus ont été pasteurisés à 80°C, 5 min puis inoculés avec les isolats 64 et 12b. Après deux jours de fermentation, les jus ont été conservés pendant trois jours à 4°C et comparés à du jus fraîchement préparé (J0) et du jus frais conservé à 4°C pendant cinq jours (J5). La teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité anti-radicalaire (par le test DPPH) ont été mesurées. Les profils sensoriels de chaque produit ont été comparés en utilisant les mêmes descripteurs que ceux décrits dans l'article précédent.

Résultats et Discussion

Effet de la pasteurisation sur les propriétés antioxydantes des jus et des pulpes de fruit

La pasteurisation peut modifier les propriétés nutritionnelles et antioxydantes des fruits en agissant sur les molécules hydrosolubles comme la vitamine C ou les composés phénoliques. Ainsi, nous avons désiré vérifier si notre étape de pasteurisation ne diminuait pas la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante. En comparant au jus frais, le jus commercial possède une teneur en composés phénoliques significativement plus basse que le

jus frais ($p < 0,05$) (**Figure 20A**). En effet, la teneur du jus frais est de $0,68 \pm 0,21$ g AGE.L⁻¹ et celle du jus commercial est de $0,52 \pm 0,05$ g AGE.L⁻¹. En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre le jus frais et le jus frais pasteurisé : notre étape de pasteurisation n'a donc eu aucun effet sur la teneur en composés phénoliques. Pour l'activité anti-radicalaire, aucune différence n'a été observée entre le jus frais et le jus commercial. En revanche, le jus pasteurisé a montré une activité anti-radicalaire significativement plus élevée que le jus frais non pasteurisé ($p < 0,0001$).

Pour les pulpes de fruit, aucune différence n'a été observée entre la papaye pasteurisée et non pasteurisée, que ce soit pour la teneur en composés phénoliques ou l'activité anti-radicalaire (**Figure 20B**). En revanche, la mangue pasteurisée a montré une teneur en composés phénoliques significativement plus élevée que la mangue non pasteurisée ($p < 0,05$), mais aucune différence n'a été observée pour l'activité anti-radicalaire. La mangue possède une teneur en composés phénoliques plus élevée que la papaye ($p < 0,0001$) mais leurs activités antioxydantes sont les mêmes.

Notre étape de pasteurisation n'a donc eu aucun effet négatif sur les propriétés antioxydantes des jus et des pulpes. Au contraire, une augmentation des propriétés antioxydantes a été observée pour le jus d'ananas et la pulpe de mangue pasteurisés. En général, la pasteurisation entraîne une baisse des activités nutritionnelles, car elle dégrade les composés hydrosolubles, comme la vitamine C et certains composés phénoliques. Cependant, il a déjà été démontré que dans certains cas, la pasteurisation pouvait augmenter les activités antioxydantes [145]. Les auteurs ont déduit que la chaleur pouvait hydrolyser les liaisons présentes dans les composés phénoliques polymériques. L'augmentation de la teneur en composés phénoliques suite à un traitement thermique modéré peut s'expliquer également par la formation de produits de Maillard [146]. De plus, certains composés phénoliques sous leur forme oxydée intermédiaire peuvent avoir une activité anti-radicalaire plus efficace que s'ils étaient sous leur forme non oxydée [147]. Nous pensons cependant, que ces variations dépendent de la matrice, de la composition en composés phénoliques et autres molécules, de la durée et de la température d'incubation.

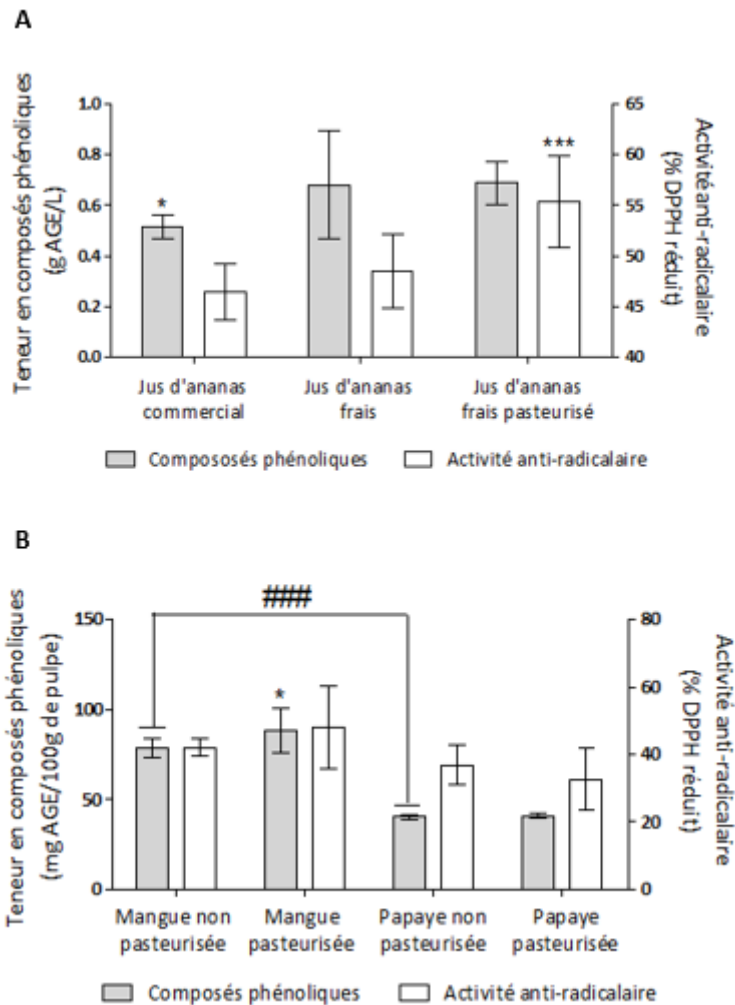


Figure 20 : Effet de la pasteurisation sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des jus d'ananas (A) et des pulpes de fruit (B).

Test comparatif de Dunnett : * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ en comparaison au témoin non pasteurisé ; Test de comparaison multiple REGWQ ($p < 0,05$): ### $p < 0,001$

Modification de l'activité antioxydante au cours de la fermentation : test ORAC

Les résultats obtenus pour le test ORAC sont présentés sur la **Figure 21**. Les jus d'ananas commerciaux fermentés par les isolats 21, 64, 12b, 56, 5 et DSM 20193 ont montré une capacité antioxydante significativement plus élevée que le jus témoin non fermenté ($p < 0,0001$), révélée par le test de Dunnett (**Figure 21A**). Les jus fermentés par les isolats 21 (*W. cibaria*), 12b et 56 (*Lc. pseudomesenteroides*) ont montré les valeurs les plus élevées, soit 12 fois supérieure à celle du témoin. Ces résultats confirment les résultats précédents obtenus par le test DPPH pour les isolats 64, 56 et DSM20193. En revanche, le test DPPH n'avait révélé aucune différence pour les isolats 21, 12b et 5. Le test de Folin-Ciocalteu avait montré

une augmentation significative de la teneur en composés phénoliques uniquement avec l'isolat 64.

Pour la pulpe de papaye, les pulpes fermentées par les isolats 12b, 21, 6a et DSM20193 ont montré une capacité antioxydante significativement plus élevée, de 144 à 247 %, que la pulpe témoin non fermentée (**Figure 21B**). En revanche, aucune différence significative n'a été observée pour les autres isolats. Ces résultats confirment ceux obtenus par le test DPPH pour les isolats 12b et 6a. En revanche, pour l'isolat 21 et la souche DSM 20193, aucune différence significative n'avait été observée pour le test DPPH. En revanche, une augmentation significative de la teneur en composés phénoliques avait été observée avec la souche DSM 20193.

Ces différences peuvent s'expliquer par les différences entre les deux tests. En effet, les tests ORAC et DPPH impliquent des mécanismes moléculaires différents et des radicaux différents, l'AAPH et le DPPH, respectivement. L'utilisation du test ORAC a permis néanmoins de confirmer les résultats obtenus pour les souches 64 et 12b. La souche 64 avait été capable d'augmenter la teneur en composés phénoliques du jus d'ananas ainsi que d'augmenter les capacités antioxydantes, prouvées par les tests DPPH et ORAC. La souche 12b est également très intéressante, elle avait montré une augmentation de l'activité antioxydante de la pulpe de papaye par le test DPPH mais pas pour le jus d'ananas. En revanche, le test ORAC a montré que la souche 12b augmentait les capacités antioxydantes du jus d'ananas.

Le test ORAC a également mis en évidence l'activité antioxydante des souches 21, 56 et DSM 20193. Pour rappel, les souches 64 et 21 sont des *W. cibaria* et les souches 12b, 56 et DSM 20193 sont des *Lc. pseudomesenteroides*. Les espèces *W. cibaria* et *Lc. pseudomesenteroides* présentent ainsi un fort potentiel pour la conception de produits aux capacités nutritionnelles améliorées. De plus, ces isolats avaient également montré des caractéristiques intéressantes lors de la première étude.

