

École doctorale pluridisciplinaire « Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques »

Présentée par

Mr Julien HAYDERSAH

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université des Antilles et de la Guyane

Spécialité

Sciences de la Vie - Sciences des Aliments

Étude de la fermentation lactique de plantes amyloacées tropicales

Potentiel des bactéries lactiques amylolytiques

Soutenue publiquement le 08 Septembre 2010

Devant un Jury composé de :

Mme Juliette SMITH-RAVIN, *Maître de conférences, Université des Antilles et de la Guyane*

Mme Isabelle CHEVALLIER, *Professeur, VetAgro Sup, Clermont-Ferrand*

Mme Thérèse MARIANNE-PÉPIN, *Professeur, Université des Antilles et de la Guyane*

M. Jean-Pierre GUYOT, *Directeur de recherche IRD, Montpellier*

M. Abdellatif BOUSSAID, *Professeur, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc*

M. Jean-François GRONGNET, *Professeur, Agrocampus Ouest, Rennes*

Présidente

Directrice

Co-directrice

Co-directeur

Rapporteur

Rapporteur

Résumé

L'objectif de ce travail est de déterminer quelles sont les potentialités d'utilisation de la fermentation lactique amylolytique, pour valoriser la biodiversité des plantes amyloacées tropicales et créer de nouveaux produits alimentaires à forte valeur nutritionnelle, de type boisson et yaourt destinés à l'alimentation humaine dans les Antilles. En se basant sur des travaux précédents de fermentation sur un mélange de riz-soja, nos travaux ont tenté de montrer quelle était la potentialité d'utilisation de *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 pour fermenter des suspensions et des bouillies réalisées à partir de farines de banane plantain, fruit à pain et patate douce.

Lors de la fermentation de la banane plantain, du fruit à pain et de la patate douce par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1, une diminution du pH (jusqu'à des valeurs proches de 4.5), ainsi qu'une croissance bactérienne (9.5 log UFC/g) se produisent. Les plus basses valeurs de pH ont été obtenues pour la fermentation de la patate douce par *Lb plantarum* A6. Les résultats de rhéologie montrent une diminution de la consistance et de la viscosité des bouillies après fermentation, qui sont une conséquence de l'hydrolyse des amidons, jusqu'à des valeurs correspondant à des produits « buvables ». L'étude de la digestibilité des bouillies de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce avant et après fermentation par les deux souches montre une modification des différentes fractions d'amidon, avec notamment une diminution de la fraction d'amidons rapidement digestibles pour le fruit à pain (après fermentation par A6) et la patate douce, ainsi qu'une augmentation du contenu en amidons résistants qui, potentiellement, peuvent être fermentés dans le colon en acide propionique, en acide acétique et en acide butyrique qui limitent la survenue du cancer colo-rectal. Un possible effet prébiotique de la fraction amidon résistant de ces produits mériterait d'être étudié par le futur. La production de nouveaux produits (yaourt-like, boissons) à partir de la fermentation lactique de bouillies de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par des BLA est apparue réalisable au cours de ces travaux.

Mots-clés : Fermentation lactique amylolytique, Banane plantain, Fruit à pain, Patate douce, Amidon, Digestibilité, Rhéologie.

Title : Study of lactic acid fermentation of tropical amyloseous plants : Potential of amyolytic lactic acid bacteria

Abstract

The objective of this work is to determine the potential of use of amyolytic lactic acid fermentation to enhance the biodiversity of tropical starchy crops and to create new food products with high nutritional value, as drink-like and yoghurt-like for human nutrition in the West Indies. Based on previous works on fermentation of a mixture of rice/soybeans, our study attempt to show the potential use of *Lb plantarum* A6 and *Lb fermentum* OgiE1 to ferment suspensions and slurries made from flours of plantain, breadfruit and sweet potato.

During the fermentation of plantain, breadfruit and sweet potato by *Lb plantarum* A6 and *Lb fermentum* OgiE1 fermentum, a decrease in pH (up to values close to 4.5) and a bacterial growth (9.5 log CFU / g) occurred. The lowest pH values were obtained for the fermentation of sweet potato by *Lb plantarum* A6. In addition, the rheological results show a decrease of the consistency and viscosity of fermented gruel, which are a consequence of the hydrolysis of starch, up to values corresponding to « drinkable » products. The study of digestibility of slurries of plantain, breadfruit and sweet potatoes before and after fermentation by both strains showed a modification of the different fractions of starch, including a decline in the fraction of rapidly digestible starches for breadfruit (fermented with A6) and sweet potatoes, and an increase in resistant starch content that potentially can be fermented in the colon to propionic acid, acetic acid and butyric acid, which limit the occurrence of colorectal cancer. Possible prebiotic resistant starch fraction of these products should be studied in the future. The production of new products (yoghurt-like drinks) from the lactic acid fermentation by BLA of plantain, breadfruit and sweet potato appeared feasible during this work.

Keywords : Amyolytic lactic acid bacteria, Plantain, Breadfruit, Sweet potato, Starch, Digestibility, Rheology

Discipline : Sciences des Aliments

Intitulé et adresse du laboratoire :

- Unité Dynamique des protéines et modélisation, Université Antilles-Guyane, Campus de Fouillole, BP 250, 97157 Pointe à Pitre Cedex, France
- UR Aliment-Consommateur-Santé-Management de VetAgroSup, Campus Agronomique de Clermont, 89 Avenue de l'Europe, BP 35, 63370 Lempdes, France
- IRD UMR 204 « Prévention des Malnutritions et des Pathologies associées » (Nutripass), IRD/Montpellier2/Montpellier1/SupAgro, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France

Dédicaces

Je dédicace ce travail de thèse à toute ma famille, et en particulier à ma mère Rosita qui a toujours cru en moi.

Je dédicace également ce travail à ma copine Sylvie qui m'a soutenu et remonté le moral dans les moments difficiles, et Dieu sait qu'ils ont été nombreux.

À la mémoire de Raymond...