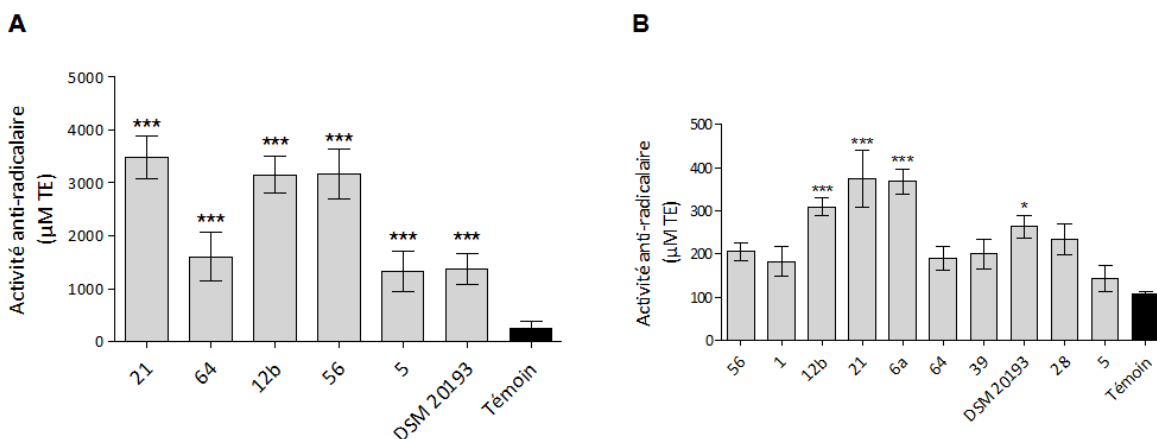


Figure 21 : Activité anti-radicalaire ($\mu\text{M TE}$) mesurée par le test ORAC pour les jus d'ananas fermentés (A) et les pulpes de papaye fermentées (B)
 Test comparatif de Dunnett : * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ en comparaison à la condition Témoin non fermentée

Fermentation lactique de jus d'ananas frais

1) Détermination de la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante

Après deux jours de fermentation, les jus d'ananas Victoria frais fermentés par les souches 12b et 64 ont été conservés à 4°C pendant trois jours. La teneur en composés phénoliques et l'activité anti-radicalaire ont été déterminées en utilisant les tests Folin-Ciocalteu et DPPH, respectivement, à du jus frais conservé 5 jours à 4°C (J5) (**Figure 22**). Il est nécessaire de bien différencier ici le témoin et le témoin traité dans la publication précédente. Dans la publication, le témoin est maintenu à 30°C, car c'est la température de fermentation. Dans cette étude, le témoin est maintenu à 4°C pour imiter la conservation habituelle d'un jus frais. En comparant au témoin non fermenté J5, aucune différence significative n'a été observée pour les jus fermentés, que ce soit pour la teneur en composés phénoliques ou l'activité antioxydante.

Dans l'ensemble, ces résultats réalisés sur jus frais ne coïncident pas aux résultats observés pour les jus commerciaux. Les isolats 12b et 64 avaient été capables d'augmenter significativement la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de jus commerciaux. Dans le cas du jus frais, aucune différence n'a été observée.

L'augmentation de l'activité antioxydante au cours de la fermentation lactique est principalement due à la métabolisation des composés phénoliques. Il est possible que la composition du jus frais soit différente de celle du jus commercial. En effet, plusieurs

paramètres peuvent affecter la teneur en composés phénoliques des fruits, tels que la zone géographique de culture, les conditions de croissance du fruit, les conditions de récolte et le stade de maturité. De plus, les processus de fabrication des jus sont différents, et ceci peut avoir des effets sur la teneur en composés phénoliques. Il serait intéressant de comparer les composés phénoliques présents dans les jus frais et des jus pasteurisés avec des niveaux commerciaux de traitements thermiques (assurant une stabilité des jus à température ambiante).

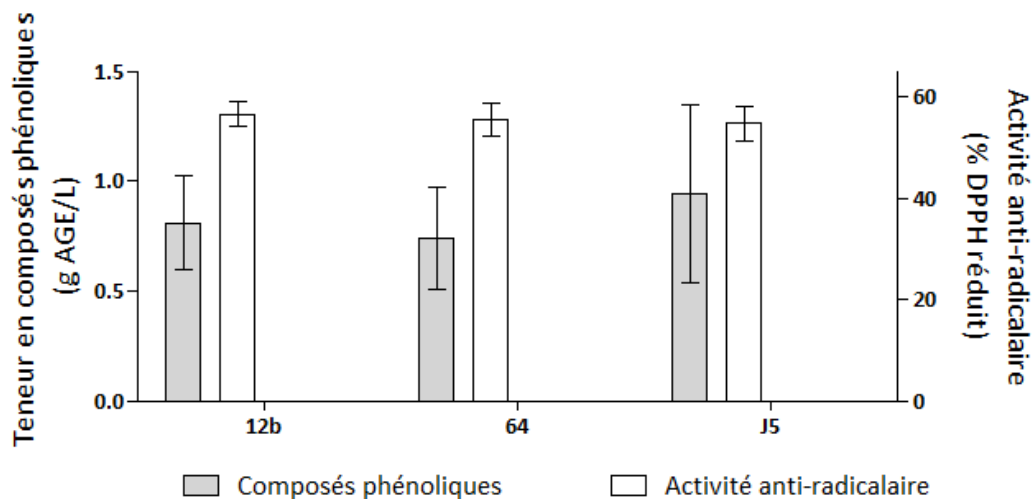


Figure 22 : Evolution de la teneur en composés phénoliques et de l'activité antioxydante au cours de la fermentation lactique de jus d'ananas Victoria

2) Analyse sensorielle des jus d'ananas Victoria fermentés

La comparaison (REGWQ) des deux témoins J0 et J5 a montré des différences significatives au niveau de la couleur, de l'odeur et de la texture. Le témoin J0 a montré une odeur plus fruitée que le témoin J5 ($p < 0,01$). Une couleur plus orangée ($p < 0,05$) ainsi qu'une texture plus lisse ($p < 0,0001$) et plus fluide ($p < 0,01$) ont été observées pour le témoin J5.

D'un point de vue organoleptique, les jus d'ananas frais fermentés diffèrent significativement des jus frais témoins. En utilisant le test REGWQ ($p < 0,05$), des différences significatives ont été observées pour les descripteurs : couleur (C) jaune, C vert, C orange, odeur (O) ananas, O fermentés, O yaourt, O fruitée, texture (T) lisse, T fluide, saveur (S) acide, S sucrée, goût (G) frais, G yaourt, G piquant, G fermenté, G pétillant et au niveau de la qualité générale. Les profils sensoriels pour les quatre types de jus sont présentés dans la **Figure 23**. Les jus fermentés par les deux souches ont montré une couleur plus orangée, un caractère fermenté ainsi que des odeurs et des goûts de yaourt beaucoup plus prononcés comparés aux deux témoins ($p < 0,0001$). Le jus fermenté par la souche 12b, en plus des autres critères, a montré

des goûts piquant ($p < 0,01$), aigre-doux et pétillant ($p < 0,0001$) plus prononcés que les deux témoins. Dans l'ensemble, les jus fermentés ont été légèrement moins appréciés que les jus frais ($p < 0,05$).

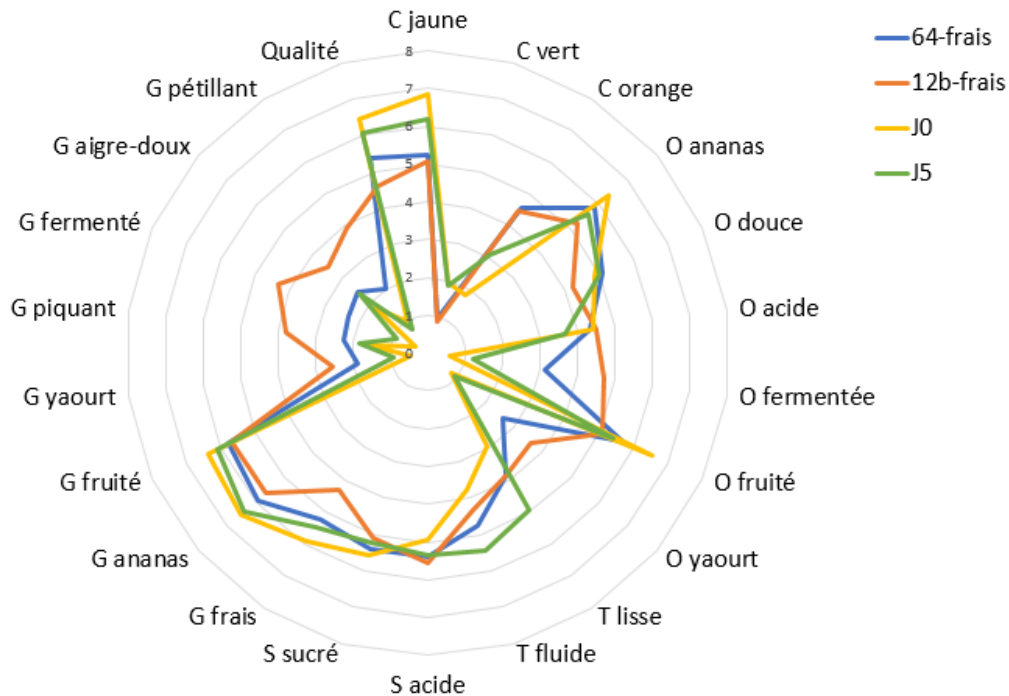


Figure 23 : Profil descriptif sensoriel des jus frais non fermentés et des jus frais fermentés par *W. cibaria* 64 et *Lc. pseudomesenteroides* 12b
 Descripteurs : C : Couleur ; O : Odeur ; T : Texture ; S : Saveur ; G : Goût

Ces résultats confirment bien ceux obtenus dans la publication précédente. Les caractères fermenté, yaourt, piquant et pétillant sont retrouvés tant chez les jus fermentés commerciaux que chez les jus frais fermentés. Le goût piquant et pétillant, produit par l'isolat 12b a sans doute pour origine la production de dioxyde de carbone, donc d'un métabolisme hétéro-fermentaire. Le goût et l'odeur de yaourt, observés pour les jus fermentés par l'isolat 64 proviennent probablement de la synthèse de composés aromatiques pendant la fermentation. Les caractères yaourt, piquant et pétillant peuvent être surprenants pour du jus d'ananas, c'est pourquoi dans l'ensemble les jus fermentés ont été moins appréciés que les jus non fermentés. Cela vient probablement du fait que les membres du jury s'attendaient déjà à du jus d'ananas. En comparant ces produits fermentés à du jus d'ananas, tel qu'ils ont l'habitude de boire, il est évident qu'ils soient moins appréciés. Proposer aux consommateurs ces produits, non sous la forme de jus d'ananas, mais sous la forme de nouvelles boissons à base d'ananas, peut modifier la vision d'ensemble des consommateurs. La dénomination de la boisson est également importante, en la présentant sous forme de jus, on s'attend forcément à du jus. Si

on la présente sous une autre forme, comme « boisson rafraichissante » ou « cocktail sans alcool », on aura ainsi plus de difficultés à imaginer le produit. La formulation du produit est également importante, si on veut le proposer sous forme de smoothie, ou ajouter du lactosérum (pratiquer pour les kéfir de fruits). L'utilisation d'une combinaison de souches au lieu d'une seule souche peut aussi apporter des propriétés intéressantes en maximisant les effets de chacune des souches.

Discussion et perspectives

Des 77 bactéries lactiques isolées, 28 bactéries et 6 souches de référence ont été sélectionnées pour réaliser des boissons fermentées. Des fruits tropicaux et emblématiques de la Réunion (ananas, papaye, mangue) ainsi que des infusions (thé vert et thé noir) ont été choisis comme substrats pour la fermentation lactique. Notre protocole de fermentation impliquait pour les fruits des étapes de lavage, de découpage, de pressage, de pasteurisation. La pasteurisation est indispensable sur ananas pour limiter la croissance de levures au cours de la fermentation et probablement pour limiter l'oxydation des composés phénoliques ou le brunissement enzymatique. Dans notre cas, la pasteurisation n'a entraîné aucun effet négatif sur les propriétés antioxydantes des fruits.

La fermentation du thé noir par les isolats 10b, 12b, 56, 58 et DSM 20193 a provoqué une diminution de la teneur en composés phénoliques mais n'a eu aucun effet sur l'activité antioxydante. Le thé noir est riche en théaflavine et théarubigine, qui sont les formes oxydées et polymérisées des catéchines. Ces composés sont appelés tanins condensés et peuvent être dépolymérisés par une enzyme, la tanase. La dépolymérisation libère donc des molécules et augmente en général la teneur en composés phénoliques. L'hypothèse de dépolymérisation des composés phénoliques pendant la fermentation de thé noir n'est donc a priori pas une hypothèse valable. Nous pensons que d'autres composés phénoliques du thé noir ont été oxydés pendant la fermentation, ce qui limiterait leur réaction avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ces hypothèses peuvent être émises également pour la mangue, où la fermentation a entraîné aussi une diminution de la teneur en composés phénoliques. Cependant, une analyse exacte des composés phénoliques présents dans le thé noir et la mangue après fermentation est nécessaire afin de vérifier ou confirmer ces hypothèses.

Contrairement au thé noir et à la mangue, la fermentation lactique a augmenté significativement la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante des jus d'ananas et de la pulpe de papaye avec plusieurs isolats appartenant aux espèces *W. cibaria*,

Lc. mesenteroides et *Lc. pseudomesenteroides*. Le thé, la mangue, la papaye et l'ananas diffèrent de par leur composition en composés phénoliques. La papaye et l'ananas sont riches en acides hydroxycinnamiques, que l'on ne retrouve pas ou très peu dans le thé et la mangue. Nous pensons que ces types de composés phénoliques sont des substrats préférés par nos isolats.

Parmi les isolats ayant montré une augmentation de l'activité antioxydante, *W. cibaria* 64 et *Lc. pseudomesenteroides* 12b ont montré les propriétés les plus intéressantes. *W. cibaria* 64 a augmenté significativement la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante du jus d'ananas. *Lc. pseudomesenteroides* 12b a augmenté significativement l'activité antioxydante du jus d'ananas ainsi que de la pulpe de papaye, confirmé par les tests de Folin-Ciocalteu, DPPH et ORAC. En revanche, les tests sur cellules *in-vitro* n'ont montré aucune augmentation de l'activité antioxydante. Notre étude est la première à décrire les espèces *W. cibaria* et *Lc. pseudomesenteroides* comme étant capables d'augmenter l'activité antioxydante de fruits.

Ainsi, ces deux isolats ont été choisis pour une étude plus poussée de la qualité organoleptique et sanitaire du jus fermenté produit. Les jus fermentés par ces deux souches se conservent à 4°C pendant plus de 16 jours sans altération ni modification des propriétés antioxydantes. Au bout de 16 jours, le pH des jus fermentés par *W. cibaria* 64 et *Lc. pseudomesenteroides* 12b est de $4,04 \pm 0,02$ et $3,55 \pm 0,02$, respectivement. Nous pensons que l'augmentation du pH par l'isolat 64 est dû à la décarboxylation des acides malique et citrique, présents dans le jus d'ananas. Au cours de la fermentation, ces deux isolats produisent des molécules aromatiques, qui restent cependant encore à déterminer. Le jus fermenté par *W. cibaria* 64 est caractérisé par une odeur et un goût de yaourt alors que le jus fermenté par *Lc. pseudomesenteroides* 12b est caractérisé par un goût piquant et pétillant. Ces caractéristiques organoleptiques sont également retrouvées lorsque du jus frais d'ananas Victoria est fermenté par ces isolats. L'augmentation de l'activité antioxydante et la production de molécules aromatiques pendant la fermentation lactique d'une part et l'augmentation du pH et de la teneur en sucres réducteurs au cours de la conservation d'autre part, justifient une analyse exacte des molécules présentes dans le jus d'ananas fermenté.

Discussion et perspectives générales

La surface des fruits et des légumes est riche en microflore et les bactéries lactiques y sont classiquement rencontrées, bien que minoritaires. La modulation des conditions environnementales par la préparation des matières premières permet d'initier les fermentations de fruits et de légumes. La fermentation lactique, grâce aux propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques, améliore les propriétés sanitaires, organoleptiques et nutritionnelles des fruits et des légumes. La caractérisation des bactéries lactiques présentes à la surface des fruits et des légumes est un bon moyen pour rechercher des bactéries possédant de telles propriétés bénéfiques.

Ainsi, ces travaux de thèse ont visé deux principaux objectifs :

- Caractériser la flore bactérienne lactique présente à la surface de fruits et de légumes cultivés à la Réunion, en particulier les espèces du genre *Weissella*, connues pour être présentes à la surface de fruits et de légumes et impliquées dans des fermentations spontanées, mais encore relativement peu étudiées.
- Inventer des produits fermentés à partir de fruits tropicaux, afin d'en augmenter les bénéfices nutritionnels, d'allonger leur durée de conservation, et de proposer de nouveaux goûts aux consommateurs.

Les fruits et les légumes sont soumis à de nombreux stress physiologiques (aléas climatiques, agression, récolte, variations de température, chocs mécaniques). Ainsi, les microorganismes présents à leur surface doivent s'adapter à ces changements. Les bactéries lactiques sont capables de s'adapter à une multitude d'environnements et sont caractérisées par une grande diversité de métabolismes. Ainsi, nous pensons que la surface des fruits et des légumes pourrait constituer un réservoir naturel d'une grande diversité de bactéries lactiques. Ce projet de recherche a permis d'apporter quelques éléments de réponse à cette hypothèse. Ainsi, 77 bactéries lactiques ont été isolées de papayes, de tomates et d'achards de la Réunion. Nous avons obtenu une grande diversité d'isolats : *Lc. pseudomesenteroides* (25), *Lc. mesenteroides* (7), *Lc. citreum* (14), *Lc. lactis* (1), *L. lactis* (13), *W. cibaria* (4), *W. confusa* (4), *W. soli* (1), *W. paramesenteroides* (1), *Lb. plantarum* (3), *Lb. paraplantarum* (2), *Lb. paralimentarius/kimchii* (1) et *Fb. tropaeoli* (1). Pour certaines espèces, un seul isolat a été obtenu, et ces espèces font partie des espèces les plus rarement retrouvées à la surface des fruits et des légumes. L'analyse génétique par la méthode (GTG)₅ a montré une grande variété

de profils génétiques, et ce au sein d'une même espèce. Ceci peut s'expliquer par des mécanismes d'adaptation à cette niche écologique, conséquence de mutations ou de transferts de gènes [148]. Une étude comparative des génomes de nos isolats avec ceux de souches provenant d'autres environnements serait un moyen efficace pour confirmer cette hypothèse. Des isolats aux profils génétiques différents ont été choisis pour caractérisation phénotypique en termes de conditions de culture : rendement et taux de croissance, tolérance à différents stress environnementaux, production d'EPS, tolérance aux sels biliaries. Parmi les bactéries lactiques, les genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* sont les plus décrits et les plus étudiés. Cette attraction vient du fait que certaines bactéries de ces genres, en particulier *Lb. plantarum* et *L. lactis* sont consommées depuis des siècles, domestiquées, et exercent des actions bénéfiques sur l'organisme humain en tant que probiotique. Nous avons souhaité avec ces travaux de recherche, focaliser notre attention sur les espèces du genre *Weissella*, qui selon nous peuvent receler un certain nombre de propriétés intéressantes pour l'élaboration d'aliments fermentés. Les espèces *W. cibaria* et *W. confusa* sont retrouvées dans de nombreux fruits et légumes fermentés, où elles participent à la fermentation avec d'autres espèces des genres *Leuconostoc* et *Lactobacillus* [149]. Notre travail a confirmé la production d'exopolysaccharides par les isolats *W. cibaria* et *W. confusa* comme reportée dans la littérature [150–153]. En plus de leur forte tolérance aux stress environnementaux, ces isolats ont montré une vitesse de croissance élevée et une capacité de croissance à 42-45°C, tout comme les isolats de *Lactobacillus*. Plusieurs isolats comme *W. cibaria* 64, 30, *W. confusa* 59, *Lc. pseudomesenteroides* 60 et *Lb. plantarum* 75 se sont avérés être les plus résistants aux stress environnementaux. Ces résultats démontrent le potentiel technologique de souches du genre *Weissella* et ont permis de mieux connaître la diversité au sein de quelques espèces. Ainsi, nos résultats montrent que les espèces *W. cibaria* et *W. confusa* comportent des souches potentielles pour l'élaboration d'aliments fermentés. Il serait intéressant de vérifier la synthèse de bactériocine par ces isolats, car certaines souches de *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. paramesenteroides* et *W. hellenica* sont capables de produire des bactériocines, appelées Weissellicines [154–157]. Certains de nos isolats de *Lc. pseudomesenteroides* ont montré des propriétés particulières : l'isolat 60 a montré un profil d'adaptation et de croissance similaire aux isolats *Weissella* et *Lactobacillus*, et l'isolat 12b s'est révélé être le plus tolérant aux sels biliaries (0,1 %). L'isolat *W. paramesenteroides* 37 a également montré une bonne tolérance aux sels biliaries. La tolérance aux sels biliaries représente l'une des caractéristiques recherchées pour la sélection de probiotiques. Mais de nombreux autres critères sont

essentiels. Ainsi, il serait essentiel de vérifier que nos isolats ne possèdent pas de gènes de résistance aux antibiotiques et vérifier *in vitro* leur adhérence à des cellules intestinales. L'isolat *Fb. tropaeoli* 77 a été le plus tolérant à une condition de stress oxydant. L'espèce *Fb. tropaeoli* est très peu étudiée, elle a été décrite pour la première fois en 2011 [133] et a été isolée à la suite d'une fermentation spontanée de cacao, avec une souche de *W. fabalis* [158]. Il est intéressant de noter que les genres *Weissella*, *Leuconostoc* et *Fructobacillus* appartiennent à la même famille des *Leuconostocaceae*, et qu'avant d'être classés dans ces genres, certaines espèces de *Weissella* et de *Fructobacillus* étaient classées dans le genre *Leuconostoc*. D'après notre étude, certaines souches de ces genres constitueraient des starters potentiels pour la fermentation de fruits et de légumes, possédant des propriétés intéressantes que l'on ne retrouve pas forcément chez d'autres espèces.