Remerciements

Je tiens à remercier Mme Isabelle Chevallier pour m'avoir permis de réaliser ce travail de thèse. Je garderai à jamais avec moi tous les bons moments que nous avons passé ensemble, tant sur le plan professionnel qu'humain.

Je remercie Mme Thérèse Marianne-Pépin pour toute l'aide et le soutien inconditionnel ainsi que pour tous les conseils avisés qu'elle m'a apportés afin de pouvoir réaliser cette thèse.

Je remercie également Mr Jean-Pierre Guyot qui a toujours su me pousser à aller plus loin, ainsi que pour les discussions très enrichissantes que nous avons eues.

Je remercie Mme Christèle Icard-Vernière pour ces remarques constructives et sa gentillesse tout le long de ces années.

Je remercie Mme Marie-Noëlle Sylvestre pour son aide et sa gentillesse.

Je remercie également Mme Annick Lebecque pour les bons moments passés ensemble.

Je remercie ma famille, ma copine et mes amis pour m'avoir entouré tout au long de ces années.

J'ai une pensée très chaleureuse pour les membres de l'UR: Karine, Sylvie, Marcelle, Arlette, Delphine, les deux Corinne, Caroline, Martine et Hassania.

Je remercie enfin ma petite bande : Rafia, Cécile et Armel, pour tous les bons moments partagés ensemble, et ainsi que les coups de « blues ».

Valorisation des travaux de recherche

ACL : Articles dans des revues internationales ou nationales avec comité de lecture répertoriées par l'AERES ou dans les bases de données internationales (ISI Web of Knowledge, Pub Med...).

1. **Haydersah J.**, Guyot JP., Icard-Vernière C., Rochette I., Marianne Pépin T., & Chevallier I. 2010. Lactic acid fermentation of plantain, breadfruit and sweet potato by amyolytic lactic acid bacteria. *Plant Foods For Human Nutrition*, Soumis (IF 2008 : 1,69)
2. **Haydersah J.**, Chevallier I., Icard-Vernière C., Mouquet-Rivier C., Marianne Pépin T. & Guyot JP. 2010. Changes induced by amyolytic lactic acid bacteria on some physico-chemical and nutritional characteristics of starchy fruits and roots : the case of plantain, breadfruit and sweet potato slurries . *Plant Foods For Human Nutrition*, Soumis (IF 2008 : 1,69).

ACTN : Communications avec actes dans un congrès national.

3. **Haydersah J.**, Guyot JP., Christèle Icard-Vernière, Isabelle Rochette, Marianne Pépin T., Chevallier I. 2010. Etude de la fermentation lactique de la banane plantain, du fruit à pain et de la patate douce » : Congrès national de la Société Française de Microbiologie 3-4 juin, Nantes, communication écrite.
4. **Haydersah J.**, Guyot JP., Isabelle Rochette, Christèle Vernière, Marianne Pépin T., Chevallier I., 2009. Potentiel de la fermentation de plantes amyolacées par les bactéries lactiques amyolytiques. 16ème Colloque sur les Bactéries Lactiques, 27-29 mai, Toulouse, communication écrite.
5. Haydersah J., Guyot JP., Marianne Pépin T., Chevallier I., 2007. Diversité des bactéries lactiques amyolytiques issues de fermentations de plantes amyolacées tropicales VIIème Congrès National de la SFM, 30,31 mai-1er juin, Nantes, communication écrite.
6. **Haydersah J.**, Guyot JP., Marianne-Pépin T., Chevallier I., 2007. Fermentation lactique amyolytique par *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus fermentum* OgiE1. 15ème Colloque sur les Bactéries Lactiques, 13-15 novembre, Rennes communication écrite.

COM : Communications orales sans actes dans un congrès international ou national.

7. **Haydersah J.**, Guyot JP., Marianne-Pépin T., Chevallier I., 2009. Potentiel de la fermentation de plantes amyolacées par les bactéries lactiques amyolytiques » - Rencontres des Microbiologistes du Pôle Clermontois.

OS : Ouvrages scientifiques (ou chapitres de ces ouvrages).

8. **Haydersah J.**, Chevallier I., Guyot JP., 2009. Les bactéries lactiques amyolytiques des aliments fermentés tropicaux, chapitre d'ouvrage, Edition Economica.

AP : Autres productions.

9. **Haydersah J.**, Guyot JP., Marianne-Pépin T., Chevallier I., 2007. Bactéries lactiques amyolytiques et fermentation lactique sur matrice amyolacée : Journée des Doctorants de l'ENITA Clermont-Ferrand (Communication orale).

Liste des abréviations

ACJE : Aliment de complément pour les jeunes enfants
ADN : Acide désoxyribonucléique
ADN : Acide désoxyribonucléique ribosomal
ALAB : Amylolytic lactic acid bacteria
AMG : Amyloglucosidase
ATP : Adénosine tri-phosphate
BLA : Bactéries lactiques amylolytiques
Con A : Concanavalline A
DLA : Domaine de liaison de l'amidon
DM : Dry matter
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DP : Degré de polymérisation
EMP : Embden-Meyerhof-Parda
FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FSG : Free soluble glucose (glucose libre)
GOD : Glucose oxydase
GOPOD : Glucose oxydase/peroxydase
GRAS : Generally recognized as safe
High DM : High dry matter (taux élevé de matière sèche)
HPIC : Chromatographie ionique à haute performance
HPLC : Chromatographie liquide à haute performance
LAB : Lactic acid bacteria
Low DM : Low dry matter (faible taux de matière sèche)
MRS : Man Rogosa Sharpe
RDS : Rapidly digestible starch (amidon rapidement digestible)
RS : Resistant starch (amidon résistant)
RVA : Rapid Visco-Analyzer
RVU : Rapid Visco Units
SDI : Starch digestibility index (indice de digestibilité de l'amidon)
SDS : Slowly digestible starch (amidon lentement digestible)
SG : suspensions gélatinisées
SM : Solution mère
SNG : suspensions non gélatinisées
TS : Total starch (amidon total)
UFC : Unité formant colonie
UNICEF: Fonds des Nations Unies pour l'Enfance