L'utilisation de starters est la voie que nous avons envisagée pour la conception d'un produit fermenté riche en fruits et/ou légumes, en antioxydants et apportant des propriétés nutritionnelles et organoleptiques intéressantes. Nous avons testé la fermentation de différents substrats, à savoir ananas, mangue, papaye et thé, par nos isolats. La fermentation du thé et de la mangue a conduit à une diminution de la teneur en composés phénoliques par certains de nos isolats. Les mécanismes conduisant à cette diminution restent encore à être élucidés et nous pensons que certains composés phénoliques ont pu être oxydés pendant la fermentation, car l'activité antioxydante est restée constante. La fermentation lactique de quatre jus de fruits tropicaux (mangue, carambole, goyave, pitaya) par une combinaison de souches (*Lb. casei*, *Sc. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*) a récemment été reportée [159]. Les bactéries ont montré une très bonne croissance dans les jus de mangue et de goyave. Cependant, la teneur en composés phénoliques n'a pas été déterminée mais les jus ont été fortement appréciés. Il serait intéressant de tester nos isolats sur du jus de mangue et non de la pulpe de mangue.

Notre étude nous montre une toute autre tendance pour les jus d'ananas et la pulpe de papaye. Une augmentation de la teneur en composés phénoliques ainsi que de l'activité antioxydante par plusieurs isolats *W. cibaria*, *Lc. mesenteroides* et *Lc. pseudomesenteroides* a ainsi été observée. Parmi ces isolats, deux ont montré les propriétés les plus intéressantes (augmentation de la teneur en composés phénoliques et de l'activité antioxydante) sur du jus d'ananas : *W. cibaria* 64 et *Lc. pseudomesenteroides* 12b. L'augmentation de la teneur en composés phénoliques pendant la fermentation serait principalement due à la dépolymérisation de composés phénoliques, augmentant ainsi la biodisponibilité de certains composés ce qui est responsable de l'augmentation de l'activité antioxydante [8].

L'augmentation de l'activité antioxydante pourrait être amplifiée par un traitement préalable de la matière première. Par exemple, des traitements d'extraction, comme les ultrasons, les hautes pressions ou les champs électriques pulsés, permettent à la fois de libérer des composés phénoliques et des caroténoïdes et de pasteuriser à froid la matière première. La composition en composés phénoliques du jus d'ananas et de la papaye présente des caractéristiques communes, ces substrats sont riches en acides hydroxycinnamiques (acide férulique, acide *p*-coumarique, acide caféique) et en leurs dérivés glycosidiques [135,141]. Cette composition commune suggère que *W. cibaria* 64 et *Lc. pseudomesenteroides* 12b sont capables de métaboliser ces types de composés phénoliques et nous renseigne sur les enzymes potentiellement impliquées. Ainsi, nous pensons que ces isolats possèderaient les enzymes β -glucosidase, féruloylestérase et PAD, qui seraient à l'origine de la libération de nouveaux composés. La β -glucosidase hydrolyserait les liaisons β -glycosidiques présentes dans les dérivés glycosidiques, entraînant ainsi la libération d'unité glucose (ou autres sucres) et les acides hydroxycinnamiques. L'acide férulique peut être également libéré par la féruloylestérase à partir d'esters d'acides féruliques. De plus, les acides hydroxycinnamiques peuvent être décarboxylés par la PAD en leurs dérivés vinyl (**Figure 24**). La comparaison de la composition des jus fermentés et non fermentés par des outils de métabolomique permettrait de mieux comprendre comment l'activité antioxydante est modulée par l'action des bactéries lactiques. Cette étude serait un préalable pour étudier l'expression de gènes et l'activité d'enzymes impliquées dans ces changements.

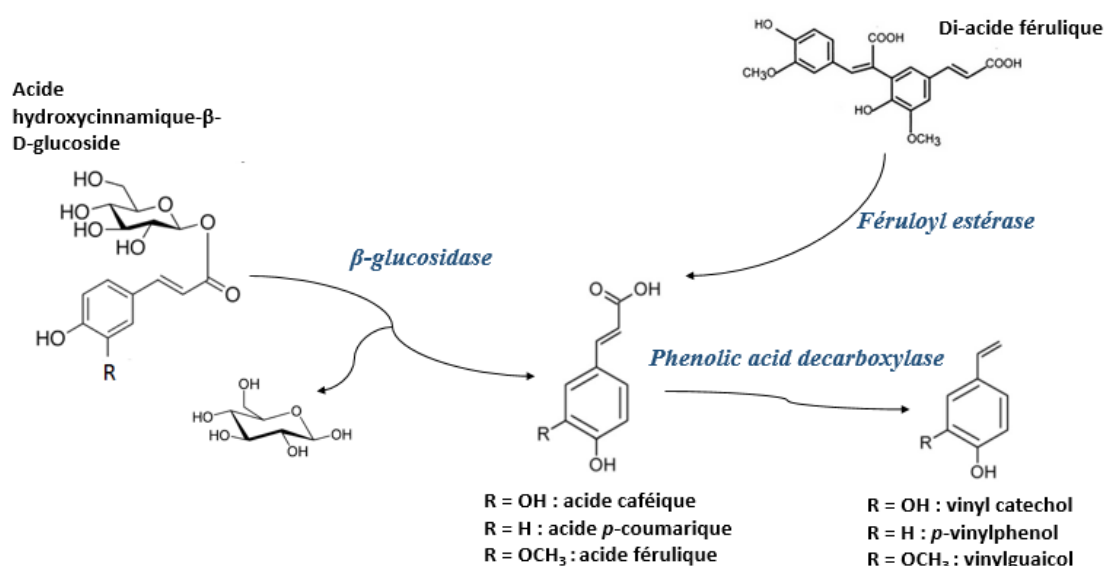


Figure 24: Métabolisme enzymatique potentiellement impliqué dans la libération de composés phénoliques au cours de la fermentation lactique de jus d'ananas

En parallèle des effets sur l'activité antioxydante, la diminution de la teneur en sucres dans le produit constitue un véritable ajout en terme de qualité nutritionnelle notamment pour les personnes diabétiques. Afin de mieux détailler les effets santé de nos jus fermentés, il nous sera nécessaire de les tester sur des modèles de cultures cellulaires soumis à des conditions d'hyperglycémie ou de stress oxydatif. Des études chez l'animal (modèles animaux de diabète) et nutritionnelle chez l'homme lors d'étude de supplémentation, permettrait de préciser le bénéfice de ces boissons dans le cadre de la lutte contre le diabète et l'obésité.

Dans notre étude, nous avons utilisé les starters de façon indépendante. Une autre piste à explorer serait la combinaison de souches dans l'objectif de maximiser leurs effets. Toutefois, le résultat serait difficilement prédictible du fait des interactions possibles entre souches.

Le goût piquant et pétillant détecté dans le jus fermenté par la souche 12b est certainement dû à un métabolisme hétéro-lactique, avec la production de dioxyde de carbone. La synthèse de molécules aromatiques par ces deux isolats indique une autre voie possible de métabolisation, en particulier pour l'odeur et le goût de yaourt détectés avec la souche 64. Plusieurs composés aromatiques présents dans le yaourt ont été décrits : l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acide propanoïque, l'acide acétique, l'acétone, l'acétoïne, l'acide formique, le benzaldéhyde, le diméthyle sulfide et la 2,3-pentanedione [160]. Certaines de ces molécules pourraient être à l'origine de l'odeur et du goût de yaourt détectés dans le jus fermenté par la souche 64.

Selon les acides organiques présents, le goût peut également se retrouver modifié. L'acide lactique, par exemple possède une acidité plus faible que l'acide malique, et la conversion de l'acide malique en acide lactique se traduit par un goût plus sucré en bouche [161].

Les analyses organoleptiques ont montré que les jus fermentés étaient un peu moins appréciés que les jus non fermentés. Des travaux complémentaires de formulation, avec d'autres ingrédients ou par la préparation de smoothies qui conservent les fibres du fruit, sont à présent nécessaires pour aboutir à une boisson très appréciée. Au-delà, l'étude de la perception des consommateurs et des déterminants de l'acte d'achat pour de telles boissons innovantes constituerait un réel plus à nos travaux.

Ainsi ces travaux de thèse ont montré les capacités de certaines espèces de *Weissella*, *Leuconostoc*, *Fructobacillus* et *Lactobacillus* pour des applications sur fruits et légumes. Certaines peuvent être applicables en tant que starters pour la fermentation de fruits et de légumes (64, 30, 60, 75), d'autres en tant que probiotiques (37, 12b, 75), d'autres en tant que cultures en biopréservation (58, 77) et d'autres pour l'obtention d'aliments fonctionnels (64, 12b).

Références bibliographiques

- [1] Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 2015;97:55–74. doi:10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
- [2] Liu RH. Health-Promoting Components of Fruits and Vegetables in the Diet. *Adv Nutr* 2013;4:384S–392S. doi:10.3945/an.112.003517.convenient.
- [3] Observatoire Régional de la Santé. Le diabète à la Réunion. Tableau Bord Sur Le Diabète À La Réunion 2015.
- [4] Patras A, Brunton NP, Da Pieve S, Butler F. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2009;10:308–13. doi:10.1016/j.ifset.2008.12.004.
- [5] Zhang D, Hamauzu Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chem* 2004;88:503–9. doi:10.1016/j.foodchem.2004.01.065.
- [6] Paul Ross R, Morgan S, Hill C. Preservation and fermentation: Past, present and future. *Int J Food Microbiol* 2002;79:3–16. doi:10.1016/S0168-1605(02)00174-5.
- [7] Di Cagno R, Minervini G, Rizzello CG, De Angelis M, Gobbetti M. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiol* 2011;28:1062–71. doi:10.1016/j.fm.2011.02.011.
- [8] Hur SJ, Lee SY, Kim Y-C, Choi I, Kim G-B. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chem* 2014;160:346–56. doi:10.1016/j.foodchem.2014.03.112.
- [9] Di Cagno R, Coda R, De Angelis M, Gobbetti M. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol* 2013;33:1–10. doi:10.1016/j.fm.2012.09.003.
- [10] Buckenhüskes HJ. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as cultures for various food commodities. *FEMS Microbiol Rev* 1993;12:253–72. doi:10.1111/j.1574-6976.1993.tb00022.x.
- [11] Holzapfel W. Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control* 1997;8:241–58. doi:10.1016/S0956-7135(97)00017-0.
- [12] Leroy F, De Vuyst L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci Technol* 2004;15:67–78. doi:10.1016/j.tifs.2003.09.004.
- [13] Montet D, Ray R, Zakhia-Rozis N. Lactic acid fermentation of vegetables and fruits. *Ferment ...* 2014.
- [14] Tamang JP, Watanabe K, Holzapfel WH. Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Front Microbiol* 2016;7:377. doi:10.3389/fmicb.2016.00377.
- [15] Absolonne J, Sirjacobs F, Guggenbühl N, Colin N. La Pyramide Alimentaire ou quand les nutriments deviennent réalité. *Heal Food* 1998.
- [16] Kleiner SM. Water: An essential but overlooked nutrient. *J Am Diet Assoc* 1999;99:200–6. doi:10.1016/S0002-8223(99)00048-6.
- [17] Soetan KO, Olaiya CO, Oyewole OE. The importance of mineral elements for humans , domestic animals and plants : A review. *African J Food Sci* 2010;4:200–22. doi:10.1186/s12302-017-0116-y.
- [18] Slavin J, Lloyd B. Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Adv Nutr* 2012;3:506–16. doi:10.3945/an.112.002154.506.

- [19] Mudgil D, Barak S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *Int J Biol Macromol* 2013;61:1–6. doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044.
- [20] Leblanc JG, Laiño JE, del Valle MJ, Vannini V, van Sinderen D, Taranto MP, et al. B-Group vitamin production by lactic acid bacteria - current knowledge and potential applications. *J Appl Microbiol* 2011;111:1297–309. doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05157.x.
- [21] Christakos S, Ajibade D, Dhawan P, Fechner A, Mady L. Vitamin D: Metabolism. *Endocrinol Metab* 2011;39:243–53. doi:10.1016/j.ecl.2010.02.002.Vitamin.
- [22] Basli A, Belkacem N, Amrani I. Health Benefits of Phenolic Compounds Against Cancers. *Phenolic Compd. - Biol. Act., InTech*; 2017. doi:10.5772/67232.
- [23] Esteban-Torres M, Reverón I, Mancheño JM, de Las Rivas B, Muñoz R. Characterization of a feruloyl esterase from *Lactobacillus plantarum*. *Appl Environ Microbiol* 2013;79:5130–6. doi:10.1128/AEM.01523-13.
- [24] Haminiuk CWI, Maciel GM, Plata-Oviedo MS V., Peralta RM. Phenolic compounds in fruits - an overview. *Int J Food Sci Technol* 2012;47:2023–44. doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x.
- [25] Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients* 2014;6:466–88. doi:10.3390/nu6020466.
- [26] Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997;82:291–5. doi:10.1113/expphysiol.1997.sp004024.
- [27] Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome - A new worldwide definition. *Lancet* 2005;366:1059–62. doi:10.1016/S0140-6736(05)67402-8.
- [28] Huang PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Dis Model Mech* 2009;2:231–7. doi:10.1242/dmm.001180.
- [29] Grundy SM, Brewer HB, Cleeman JI, Smith SC, Lenfant C. Definition of Metabolic Syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation* 2004;109:433–8. doi:10.1161/01.CIR.0000111245.75752.C6.
- [30] Ando K, Fujita T. Metabolic syndrome and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2009;47:213–8. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.030.
- [31] McGovern PE, Zhang J, Tang J, Zhang Z, Hall GR, Moreau RA, et al. Fermented beverages of pre- and proto-historic China. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:17593–8. doi:10.1073/pnas.0407921102.
- [32] Breidt F, Mcfeeters RF, Lee C. Fermented Vegetables. *Food Microbiol Fundam Front* 2013;27603:841–55. doi:10.1128/9781555818463.ch33.
- [33] Ray RC, Joshi VK. Fermented foods: past, present and future 2014:1–36. doi:10.13140/2.1.1849.8241.
- [34] Gest H. The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni van Leeuwenhoek, Fellows of The Royal Society. *Notes Rec R Soc* 2004;58:187–201. doi:10.1098/rsnr.2004.0055.
- [35] Tiwari U, Cummins E. Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Res Int* 2013;50:497–506. doi:10.1016/j.foodres.2011.09.007.
- [36] Dewanto V, Xianzhong W, Adom KK, Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 2002;50:3010–4. doi:10.1021/jf0115589.
- [37] Dueñas M, Fernández D, Hernández T, Estrella I, Muñoz R. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. *J Sci Food Agric*

- 2005;85:297–304. doi:10.1002/jsfa.1924.
- [38] Di Cagno R, Surico RF, Paradiso A, De Angelis M, Salmon J-C, Buchin S, et al. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. *Int J Food Microbiol* 2009;128:473–83. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.017.
- [39] Filannino P, Azzi L, Cavoski I, Vincentini O, Rizzello CG, Gobbetti M, et al. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. *Int J Food Microbiol* 2013;163:184–92. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.03.002.
- [40] Di Cagno R, Surico RF, Siragusa S, De Angelis M, Paradiso A, Minervini F, et al. Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. *Int J Food Microbiol* 2008;127:220–8. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.010.
- [41] Marazza JA, Nazareno MA, de Giori GS, Garro MS. Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus*. *J Funct Foods* 2012;4:594–601. doi:10.1016/j.jff.2012.03.005.
- [42] Jung JY, Lee SH, Jeon CO. Kimchi microflora: history, current status, and perspectives for industrial kimchi production. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014:1–9. doi:10.1007/s00253-014-5513-1.
- [43] Park KY, Jeong JK. Kimchi (Korean Fermented Vegetables) as a Probiotic Food. *Probiotics, Prebiotics, Synbiotics Bioact Foods Heal Promot* 2015;17:391–408. doi:10.1016/B978-0-12-802189-7.00026-5.
- [44] Jayabalan R, Malbaša R V., Lončar ES, Vitas JS, Sathishkumar M. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2014;13:538–50. doi:10.1111/1541-4337.12073.
- [45] Dufresne C, Farnworth E. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Res Int* 2000;33:409–21. doi:10.1016/S0963-9969(00)00067-3.
- [46] Faria-oliveira F, Diniz RHS, Godoy-santos F, Piló FB, Mezadri H, Castro IM, et al. The Role of Yeast and Lactic Acid Bacteria in the Production of Fermented Beverages in South America. *Food Prod Ind* 2015:194. doi:10.5772/60877.
- [47] Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg N, Ludwig W. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes* 2011.
- [48] Felis G, Salvetti S, Torriani S. *Systematics of Lactic Acid Bacteria: Current Status*. *Biotechnol Lact Acid Bact Nov* 2015.
- [49] Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Ann Biol ...* 2010;1:218–28.
- [50] Zannini E, Waters DM, Coffey A, Arendt EK. Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol* 2016;100:1121–35. doi:10.1007/s00253-015-7172-2.
- [51] Ruas-Madiedo P, Hugenholtz J, Zoon P. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int Dairy J* 2002;12:163–71. doi:10.1016/S0958-6946(01)00160-1.
- [52] Duboc P, Mollet B. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *Int Dairy J* 2001;11:759–68. doi:10.1016/S0958-6946(01)00119-4.
- [53] JB Prajapat AP. Food and Health Applications of Exopolysaccharides produced by Lactic acid Bacteria. *Adv Dairy Res* 2013;1. doi:10.4172/2329-888X.1000107.
- [54] Zhang L, Liu C, Li D, Zhao Y, Zhang X, Zeng X, et al. Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *Int J Biol Macromol* 2013;54:270–5. doi:10.1016/j.ijbiomac.2012.12.037.

- [55] Liu C-F, Tseng K-C, Chiang S-S, Lee B-H, Hsu W-H, Pan T-M. Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus* exopolysaccharides. *J Sci Food Agric* 2011;91:2284–91. doi:10.1002/jsfa.4456.
- [56] Pan D, Mei X. Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. *Carbohydr Polym* 2010;80:908–14. doi:10.1016/j.carbpol.2010.01.005.
- [57] Vesković Moračanin SM, Dukić DA, Memiši NR. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria - A review. *Acta Period Technol* 2014;45:271–83. doi:10.2298/APT1445271V.
- [58] Cleveland J, Montville TJ, Nes IF, Chikindas ML. Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int J Food Microbiol* 2001;71:1–20. doi:10.1016/S0168-1605(01)00560-8.
- [59] Šušković J, Kos B, Beganović J, Pavunc AL, Habjanič K, Matoć S. Antimicrobial activity - The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technol Biotechnol* 2010;48:296–307. doi:10.1128/MMBR.67.3.429.
- [60] Piard JC, Desmazeaud M. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait* 1991;71:525–41. doi:10.1051/lait:1991541.
- [61] Lanciotti R, Patrignani F, Bagnolini F, Guerzoni ME, Gardini F. Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiol* 2003;20:537–43. doi:10.1016/S0740-0020(02)00159-4.
- [62] Di Cagno R, Filannino P, Vincentini O, Lanera A, Cavoski I, Gobbetti M. Exploitation of *Leuconostoc mesenteroides* strains to improve shelf life, rheological, sensory and functional features of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruit puree. *Food Microbiol* 2016;59:176–89. doi:10.1016/j.fm.2016.06.009.
- [63] Leroi F, Cornet J, Chevalier F, Cardinal M, Coeuret G, Chaillou S, et al. Selection of bioprotective cultures for preventing cold-smoked salmon spoilage. *Int J Food Microbiol* 2015;213:79–87. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.005.
- [64] Ghanbari M, Jami M, Domig KJ, Kneifel W. Seafood biopreservation by lactic acid bacteria - A review. *LWT - Food Sci Technol* 2013;54:315–24. doi:10.1016/j.lwt.2013.05.039.
- [65] Soetan KO, Oyewole OE. The need for adequate processing to reduce the anti-nutritional factors in plants used as human foods and animal feeds: A review. *African J Food Sci* 2009;3:223–32.
- [66] Reale A, Konietzny U, Coppola R, Sorrentino E, Greiner R. The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. *J Agric Food Chem* 2007;55:2993–7. doi:10.1021/jf063507n.
- [67] De Angelis M, Gallo G, Corbo MR, McSweeney PLH, Faccia M, Giovine M, et al. Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: Purification and characterization of a phytase from *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. *Int J Food Microbiol* 2003;87:259–70. doi:10.1016/S0168-1605(03)00072-2.
- [68] Refstie S, Sahlström S, Bråthen E, Baeverfjord G, Krogedal P. Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 2005;246:331–45. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.01.001.
- [69] Reale A, Mannina L, Tremonte P, Sobolev AP, Succi M, Sorrentino E, et al. Phytate degradation by lactic acid bacteria and yeasts during the wholemeal dough fermentation: A ³¹P NMR study. *J Agric Food Chem* 2004;52:6300–5. doi:10.1021/jf049551p.