WHO : World Health Organization

Table des matières

Introduction.....	1
Chapitre 1:	
Revue bibliographique.....	6
La banane plantain (<i>Musa paradisiaca</i>).....	7
1 Présentation et mode de consommation.....	7
2 Données économiques.....	8
3 Analyses physicochimiques de la banane plantain.....	8
3.1 Composition chimique.....	8
3.2 Amidon de banane plantain.....	9
3.2.1Morphologie et composition des grain d'amidon.....	9
3.2.2Propriétés physicochimiques.....	11
Le fruit à pain (<i>Artocarpus altilis</i>).....	13
1 Présentation et mode de consommation.....	13
2 Analyses physicochimiques du fruit à pain.....	14
2.1 Composition chimique.....	14
2.2 Amidon du fruit à pain.....	15
2.2.1Composition et morphologie des grains d'amidon.....	15
2.2.2Propriétés physicochimiques.....	16
La patate douce (<i>Ipomoea batatas</i>).....	17
1 Présentation et mode de consommation.....	17
2 Données économiques.....	18
3 Analyses physicochimiques de la patate douce.....	18
3.1 Composition chimique.....	18
3.2 Amidon de la patate douce.....	19
3.2.1Composition et morphologie des grains d'amidon.....	19
3.2.2Propriétés physicochimiques.....	20
Les bactéries lactiques.....	22
1 Généralités sur les bactéries lactiques.....	22
1.1 Le genre <i>Lactobacillus</i>	22
1.2 Voies métaboliques des lactobacilles.....	24
2 Les bactéries lactiques amylolytiques.....	26

2.1 Les α -amylases des bactéries lactiques amylolytiques.....	29
2.1.1 Particularités des α -amylases des bactéries lactiques amylolytiques.....	29
2.1.2 Structure des α -amylases.....	30
2.2 Domaines d'application des bactéries lactiques amylolytiques.....	33

Chapitre 2:

Matériels et méthodes.....	35
-----------------------------------	-----------

Matières premières et souches de bactéries lactiques amylolytiques.....	36
--	-----------

1 Farines de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce.....	36
1.1 Préparation des suspensions non gélatinisées.....	36
1.2 Préparation des bouillies.....	36
2 Souches de bactéries lactiques amylolytiques utilisées.....	37
2.1 <i>Lactobacillus plantarum</i> A6 (LMG 18053, BCCMTM/LMG).....	37
2.2 <i>Lactobacillus fermentum</i> OgiE1 (I-2028, CMCN, Institut Pasteur).....	37
3 Conditions de cultures des souches microbiennes.....	37
3.1 Milieux de culture.....	37
3.2 Conservation et préparation des souches.....	38
3.3 Dénombrement bactérien.....	38
3.4 Conditions de réalisation des fermentations.....	39

Analyses physicochimiques.....	40
---------------------------------------	-----------

1 Mesures de matière sèche.....	40
2 Mesures de la viscosité.....	40
3 Mesure de l'écoulement.....	40
4 Dosage des produits de fermentation et des sucres.....	41
4.1 Réalisation des prélèvements.....	41
4.2 Dosage de l'acide lactique, de l'acide acétique et de l'éthanol par Chromatographie Liquide Haute Pression (HPLC).....	41
4.3 Dosage des oses (sucres réducteurs et maltodextrines) et du mannitol par Chromatographie Ionique Haute Pression (HPIC).....	42

Caractérisation des amidons.....	43
---	-----------

1 Digestibilité des amidons.....	43
1.1 Dosage du glucose soluble libre (FSG).....	44
1.2 Détermination des fractions RDS et SDS.....	44
1.3 Préparation des échantillons et de la gamme étalon, et dosage au GOPOD.....	44
1.4 Dosage de l'amidon total.....	45

1.5 Traitement des données.....	46
2 Détermination du taux d'amylose et du taux d'amylopectine.....	47
Analyses statistiques.....	50
Chapitre 3:	
Résultats et discussions.....	51
Fermentation des suspensions gélatinisées.....	52
Fermentation lactique de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par des bactéries lactiques amylolytiques homo et hétérofermentatives.....	52
1 Résumé introductif.....	52
2 Lactic acid fermentation of plantain, breadfruit and sweet potato by amylolytic lactic acid bacteria.....	53
Changements physico-chimiques et nutritionnels lors de la fermentation de bouillies de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par des bactéries lactiques amylolytiques.....	67
1 Résumé introductif.....	67
2 Changes induced by amylolytic lactic acid bacteria on some physico-chemical and nutritional characteristics of starchy fruits and roots : the case of plantain, breadfruit and sweet potato slurries.....	68
Résultats complémentaires : Changements physico-chimiques et nutritionnels induits par la fermentation lactique amylolytique de suspensions gélatinisées à haute teneur en matière sèche.....	80
Introduction.....	80
Résultats et discussions.....	80
Conclusion.....	81
Résultats complémentaires : Fermentation de suspensions non gélatinisées.....	82
Introduction.....	82
Résultats.....	82
1 Croissance bactérienne et suivi de pH.....	82
2 Dosage des produits de fermentation.....	86
3 Dosage des sucres.....	87
4 Mesures rhéologiques.....	89
Les mesures rhéologiques et de consistance ont été réalisées après cuisson de suspensions crues prélevées en début et en fin de fermentation.....	89

4.1 <i>Lactobacillus plantarum</i> A6.....	89
4.2 <i>Lactobacillus fermentum</i> OgiE1.....	90
Discussion.....	91
Conclusion.....	92
Discussion générale.....	93
Conclusion générale.....	98
Références bibliographiques.....	100