- [70] Nambisan B. Strategies for elimination of cyanogens from cassava for reducing toxicity and improving food safety. *Food Chem Toxicol* 2011;49:690–3. doi:10.1016/j.fct.2010.10.035.
- [71] Kostinek M, Specht I, Edward VA, Pinto C, Egounlety M, Sossa C, et al. Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. *Int J Food Microbiol* 2007;114:342–51. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.029.
- [72] Kobawila SC, Louembe D, Keleke S, Hounhouigan J, Gamba C. Reduction of the cyanide content during fermentation of cassava roots and leaves to produce bikedi and ntoba mbodi, two food products from Congo. *African J Biotechnol* 2005;4:689–96. doi:10.5897/AJB2005.000-3128.
- [73] Lei V, Amoah-Awua WKA, Brimer L. Degradation of cyanogenic glycosides by *Lactobacillus plantarum* strains from spontaneous cassava fermentation and other microorganisms. *Int J Food Microbiol* 1999;53:169–84. doi:10.1016/S0168-1605(99)00156-7.
- [74] Serrano J, Puupponen-Pimiä R, Dauer A, Aura AM, Saura-Calixto F. Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol Nutr Food Res* 2009;53:310–29. doi:10.1002/mnfr.200900039.
- [75] Smid EJ, Kleerebezem M. Production of aroma compounds in lactic fermentations. *Annu Rev Food Sci Technol* 2014;5:313–26. doi:10.1146/annurev-food-030713-092339.
- [76] Juvonen R, Honkapää K, Maina NH, Shi Q, Viljanen K, Maaheimo H, et al. The impact of fermentation with exopolysaccharide producing lactic acid bacteria on rheological, chemical and sensory properties of pureed carrots (*Daucus carota* L.). *Int J Food Microbiol* 2015;207:109–18. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.031.
- [77] Lopez HW, Ouvry A, Bervas E, Guy C, Messenger A, Demigne C, et al. Strains of lactic acid bacteria isolated from sour doughs degrade phytic acid and improve calcium and magnesium solubility from whole wheat flour. *J Agric Food Chem* 2000;48:2281–5. doi:10.1021/jf0000061g.
- [78] Rekha CR, Vijayalakshmi G. Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. *J Appl Microbiol* 2010;109:1198–208. doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04745.x.
- [79] Proulx AK, Reddy MB. Fermentation and lactic acid addition enhance iron bioavailability of maize. *J Agric Food Chem* 2007;55:2749–54. doi:10.1021/jf0630015.
- [80] Capozzi V, Russo P, Vasco P, Herriko E. Lactic acid bacteria producing B-group vitamins: A great potential for functional cereals products Lactic acid bacteria producing B-group vitamins: a great potential for functional cereals products 2017. doi:10.1007/s00253-012-4440-2.
- [81] Reddy G, Altaf M, Naveena BJ, Venkateshwar M, Kumar EV. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation - A review. *Biotechnol Adv* 2008;26:22–34. doi:10.1016/j.biotechadv.2007.07.004.
- [82] Flint HJ. The impact of nutrition on the human microbiome. *Nutr Rev* 2012;70. doi:10.1111/j.1753-4887.2012.00499.x.
- [83] Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, Louis P, Forano E. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut 2012:289–306.
- [84] Klaenhammer TR, Kullen MJ. Selection and design of probiotics. *Int J Food Microbiol* 1999;50:45–57. doi:10.1016/S0168-1605(99)00076-8.
- [85] Rodríguez H, Curiel JA, Landete JM, de las Rivas B, de Felipe FL, Gómez-Cordovés C, et al. Food phenolics and lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 2009;132:79–90.

- doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.025.
- [86] Yao J, Guo GS, Ren GH, Liu YH. Production, characterization and applications of tannase. *J Mol Catal B Enzym* 2014;101:137–47. doi:10.1016/j.molcatb.2013.11.018.
- [87] Fazary AE, Ju Y-H. Feruloyl Esterases as Biotechnological Tools: Current and Future Perspectives. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2007;39:811–28. doi:10.1111/j.1745-7270.2007.00348.x.
- [88] Curiel JA, Rodríguez H, Landete JM, de las Rivas B, Muñoz R. Ability of *Lactobacillus brevis* strains to degrade food phenolic acids. *Food Chem* 2010;120:225–9. doi:10.1016/j.foodchem.2009.10.012.
- [89] Zhao D, Shah NP. Lactic acid bacterial fermentation modified phenolic composition in tea extracts and enhanced their antioxidant activity and cellular uptake of phenolic compounds following in vitro digestion. *J Funct Foods* 2016;20:182–94. doi:10.1016/j.jff.2015.10.033.
- [90] Filannino P, Bai Y, Di Cagno R, Gobbetti M, Ga'nzle MG. Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus* spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree. *Food Microbiol* 2015;46:272–9. doi:10.1016/j.fm.2014.08.018.
- [91] Donaghy J, Kelly PF, McKay a M. Detection of ferulic acid esterase production by *Bacillus* spp. and lactobacilli. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998;50:257–60.
- [92] van de Guchte M, Serror P, Chervaux C, Smokvina T, Ehrlich SD, Maguin E. Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002;82:187–216. doi:10.1023/A:1020631532202.
- [93] Di Cagno R, Cardinali G, Minervini G, Antonielli L, Rizzello CG, Ricciuti P, et al. Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing. *Food Microbiol* 2010;27:381–9. doi:10.1016/j.fm.2009.11.012.
- [94] Papamanoli E, Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki E, Kotzekidou P. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci* 2003;65:859–67. doi:10.1016/S0309-1740(02)00292-9.
- [95] Lee KW, Park JY, Jeong HR, Heo HJ, Han NS, Kim JH. Probiotic properties of *Weissella* strains isolated from human faeces. *Anaerobe* 2012;18:96–102. doi:10.1016/j.anaerobe.2011.12.015.
- [96] García-Ruiz A, Moreno-Arribas MV, Martín-Álvarez PJ, Bartolomé B. Comparative study of the inhibitory effects of wine polyphenols on the growth of enological lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 2011;145:426–31. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.016.
- [97] Leff JW, Fierer N. Bacterial Communities Associated with the Surfaces of Fresh Fruits and Vegetables. *PLoS One* 2013;8:1–9. doi:10.1371/journal.pone.0059310.
- [98] Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Viñas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int J Food Microbiol* 2008;123:121–9. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013.
- [99] Wouters D, Grosu-Tudor S, Zamfir M, De Vuyst L. Bacterial community dynamics, lactic acid bacteria species diversity and metabolite kinetics of traditional Romanian vegetable fermentations. *J Sci Food Agric* 2013;93:749–60. doi:10.1002/jsfa.5788.
- [100] Tamang B, Tamang JP. In situ fermentation dynamics during production of gundruk and khalpi, ethnic fermented vegetable products of the Himalayas. *Indian J Microbiol* 2010;50:93–8. doi:10.1007/s12088-010-0058-1.
- [101] Nychas GJE, Panagou EZ, Parker ML, Waldron KW, Tassou CC. Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Lett Appl Microbiol* 2002;34:173–7. doi:10.1046/j.1472-

765x.2002.01077.x.

- [102] Chang H-W, Kim K-H, Nam Y-D, Roh SW, Kim M-S, Jeon CO, et al. Analysis of yeast and archaeal population dynamics in kimchi using denaturing gradient gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol* 2008;126:159–66. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.013.
- [103] Swain MR, Anandharaj M, Ray RC, Praveen Rani R. Fermented Fruits and Vegetables of Asia: A Potential Source of Probiotics. *Biotechnol Res Int* 2014;2014:1–19. doi:10.1155/2014/250424.
- [104] Sánchez I, Palop L, Ballesteros C. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of “Almagro” eggplants. *Int J Food Microbiol* 2000;59:9–17. doi:10.1016/S0168-1605(00)00256-7.
- [105] Escalante-Minakata P, Blaschek HP, Barba De La Rosa a. P, Santos L, De León-Rodríguez a. Identification of yeast and bacteria involved in the mezcal fermentation of *Agave salmiana*. *Lett Appl Microbiol* 2008;46:626–30. doi:10.1111/j.1472-765X.2008.02359.x.
- [106] Cho J, Lee D, Yang C, Jeon J, Kim J, Han H. Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol Lett* 2006;257:262–7. doi:10.1111/j.1574-6968.2006.00186.x.
- [107] Lan WT, Chen Y-S, Yanagida F. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Yan-dong-gua (fermented wax gourd), a traditional fermented food in Taiwan. *J Biosci Bioeng* 2009;108:484–7. doi:10.1016/j.jbiosc.2009.06.009.
- [108] Chen Y-S, Wu HC, Pan SF, Lin BG, Lin YH, Tung WC, et al. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from yan-taozih (pickled peaches) in Taiwan. *Ann Microbiol* 2013;63:607–14. doi:10.1007/s13213-012-0510-z.
- [109] Chen YS, Wu H, Lo H, Lin W, Hsu W, Lin C, et al. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from jiang-gua (fermented cucumbers), a traditional fermented food in Taiwan. *J Sci Food Agric* 2012;92:2069–75. doi:10.1002/jsfa.5583.
- [110] Chen Y-S, Wu H chung, Wang C mei, Lin C chun, Chen Y ting, Jhong Y jyun, et al. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from pobuzihi (fermented *cunningcordia*), a traditional fermented food in Taiwan. *Folia Microbiol (Praha)* 2013;58:103–9. doi:10.1007/s12223-012-0188-4.
- [111] Yuliana N, Dizon EI. Phenotypic Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tempoyak (Fermented Durian) Made in the Philippines. *Int J Biol* 2011;3:145–52. doi:10.5539/ijb.v3n2p145.
- [112] Chang C huan, Chen Y-S, Yanagida F. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from yan-jiang (fermented ginger), a traditional fermented food in Taiwan. *J Sci Food Agric* 2011;91:1746–50. doi:10.1002/jsfa.4364.
- [113] Chen Y-S, Liou MS, Ji SH, Yu CR, Pan SF, Yanagida F. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Yan-tsai-shin (fermented broccoli stems), a traditional fermented food in Taiwan. *J Appl Microbiol* 2013;115:125–32. doi:10.1111/jam.12199.
- [114] Steinkraus K, Hui Y, Meunier-Goddik L. Origin and history of food fermentations. *FOOD Sci* 2004.
- [115] Shalaby AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res Int* 1996;29:675–90. doi:10.1016/S0963-9969(96)00066-X.
- [116] Gardner NJ, Savard T, Obermeier P, Caldwell G, Champagne CP. Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. *Int J Food Microbiol* 2001;64:261–75. doi:10.1016/S0168-1605(00)00461-X.
- [117] De Castro A, Montaña A, Sánchez AH, Rejano L. Lactic acid fermentation and storage