Index des illustrations

Figure 1.1: Banane plantain (<i>Musa paradisiaca</i>).....	7
Figure 1.2: Amidon de banane plantain.....	10
Figure 1.3: Arbre à pain (<i>Artocarpus altilis</i>).....	13
Figure 1.4: Fruit à pain.....	13
Figure 1.5: Evolution du taux d'amidon pendant la maturation du fruit à pain.....	15
Figure 1.6: Amidon de fruit à pain.....	15
Figure 1.7: Patate douce (<i>Ipomoea batatas</i>).....	17
Figure 1.8: Amidon de patate douce.....	20
Figure 1.9: Voies métaboliques des bactéries lactiques.....	24
Figure 1.10: Voie de production du mannitol par les bactéries lactiques homofermentaires.....	25
Figure 1.11: Voie de production du mannitol par les bactéries lactiques hétérofermentaires.....	26
Figure 1.12: Amidons de manioc hydrolysés par <i>Lb plantarum</i> A6 après cuisson (A, C, E) ou crus (B, D, E).....	27
Figure 1.13: Modèle d'hydrolyse de l'amidon par <i>Lactobacillus fermentum</i> OgiE1.....	29
Figure 1.14: Carte de restriction des plasmides pLPCR2-3 et pLPCR2-3ΔB/X.	32
Figure 1.15: Pool enzymatique amylasique et leur produit de dégradation de l'amidon.....	33
Figure 2.1: Consistomètre de modèle Polyvisc pour la mesure de l'écoulement des produits.....	40
Figure 3.1: Viscosité apparente et écoulement Bostwick de suspensions gélatinisées de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce avant (■) et après 24h (□) de fermentation par <i>Lb plantarum</i> A6 et <i>Lb fermentum</i> OgiE1.....	81

Figure 3.2: Croissance bactérienne et évolution du pH pendant la fermentation de suspensions de farines de banane plantain, fruit à pain et patate douce par <i>Lb plantarum</i> A6 et <i>Lb fermentum</i> OgiE1	85
Figure 3.3: Production d'acétate, de lactate et de mannitol pendant la fermentation de suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce par <i>Lb plantarum</i> A6 et <i>Lb fermentum</i> OgiE1 à 0(■), 8 (□) et 24 h (□).....	87
Figure 3.4: Evolution des mono (G : Glucose; F : Fructose) et des disaccharides (S : Saccharose; M : Maltose) après 0 (■), 8 (□) et 24 h(□) de fermentation par <i>Lb plantarum</i> A6 et <i>Lb fermentum</i> OgiE1 de suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce.....	88
Figure 3.5: Production de maltodextrines (G3 : Maltotriose; G4 : Maltotétraose; G5 : Maltopentaose; G6 : Maltohexaose; G7 : Maltoheptaose) pendant la fermentation de suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce par <i>Lb plantarum</i> A6 et <i>Lb fermentum</i> OgiE1 après 0 (■), 8 (□) et 24 h (□) de fermentation.....	89
Figure 3.6: Propriétés rhéologiques avant (■) et après 24 h(□) de fermentation des suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce par <i>Lb plantarum</i> A6.....	90
Figure 3.7: Propriétés rhéologiques avant (■) et après 24 h (□) de fermentation des suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce par <i>Lb fermentum</i> OgiE1.....	91

Index des tables

Tableau 1: Composition chimique de la banane plantain et de la banane dessert à différents niveaux de maturation et de transformations.....	9
Tableau 2: Taux d'amylase observés pour la banane plantain.....	11
Tableau 3: Composition de la patate douce.....	19
Tableau 4: Classification des lactobacilles selon les paramètres métaboliques et de fermentation...23	
Tableau 5: Principales bactéries lactiques amylolytiques isolées à ce jour.....	28
Tableau 6: Paramètres cinétiques et constantes d'inhibition des α -amylases de <i>Lb fermentum</i> (FERMENTA), <i>Lb manihotivorans</i> (MANIHOA) et <i>Lb plantarum</i> (PLANTAA).....	30
Tableau 7: Composition du milieu MRS [- Glucose + Amidon] pour 1L de milieu.....	38
Tableau 8: Valeurs de matière sèche des suspensions gélatinisées.....	80

Introduction

L'agriculture guadeloupéenne est depuis longtemps dominée par les filières canne à sucre et banane. Cependant, depuis quelques années, ces deux pôles d'intérêt sont confrontés à une très forte crise économique, ce qui a pour effet la fermeture de nombreuses exploitations et, donc, de nombreuses pertes d'emplois, et la mise en péril de l'agriculture locale à terme. Afin d'endiguer cette disparition annoncée de l'agriculture guadeloupéenne, une diversification des revenus et débouchés économiques agricoles est indispensable. De part ses ressources naturelles et sa biodiversité exceptionnelles, la Guadeloupe a tous les atouts pour entreprendre et réussir cette diversification. Cela passerait par une valorisation d'aliments traditionnels, en particulier des amyloacées locales que sont la banane plantain, le fruit de l'arbre à pain et la patate douce entre autres. Toutefois, ces amyloacées sont le plus souvent commercialisées sous forme brute, et ne bénéficient pas d'un impact économique ajouté très important. La transformation de ces aliments traditionnels, par fermentation lactique en particulier, permettrait d'accroître la valeur ajoutée de ces aliments et ainsi de leur donner un intérêt économique non négligeable.

La fermentation lactique est l'une des biotechnologies les mieux connues et maîtrisées par l'homme (fromages, yaourts, etc...). Elle améliore les qualités organoleptiques des aliments et permet, grâce à l'acidification du milieu, de limiter le développement de micro-organismes pathogènes et/ou de dégradation (Caplice et Fitzgerald, 1999). La fermentation lactique des plantes amyloacées est très courante dans les pays dits du « Sud ». Il existe une très large variété de ces produits comme le pozol mexicain, boisson fabriquée par fermentation du maïs, ou encore le fofou par fermentation du manioc (Blandino et al., 2003), et est souvent utilisée comme moyen de conservation (Oyewole, 1997). Des études sur certains de ces aliments fermentés ont permis de mettre en avant une nouvelle catégorie de bactéries lactiques : les bactéries lactiques amylolytiques (BLA) (Reddy et al., 2008). La fermentation lactique amylolytique apporte en complément une amélioration de la digestibilité et de la disponibilité des sucres (et donc de l'amidon). En effet, les grains d'amidon sont très difficilement dégradés par l' α -amylase humaine qui n'est pas synthétisée par les enfants de moins de 12 mois; or les bactéries lactiques amylolytiques sont capables de synthétiser une α -amylase apte à dégrader des amidons d'origines botaniques différentes (Florêncio et al., 2000). Toutefois, selon l'écosystème d'origine, les bactéries possèdent des affinités différentes en fonction des sources d'amidon. Cette fermentation lactique amylolytique permet également d'augmenter la densité énergétique et nutritionnelle de bouillies amyloacées en réduisant la viscosité de celles-ci par hydrolyse de l'amidon en composés plus simples comme le glucose, le fructose, le saccharose, maltose et les dextrines (Nguyen et al., 2007b; Songré-Ouattara et al., 2009). Des

recommandations internationales ont été récemment formulées afin de garantir une alimentation adéquate du nourrisson et du jeune enfant. Par exemple, l'allaitement maternel exclusif de la naissance à l'âge de 6 mois (WHO, 2001) ainsi qu'une alimentation complémentaire adéquate introduite à partir de 6 mois jusqu'à 24 mois ou plus avec poursuite de l'allaitement maternel (WHO/UNICEF, 2002) sont promus conjointement par l'OMS et l'UNICEF. En plus de ceci, pour les pays en développement où la majorité de la population vit dans des conditions très précaires sans accès aux technologies de réfrigération pour la conservation des aliments, la FAO et l'UNICEF sont enclins à encourager et à soutenir l'utilisation des aliments traditionnels amylicés fermentés dans l'alimentation complémentaire du jeune enfant (WHO, 1998) en raison des conséquences bénéfiques de la fermentation lactique sur l'amélioration de la qualité nutritionnelle et sanitaire de ces aliments.

À partir de ces constatations, il apparaît que le développement de nouveaux produits par fermentation lactique amylytique serait possible en utilisant des plantes amylicées plus communes aux Antilles. Parmi les plantes candidates, la banane plantain, le fruit de l'arbre à pain et la patate douce apparaissent comme celles ayant le plus grand potentiel d'un point de vue économique. Dans le cas du fruit à pain, aucune exploitation à grande échelle n'existant, ces travaux pourraient encourager à développer cette filière en tant que filière de diversification. Toutefois, les données concernant la possibilité de réaliser des fermentations lactiques en les utilisant comme substrat sont soit très limitées soit inexistantes à notre connaissance à ce jour.

Lors de précédentes études sur la fermentation d'autres amylicées, de nombreuses bactéries lactiques amylytiques ont été isolées, et les plus étudiées ont été les souches *Lactobacillus plantarum* A6 (homolactique) issue du rouissage du manioc (Giraud et al., 1991) et *Lactobacillus fermentum* OgiE1 (hétérolactique) lors de la fermentation de l'amidon aigre (Agati et al., 1998). Ces bactéries lactiques ont été choisies car, les lactobacilles étant considérés classés GRAS (Generally Recognized As Safe), elles sont potentiellement utilisables en tant que starter de fermentation, sans danger pour l'homme. Toutefois, leur utilisation pour la fermentation d'amidons d'origines botaniques différentes se sont, pour l'instant, limitées à un mélange de riz/soja (Nguyen et al., 2007b; Nguyen et al., 2007a) ou encore au mil (Songré-Ouattara et al., 2009) pour *Lb plantarum* A6, alors qu'aucune tentative n'a été faite avec *Lb fermentum* OgiE1 à notre connaissance.

L'objectif de ce travail de recherche doctorale a été de démontrer que ces deux souches de BLA peuvent être utilisées pour la mise au point de nouveaux aliments fermentés disposant

d'une valeur ajoutée à partir de la banane plantain, du fruit à pain et de la patate douce. Afin d'assurer une bonne homogénéité des expérimentations, des farines produites à partir de ces plantes amylacées ont été utilisées. La capacité de *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 de fermenter ces farines gélatinisées ou non, à des concentrations de matière sèche différentes, ont été étudiées. Les métabolites de fermentation formés, ainsi que l'influence de cette fermentation sur les propriétés physicochimiques (rhéologie, digestibilité, composition d'amylose) de ces matières premières ont fait l'objet d'une attention particulière.

Ce travail sera présenté en quatre chapitres successifs. Le premier chapitre sera consacré à une analyse bibliographique des connaissances actuelles concernant la banane plantain, le fruit à pain, la patate douce et les bactéries lactiques amylolytiques.

Dans le chapitre suivant, une description détaillée des protocoles expérimentaux ainsi qu'une présentation détaillée de *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus fermentum* OgiE1 seront effectués.

Le troisième chapitre présentera tout d'abord les résultats obtenus lors de la fermentation des suspensions non gélatinisées seront tout d'abord présentées. Les résultats obtenus pour les farines gélatinisées seront présentés par la suite sous forme d'article et de projet d'article portant sur la capacité de *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 à fermenter et modifier les propriétés physicochimiques des farines gélatinisées de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce.

Dans le quatrième chapitre de discussion générale, une comparaison des résultats obtenus pour les farines gélatinisées ou non gélatinisées sera effectuée.

- Chapitre 1 : Revue bibliographique des données actuelles concernant la banane plantain, le fruit à pain et la patate douce. Une présentation détaillée des bactéries lactiques amylolytiques, qui ont fait l'objet de la rédaction d'un chapitre d'ouvrage, sera faite
- Chapitre 2 : Matériels et méthodes détaillés utilisés lors des expérimentations. Une présentation de *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus fermentum* OgiE1 sera faite également
- Chapitre 3 : Résultats et discussions des travaux. Les résultats obtenus lors de la fermentation des suspensions non gélatinisées seront tout d'abord présentées. Les résultats obtenus pour les farines gélatinisées sont présentées par la suite sous forme d'article et de projet d'article portant sur la capacité de *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 à fermenter des farines gélatinisées de banane plantain, de

fruit à pain et de patate douce, ainsi qu'à modifier les propriétés physicochimiques de ces mêmes farines gélatinisées

- Chapitre 4 : Discussion générale où une comparaison des résultats obtenus pour les farines gélatinisées ou non sera effectuée
- Une conclusion sur les travaux effectués, ainsi qu'une présentation des différentes perspectives pouvant découler de ce travail seront faites

Ce travail de recherche doctoral a été possible grâce à une bourse doctorale régionale, en co-financement du Fonds Social Européen, du Conseil Régional de Guadeloupe.