- of blanched garlic. *Int J Food Microbiol* 1998;39:205–11. doi:10.1016/S0168-1605(98)00003-8.
- [118] Johanningsmeier S, McFeeters RF, Fleming HP, Thompson RL. Effects of *Leuconostoc mesenteroides* starter culture on fermentation of cabbage with reduced salt concentrations. *J Food Sci* 2007;72. doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00372.x.
- [119] Di Cagno R, Surico RF, Minervini G, De Angelis M, Rizzello CG, Gobbetti M. Use of autochthonous starters to ferment red and yellow peppers (*Capsicum annum* L.) to be stored at room temperature. *Int J Food Microbiol* 2009;130:108–16. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.019.
- [120] Di Cagno R, Surico RF, Minervini G, Rizzello CG, Lovino R, Servili M, et al. Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. *Food Microbiol* 2011;28:900–9. doi:10.1016/j.fm.2010.12.008.
- [121] Di Cagno R, Filannino P, Gobbetti M. Lactic acid fermentation drives the optimal volatile flavor-aroma profile of pomegranate juice. *Int J Food Microbiol* 2017;248:56–62. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.014.
- [122] Z Lu, HP Fleming, RF Mcfeeters. Differential Glucose and Fructose Utilization During Cucumber Juice Fermentation. *J Food Sci* 2001;66:162–6. doi:10.1111/j.1365-2621.2001.tb15600.x.
- [123] Sheehan VM, Ross P, Fitzgerald GF. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2007;8:279–84. doi:10.1016/j.ifset.2007.01.007.
- [124] Sharma P, Tomar SK, Goswami P, Sangwan V, Singh R. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Res Int* 2014;57:176–95. doi:10.1016/j.foodres.2014.01.025.
- [125] Tamang JP, Shin D-H, Jung S-J, Chae S-W. Functional Properties of Microorganisms in Fermented Foods. *Front Microbiol* 2016;7:578. doi:10.3389/fmicb.2016.00578.
- [126] Sánchez JI, Martínez B, Guillén R, Jiménez-Díaz R, Rodríguez A. Culture conditions determine the balance between two different exopolysaccharides produced by *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Appl Environ Microbiol* 2006;72:7495–502. doi:10.1128/AEM.01078-06.
- [127] Rodríguez-Carvajal MA, Ignacio S??nchez J, Campelo AB, Mart??nez B, Rodr??guez A, Gil-Serrano AM. Structure of the high-molecular weight exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Carbohydr Res* 2008;343:3066–70. doi:10.1016/j.carres.2008.08.028.
- [128] Torriani S, Felis GE, Dellaglio F. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, and *L. paraplantarum* by recA gene sequence analysis and multiplex PCR assay with recA gene-derived primers. *Appl Environ Microbiol* 2001;67:3450–4. doi:10.1128/AEM.67.8.3450-3454.2001.
- [129] Do Espírito Santo AP, Perego P, Converti A, Oliveira MN. Influence of food matrices on probiotic viability - A review focusing on the fruity bases. *Trends Food Sci Technol* 2011;22:377–85. doi:10.1016/j.tifs.2011.04.008.
- [130] Martins EMF, Ramos AM, Vanzela ESL, Stringheta PC, de Oliveira Pinto CL, Martins JM. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Res Int* 2013;51:764–70. doi:10.1016/j.foodres.2013.01.047.
- [131] O’Sullivan O, O’Callaghan J, Sangrador-Vegas A, McAuliffe O, Slattery L, Kaleta P, et al. Comparative genomics of lactic acid bacteria reveals a niche-specific gene set. *BMC Microbiol* 2009;9:50. doi:10.1186/1471-2180-9-50.
- [132] Björkroth KJ, Schillinger U, Geisen R, Weiss N, Hoste B, Holzapfel WH, et al. Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov.,

- detected in food and clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002;52:141–8. doi:10.1099/00207713-52-1-141.
- [133] Endo A, Irisawa T, Futagawa-Endo Y, Sonomoto K, Itoh K, Takano K, et al. *Fructobacillus tropaeoli* sp. nov., a fructophilic lactic acid bacterium isolated from a flower. *Int J Syst Evol Microbiol* 2011;61:898–902. doi:10.1099/ijs.0.023838-0.
- [134] DAAF. Panorama des industries agroalimentaires à La Réunion. Agreste DAAF La Réunion - Nexa 2013;82:1–32.
- [135] Septembre-Malaterre A, Hatia S, Lallemand L, Césari M, Douraguia E, Libelle T, et al. Characterization of French Victoria pineapple antioxidant micronutrients and polyphenol protective effect on preadipose cells exposed to oxidative stress. *Int J Food Nutr Sci* 2015.
- [136] Gayosso-García Sancho LE, Yahia EM, González-Aguilar GA. Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Res Int* 2011;44:1284–91. doi:10.1016/j.foodres.2010.12.001.
- [137] Morales M, Zapata S, Jaimes TR, Rosales S, Alzate AF, Maldonado ME, et al. Mangiferin content, carotenoids, tannins and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) values of six mango (*Mangifera indica*) cultivars from the Colombian Caribbean 2017;11:144–52. doi:10.5897/JMPR2017.6335.
- [138] Mukhtar H, Ahmad N. Tea polyphenols: Prevention of cancer and optimizing health. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1698–702.
- [139] Luximon-Ramma A, Bahorun T, Crozier A, Zbarsky V, Datla KP, Dexter DT, et al. Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Res Int* 2005;38:357–67. doi:10.1016/j.foodres.2004.10.005.
- [140] Septembre-Malaterre A, Remize F, Poucheret P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Res Int* 2017;0–1. doi:10.1016/j.foodres.2017.09.031.
- [141] Septembre-Malaterre A, Stanislas G, Douraguia E, Gonthier MP. Evaluation of nutritional and antioxidant properties of the tropical fruits banana, litchi, mango, papaya, passion fruit and pineapple cultivated in Réunion French Island. *Food Chem* 2016;212:225–33. doi:10.1016/j.foodchem.2016.05.147.
- [142] Medlicott, A.P. and Thompson AK. Analysis of sugars and organic acids in ripening mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Keitt) by high performance liquid chromatography. *J Sci Food Agric* 1985;36:561–6.
- [143] Horie H, Yamauchi Y, Kohata K. Analysis of organic anions in tea infusions using capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 1998;817:139–44. doi:10.1016/S0021-9673(98)00340-9.
- [144] Hernández Y, Lobo MG, González M. Factors affecting sample extraction in the liquid chromatographic determination of organic acids in papaya and pineapple. *Food Chem* 2009;114:734–41. doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.021.
- [145] Jeong S-M, Kim S-Y, Kim D-R, Jo S-C, Nam KC, Ahn DU, et al. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *J Agric Food Chem* 2004;52:3389–93. doi:10.1021/jf049899k.
- [146] Chung IM, Seo SH, Ahn JK, Kim SH. Effect of processing, fermentation, and aging treatment to content and profile of phenolic compounds in soybean seed, soy curd and soy paste. *Food Chem* 2011;127:960–7. doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.065.
- [147] Nicoli M., Anese M, Parpinel M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Technol* 1999;10:94–100. doi:10.1016/S0924-2244(99)00023-0.