Chapitre 1:

Revue bibliographique

La banane plantain (*Musa paradisiaca*)

1 Présentation et mode de consommation

La banane plantain ou *Musa paradisiaca* est une espèce hybride de plante de la famille des *Musaceae*. Elle est issue à l'origine du croisement entre *Musa acuminata* et *Musa balbisiana*. Cette espèce fournit la banane plantain qui est un faux-fruit qui prend divers noms selon le lieu géographique : banane jaune dans les Antilles, banane poingo en Nouvelle-Calédonie.

La banane plantain est large, angulaire et plus longue que la banane « classique » (ou banane dessert [*Musa cavendish*]) et possède une peau verte et épaisse (Figure 1.1). Elle n'est comestible crue qu'à parfaite maturation (peau noire, chair ramollie) et est alors très sucrée du fait de la conversion, au cours de la maturation, de l'amidon en saccharose (Nwokocha et Williams, 2009). Toutefois, aux Antilles la banane plantain est le plus souvent consommée cuite avant maturation pour remplacer les légumes ou le pain et accompagner des plats de viande, de poulet ou de poisson. Elles peuvent notamment être utilisées entières ou sous forme de bouillie en remplacement de la pomme de terre.



Figure 1.1: Banane plantain (*Musa paradisiaca*)

La banane plantain est également utilisée pour la préparation de farines, de chips, de bière et de vin (Akubor, 2005; Akubor et al., 2003; Akubor et Adejo, 2000; Newilah et al., 2005). La banane plantain est moins sujette au brunissement que la banane dessert, et peut être cuite sans manifestation de réaction de Maillard (Aurore et al., 2009).

2 Données économiques

En 2003, la banane était au quatrième rang des plantes alimentaires d'importance en terme de valeur de production au niveau mondial. La production était alors estimée à 102 millions tonnes dont 32% de banane plantain. L'importation et l'exportation ne sont concentrées que dans quelques pays. Dix pays produisent 75% de la masse totale de banane en 2003, avec l'Inde, l'Equateur, la Brésil et la Chine qui représentent à eux seuls la moitié de la production. L'Amérique Latine et les Caraïbes représentent plus de 80% du total des exportations mondiales (15 millions de tonnes) avec les quatre plus gros producteurs de banane (Equateur, Costa Rica, les Philippines et la Colombie) représentant les 2/3 des exportations mondiales.

3 Analyses physicochimiques de la banane plantain

3.1 Composition chimique

Avant maturation, la banane plantain est riche en magnésium (33 mg/100 g), en phosphore (35 mg/100 g), en vitamine C (20 mg/100 g).

Après maturation, la banane plantain devient riche en élément comme le potassium (500 mg/100g), le β -carotène (390-1035 μ g/100 g), la thiamine (80 μ g/100 g), la riboflavine (40 μ g/100 g) et la vitamine PP (600 μ g/100g). Elle reste une très bonne source de magnésium, de phosphore et de vitamine C. La valeur énergétique pour 100g de portion comestible est de 122 kcal (Tableau 1).

Quel que soit le degré de maturation, le taux de lipide est très faible. La quantité de fibre apportée par la banane plantain (environ 3 g/100 g) est plus élevée que pour la pomme ou l'orange (Aurore et al., 2009). Le taux de protéines dans la farine de banane plantain est inférieur au taux de la farine de blé (Bello-Pérez et al., 2004).

Component or parameter	Unit	Sweet banana pulp				Plantain pulp	
		Ripe ^a	Unripe ^b	Dried ^a	Dehydrated or flour ^a	Unripe ^c	Ripe
Energy	Kcal	89	110 ^b	257	340	91	122 ^e
Water	g	74	69 ^b	28	3.0	63	65 ^e
Protein	g	1.1	1.4 ^b	3.0	3.9	0.8	1.3 ^e
Total lipid	g	0.3	0.2 ^b	1.0	1.8	0.1	0.37 ^e
Carbohydrate	g	21.8	28.7 ^b	63.0	82.1	24.3	32 ^e
Dietary fibre	g	2.0	0.5 ^b	5.5	7.6	5.4	2.0–3.4 ^e
Na	mg	1.0		8.0	3.0		4.0 ^e
K	mg	385.0		1150.0	1491.0		500 ^e
Ca	mg	8.0	8 ^b	20.0	22.0	7	3.0 ^e
Mg	mg	30		90.0	108.0	33	35.0 ^e
P	mg	22		75.0	74.0	35	30.0 ^e
Fe	mg	0.42	0.9 ^b	1.3	1.15	0.5	0.6 ^e
Cu	mg	0.11		0.4	0.39	0.16	
Zn	mg	0.18		0.5	0.61	0.1	
Mn	mg	0.2			0.57	15	
Eq. β-carotene	µg	68.0	48.3 ^b	150.0	183.0	0.03–1.20	390–1035 ^d
Vitamin E	mg	0.29		0.6		–	
Vitamin C	mg	11.7	31 ^b	4.0		20	20 ^d
Thiamin	mg	0.04	0.04 ^b	0.1	0.18	0.05	0.08 ^d
Riboflavin	mg	0.07	0.02 ^b	0.18	0.24	0.05	0.04 ^d
Niacin	mg	0.61	0.6 ^b	2.0	2.8	0.7	0.6 ^d
Panhotenic acid	mg	0.28				0.37	
Vitamin B6	mg	0.47				–	
Total Folate	µg	23.0				0.016	
Biotin	µg	2.6				–	
Isoleucine	mg	34.0			167.0		
Leucine	mg	71.0			359.0		
Lysine	mg	50.0			162.0		
Methionine	mg	14.0			74.0		
Cystine	mg	20.0			63.0		
Phenylalanine	mg	41.0			201.0		
Tyrosine	mg	26.0			121.0		
Threonine	mg	36.0			171.0		
Tryptophan	mg	13.0					
Valine	mg	49.0			282.0		
Arginine	mg	57.0			176.0		
Histidine	mg	86.0			333.0		
Alanine	mg	43.0			222.0		
Aspartic acid	mg	120.0			503.0		
Glutamic Acid	mg	115.0			399.0		
Glycine	mg	41.0			190.0		
Proline	mg	43.0			229.0		
Serine	mg	49.0			226.0		
Dopamine	mg	65.0					
Serotonine	mg	3.3				45 ^c	76 ^c
Thiamine	mg	0.7					
Malic acid	meq	6.20 ^c	1.36 ^c				
Citric acid	meq	2.17 ^c	0.68 ^c				
Oxalic acid	meq	1.37 ^c	2.33 ^c				
Other acids	meq	0.17 ^c	0.19 ^c				

^a CIQUAL – CNEVA (1993).
^b Anonymous (1981).
^c Marriott and Lancaster (1983).
^d Woolfe (1992).
^e Lassoudière (2007).

Tableau 1: Composition chimique de la banane plantain et de la banane dessert à différents niveaux de maturation et de transformations (Aurore et al, 2009)

3.2 Amidon de banane plantain

3.2.1 Morphologie et composition des grain d'amidon

L'amidon brut de banane plantain est de type-C (Millan-Testa et al., 2005) qui est un mélange entre des amidons de type A et de type B. L'amidon brut de banane plantain est

difficilement hydrolysable par les α -amylases et les glucoamylases *in vivo* et *in vitro*, 75-84 % des grains d'amidons ingérés atteignaient la partie terminale de l'ileum et correspondent aux amidons résistants qui sont de type RS₂ sous forme crue (Brouns et al., 2002; Englyst et Cummings, 1986; Faisant et al., 1995; Zhang et al., 2005). Ces amidons résistants ont une température de gélatinisation de 61°C contre 69,4°C pour l'amidon brut non traité.

La digestibilité des amidons est attribuée à l'intervention de nombreux facteurs comme la source botanique, la taille de grain, le ratio amylose : amylopectine, l'association moléculaire des différents constituants de l'amidon, le degré de cristallisation, la longueur des chaînes d'amylose et la présence de complexes amylose-lipides (Cummings et Englyst, 1995; Cummings et al., 1996; Englyst et Cummings, 1986). Les amidons de banane sont connus pour être sensibles à des altérations mécaniques, particulièrement lors de leur exposition à de faibles pH, comme celui de l'estomac (Gallant et al., 1997). Après passage dans l'intestin grêle, les amidons ont une apparence exo-corrodée avec des crevasses et des trous.

Des observations microscopiques ont montré que des farines de banane contenaient des grains irréguliers avec des surfaces lisses qui joueraient un rôle dans la résistance de l'amidon de banane à l'hydrolyse enzymatique. Les tailles des grains d'amidon varient selon les auteurs : 10-33 μm pour Nwokocha et Williams (2009), 24,31 μm pour Nunez-Santiago et al. (2004) et 3,33-56,66 μm pour Coulibaly et al. (2006). Gallant et al. (1997) ont montré que les grains avaient une couche de plusieurs μm d'épaisseur de larges blocs qui gêne l'action des enzymes, et diminue ainsi l'hydrolyse. Des travaux récents ont montré que les farines de banane plantain, du fait de cette résistance aux α -amylases, peuvent être utilisées dans la fabrication de pâtes alimentaires riches en carbohydrates non digestibles (Ovando-Martinez et al., 2009) ou de « cookies » (Bello-Pérez et al., 2004).

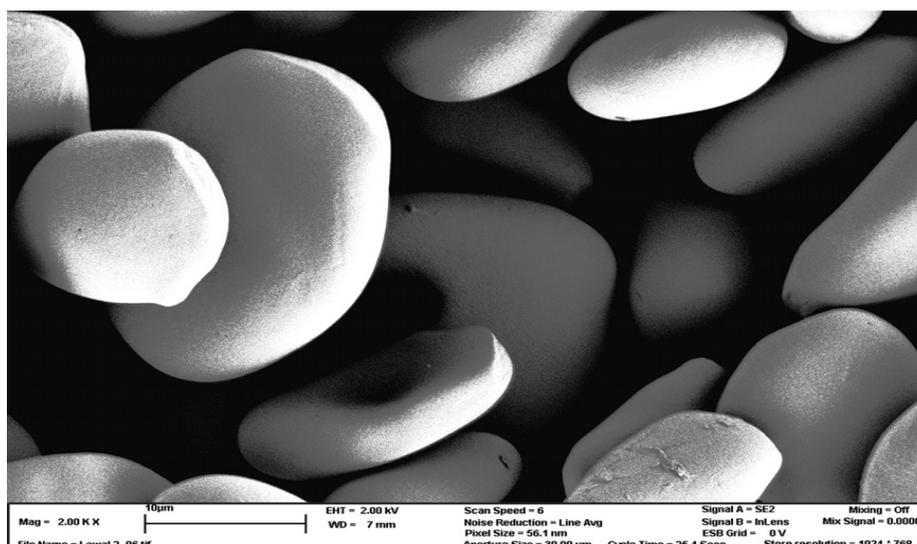


Figure 1.2: Amidon de banane plantain (Lawal et al, 2008)

La composition des amidons de banane plantain est encore sujette à débat. En effet, les valeurs observées dans la littérature concernant l'amylose sont assez hétérogènes (Tableau 2) avec une valeur moyenne de 26,9 % d'amidon total. La masse moléculaire de l'amylose de banane plantain est de $2,7 \cdot 10^5$ g/mol.