- [148] Wiedenbeck J, Cohan FM. Origins of bacterial diversity through horizontal genetic transfer and adaptation to new ecological niches. *FEMS Microbiol Rev* 2011;35:957–76. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00292.x.
- [149] Fusco V, Quero GM, Cho G-S, Kabisch J, Meske D, Neve H, et al. The genus *Weissella*: taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Front Microbiol* 2015;6:155. doi:10.3389/fmicb.2015.00155.
- [150] Malang SK, Maina NH, Schwab C, Tenkanen M, Lacroix C. Characterization of exopolysaccharide and ropy capsular polysaccharide formation by *Weissella*. *Food Microbiol* 2014;46:418–27. doi:10.1016/j.fm.2014.08.022.
- [151] Ahmed RZ, Siddiqui K, Arman M, Ahmed N. Characterization of high molecular weight dextran produced by *Weissella cibaria* CMGDEX3. *Carbohydr Polym* 2012;90:441–6. doi:10.1016/j.carbpol.2012.05.063.
- [152] Rao TJM, Goyal A. A novel high dextran yielding *Weissella cibaria* JAG8 for cereal food application. *Int J Food Sci Nutr* 2013;64:346–54. doi:10.3109/09637486.2012.734289.
- [153] Maina NH, Tenkanen M, Maaheimo H, Juvonen R, Virkki L. NMR spectroscopic analysis of exopolysaccharides produced by *Leuconostoc citreum* and *Weissella confusa*. *Carbohydr Res* 2008;343:1446–55. doi:10.1016/j.carres.2008.04.012.
- [154] Srionnual S, Yanagida F, Lin LH, Hsiao KN, Chen Y-S. Weissellicin 110, a newly discovered bacteriocin from *Weissella cibaria* 110, isolated from plaasom, a fermented fish product from Thailand. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:2247–50. doi:10.1128/AEM.02484-06.
- [155] Masuda Y, Zendo T, Sawa N, Perez RH, Nakayama J, Sonomoto K. Characterization and identification of weissellicin Y and weissellicin M, novel bacteriocins produced by *Weissella hellenica* QU 13. *J Appl Microbiol* 2012;112:99–108. doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05180.x.
- [156] Pal A, Ramana K V. Purification And Characterization Of Bacteriocin From *Weissella Paramesenteroides* Dfr-8, An Isolate From Cucumber (*Cucumis Sativus*). *J Food Biochem* 2010;34:932–48. doi:10.1111/j.1745-4514.2010.00340.x.
- [157] Malik A, Sumayyah S, Yeh CW, Heng NCK. Identification and sequence analysis of pWcMBF8-1, a bacteriocin-encoding plasmid from the lactic acid bacterium *Weissella confusa*. *FEMS Microbiol Lett* 2016;363:1–8. doi:10.1093/femsle/fnw059.
- [158] Snauwaert I, Papalexandratou Z, De Vuyst L, Vandamme P. Characterization of strains of *Weissella fabalis* sp. nov. and *Fructobacillus tropaeoli* from spontaneous cocoa bean fermentations. *Int J Syst Evol Microbiol* 2013;63:1709–16. doi:10.1099/ijs.0.040311-0.
- [159] Maldonado RR, Araújo L da C, Dariva LC da S, Rebac KN, Pinto IA de S, Prado JPR, et al. Potential application of four types of tropical fruits in lactic fermentation. *LWT - Food Sci Technol* 2017;86:254–60. doi:10.1016/j.lwt.2017.08.005.
- [160] Routray W, Mishra HN. Scientific and Technical Aspects of Yogurt Aroma and Taste: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2011;10:208–20. doi:10.1111/j.1541-4337.2011.00151.x.
- [161] Espirito-Santo AP, Carlin F, Renard CMGC. Apple, grape or orange juice: Which one offers the best substrate for lactobacilli growth? - A screening study on bacteria viability, superoxide dismutase activity, folates production and hedonic characteristics. *Food Res Int* 2015;78:352–60. doi:10.1016/j.foodres.2015.09.014.



LETTRE D'ENGAGEMENT DE NON-PLAGIAT

Je, soussigné(e) **Amandine FESSARD**....., en ma qualité de doctorant(e) de l'Université de La Réunion, déclare être conscient(e) que le plagiat est un acte délictueux passible de sanctions disciplinaires. Aussi, dans le respect de la propriété intellectuelle et du droit d'auteur, je m'engage à systématiquement citer mes sources, quelle qu'en soit la forme (textes, images, audiovisuel, internet), dans le cadre de la rédaction de ma thèse et de toute autre production scientifique, sachant que l'établissement est susceptible de soumettre le texte de ma thèse à un logiciel anti-plagiat.

Fait à Saint-Denis, le 09/10/2017

Signature :

Extrait du Règlement intérieur de l'Université de La Réunion
(validé par le Conseil d'Administration en date du 11 décembre 2014)

Article 9. Protection de la propriété intellectuelle – Faux et usage de faux, contrefaçon, plagiat

L'utilisation des ressources informatiques de l'Université implique le respect de ses droits de propriété intellectuelle ainsi que ceux de ses partenaires et plus généralement, de tous tiers titulaires de tels droits.

En conséquence, chaque utilisateur doit :

- utiliser les logiciels dans les conditions de licences souscrites ;
- ne pas reproduire, copier, diffuser, modifier ou utiliser des logiciels, bases de données, pages Web, textes, images, photographies ou autres créations protégées par le droit d'auteur ou un droit privatif, sans avoir obtenu préalablement l'autorisation des titulaires de ces droits.

La contrefaçon et le faux

Conformément aux dispositions du code de la propriété intellectuelle, toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle d'une œuvre de l'esprit faite sans le consentement de son auteur est illicite et constitue un délit pénal.

L'article 444-1 du code pénal dispose : « Constitue un faux toute altération frauduleuse de la vérité, de nature à causer un préjudice et accomplie par quelque moyen que ce soit, dans un écrit ou tout autre support d'expression de la pensée qui a pour objet ou qui peut avoir pour effet d'établir la preuve d'un droit ou d'un fait ayant des conséquences juridiques ».

L'article L335_3 du code de la propriété intellectuelle précise que : « Est également un délit de contrefaçon toute reproduction, représentation ou diffusion, par quelque moyen que ce soit, d'une œuvre de l'esprit en violation des droits de l'auteur, tels qu'ils sont définis et réglementés par la loi. Est également un délit de contrefaçon la violation de l'un des droits de l'auteur d'un logiciel (...) ».

Le plagiat est constitué par la copie, totale ou partielle d'un travail réalisé par autrui, lorsque la source empruntée n'est pas citée, quel que soit le moyen utilisé. Le plagiat constitue une violation du droit d'auteur (au sens des articles L 335-2 et L 335-3 du code de la propriété intellectuelle). Il peut être assimilé à un délit de contrefaçon. C'est aussi une faute disciplinaire, susceptible d'entraîner une sanction.

Les sources et les références utilisées dans le cadre des travaux (préparations, devoirs, mémoires, thèses, rapports de stage...) doivent être clairement citées. Des citations intégrales peuvent figurer dans les documents rendus, si elles sont assorties de leur référence (nom d'auteur, publication, date, éditeur...) et identifiées comme telles par des guillemets ou des italiques.

Les délits de contrefaçon, de plagiat et d'usage de faux peuvent donner lieu à une sanction disciplinaire indépendante de la mise en œuvre de poursuites pénales.

Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante

Résumé :

Les bactéries lactiques sont utilisées pour la fermentation d'aliments dans le but d'augmenter leur durée de conservation et d'améliorer leurs propriétés organoleptiques et nutritionnelles. Dans le but de diversifier l'offre d'aliments fonctionnels et de limiter les pertes en produit frais, nous proposons des produits fermentés à base de fruits ou légumes, riches en antioxydants et plaisants pour le consommateur. Pour cela, mes travaux de thèse ont été menés en deux étapes : caractériser la flore bactérienne lactique présente à la surface de fruits et de légumes cultivés à La Réunion, puis sélectionner des bactéries autochtones possédant certaines propriétés fonctionnelles. Ainsi, 77 bactéries lactiques isolées de papayes, de tomates et d'achards de la Réunion, appartenant aux genres *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Weissella*, *Lactobacillus* et *Fructobacillus* ont été caractérisées génétiquement et phénotypiquement. Parmi la grande diversité observée, certains isolats ont présenté des caractéristiques technologiques (conditions et vitesse de croissance, résistance aux stress environnementaux) et fonctionnelles (production d'exo-polysaccharides) intéressantes pour l'élaboration d'aliments fermentés, en particulier les isolats *Weissella cibaria* 64 et 30, *Leuconostoc pseudomesenteroides* 60 et *Lactobacillus plantarum* 75. A partir de ces données, des étapes complémentaires de criblage ont été réalisées sur différents substrats (mangue, papaye, ananas, thé vert, thé noir) fermentés, en examinant leurs propriétés organoleptiques et leurs activités antioxydantes. Deux isolats, *Lc. pseudomesenteroides* 12b et *W. cibaria* 64, ont augmenté significativement la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de jus d'ananas Victoria au cours d'une fermentation de 48h. Le produit fermenté se conserve 16 jours au froid sans aucune altération et conserve l'ensemble de ses bénéfices nutritionnels. Une odeur et des goûts typiques ont été détectés dans les boissons fermentées obtenues. L'augmentation de l'activité antioxydante observée au cours de la fermentation résulte probablement du métabolisme des composés phénoliques par les bactéries. L'identification des molécules produites et des enzymes impliquées est nécessaire afin de comprendre les mécanismes mis en jeu.

Mots clés : fermentation lactique, antioxydant, nutritionnel, ananas, *Weissella*, *Leuconostoc*

Research for autochthonous lactic bacteria able to ferment tropical fruits with an increase in antioxidant activity

Abstract :

Lactic acid bacteria are used for the production of large variety of fermented foods in order to enhance shelf-life together with improved organoleptic and nutritional properties. In order to create new functional foods and to reduce fresh product waste, the objectives of my PhD were to develop and characterize fruit or vegetables fermented foods, rich in antioxidants and pleasant for consumers. To reach these goals, my PhD work was split in two steps: 1- characterization of lactic bacteria present on fruits and vegetables grown at Reunion Island and 2- selection of autochthonous bacteria with functional properties.

Thus, 77 lactic bacteria from genera *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Weissella*, *Lactobacillus* and *Fructobacillus* were isolated from papaya, tomato and sliced cabbage from Reunion Island. They were genetically and phenotypically characterized. A huge diversity in term of genetic and phenotypic characteristics was determined. Furthermore, several isolates exhibiting specific technological and functional properties (growth rate, resistance to environmental stress, production of exopolysaccharides) were identified. These isolates, potentially useful for the production of fermented foods, were *Weissella cibaria* 64 and 30, *Leuconostoc pseudomesenteroides* 60 and *Lactobacillus plantarum* 75. Then, further screening steps were performed on different food substrates (pineapple, mango, papaya, tea infusions) in order to select isolates able to improve antioxidant and organoleptic properties. Two isolates, *W. cibaria* 64 and *Lc. pseudomesenteroides* 12b were shown to significantly enhance the phenolic content and the antioxidant activity of Victoria pineapple juice after a 48h-fermentation. The fermented products exhibited a good shelf-life of 16 days without alteration and preserved nutritional benefits. Characteristic odour and tastes were detected in the fermented drinks. The increase in antioxidant activity observed during fermentation was probably the consequence of a depolymerization of phenolic compounds. Further works are required to identify the composition changes over fermentation and to reach a better understanding of the mechanisms involved.

Key words: Lactic acid fermentation, antioxidant, nutritional, pineapple, *Weissella*, *Leuconostoc*