Taux d'amylose	Références
12,0%	Eggleston et al. (1992)
13,6%	Lawal et al. (2008)
21,0%	Mota et al. (2000)
26,0%	Nwokocha et Williams (2009)
33,4%	Qi et al. (2000)
36,0%	Espinosa-Solis et al. (2009)
37,0%	Aparicio-Saguilan et al. (2005)
46,0%	Hernandez et al. (2008)

Tableau 2: Taux d'amylose observés pour la banane plantain (en fonction de l'amidon total)

Les données concernant l'amylopectine sont un peu plus homogènes pour la banane plantain. Mota et al. (2000) indiquent une teneur de 52% environ. L'amylopectine de banane plantain a une masse moléculaire de $3,37 \cdot 10^8$ g/mol. Les branches ont un degré de polymérisation moyen de 24 polymères, avec une majorité de DP 13-24 (Espinosa-Solis et al., 2009).

3.2.2 Propriétés physicochimiques

Le chauffage dans l'eau des grains d'amidon, jusqu'à la température de gélatinisation, entraîne simultanément une augmentation de la taille des grains, une perte de cristallisation et une sortie de l'amylose des grains. Ce gonflement des grains d'amidon, s'il se poursuit, provoque une rupture de la structure du grain et une solubilisation (au moins partielle) de l'amylose et de quelques molécules d'amylopectine. Le réseau d'amylose et d'amylopectine, les grains gonflés emprisonnés et les structures d'amidon fragmenté sont responsables des caractéristiques de gélification et viscosité. La capacité de l'amylose à rétrograder rapidement et de l'amylopectine à rétrograder plus lentement produit des gels et affecte la texture de produits à base d'amidon.

Le pouvoir de gonflement et de solubilisation dépend du ratio amylose : amylopectine, des propriétés de l'amylose et de l'amylopectine : masse moléculaire, degré et taille des ramifications et conformation des molécules. Ces propriétés de gonflement et de solubilisation donnent des informations sur les interactions dans les grains d'amidon. Le gonflement et une augmentation de la solubilisation de l'amidon de banane plantain intervient à partir de 70°C (Coulibaly et al., 2006; Nunez-Santiago et al., 2004; Nwokocha et Williams, 2009). Lawal et al. (2008) ont trouvé des valeurs différentes avec un gonflement à partir de 50°C, et un plateau entre 60°C et 90°C.

La température de gélatinisation de l'amidon de banane plantain est comprise entre 70°C et 80°C (Bello-Perez et al., 1998; Bello-Perez et al., 1999; Bello-Perez et al., 2000; Espinosa-Solis et al., 2009; Millan-Testa et al., 2005; Mota et al., 2000; Nunez-Santiago et al., 2004; Nwokocha et Williams, 2009). Toutefois, Lawal et al (2008) ont trouvé des valeurs de gélatinisation de 98°C. Les valeurs d'enthalpie (ΔH) observées lors de la gélatinisation vont d'environ 14 J/g à 16 J/g (Bello-Perez et al., 2000; Espinosa-Solis et al., 2009; Lawal et al., 2008; Mota et al., 2000; Nunez-Santiago et al., 2004; Nwokocha et Williams, 2009; Zhang et al., 2005). Eggleston et al., 1992 ont montré l'absence de viscosité maximum pour les pâtes d'amidon de banane plantain à 6, 7 et 8% de matière sèche, ce qui indique que les amidons gonflés sont plutôt résistants à la rupture lors d'une cuisson prolongée.

Le fruit à pain (*Artocarpus altilis*)

1 Présentation et mode de consommation

L'arbre à pain, ou *Artocarpus altilis* (encore appelé *Artocarpus communis*), est une plante dicotylédone de la famille des *Moraceae*, originaire de Polynésie et d'Indonésie (Zerega et al., 2004). C'est un arbre sempervirent de taille moyenne qui peut atteindre 20m de haut (figure 1.3). Il produit un faux-fruit appelé fruit à pain (figure 1.4) qui est complètement mûr au bout de 21 semaines (Worrell et al., 1998).



Figure 1.3: Arbre à pain (*Artocarpus altilis*)



Figure 1.4: Fruit à pain

L'arbre à pain a été introduit aux Antilles à la fin du XVIII^{ème} siècle par le capitaine du Bounty, William Bligh, pour nourrir les esclaves avec ses fruit abondants et nourrissants. Il est aujourd'hui répandu dans toutes les régions tropicales humides pour son intérêt alimentaire

et esthétique (Spary et White, 2004). C'est un arbre des plaines tropicales chaudes et humides. Le fruit à pain est très apprécié dans les Caraïbes (Roberts-Nkrumah et Badrie, 2005).

Le fruit à pain peut être consommé de plusieurs manières suivant les endroits. En Polynésie, les fruits présentant des traces de sèves blanches sur la peau verte sont cueillis, laissés à reposer la nuit puis cuits directement au feu de bois. Une fois la peau cuite jusqu'à obtention d'une fine couche de cendre grise, elle est épluchée et la chair du fruit est servie en tranche. En Micronésie, la fermentation du fruit à pain est utilisée comme moyen de conservation (Atchley et Cox, 1985).

Aux Antilles françaises, le fruit à pain est le plus souvent consommé cuit à l'eau. Comme en Polynésie, les fruits présentant des traces de sève blanche sont cueillis, épluchés, coupés en tranches et cuits dans l'eau salée portée à ébullition. Les morceaux sont ensuite servis accompagnés avec de l'huile et du poisson, ou des viandes en sauce. Le fruit à pain peut également être fris afin d'être dégusté tel quel. Cette dernière méthode de préparation est privilégiée à Trinidad par exemple (Roberts-Nkrumah et Badrie, 2005). De récents travaux ont montré la capacité à utiliser des farines de fruit à pain afin de préparer des biscuits et des frites ayant un taux d'acceptabilité très proches des produits de référence (Nnam et Nwokocha, 2003; Omobuwajo, 2003).

2 Analyses physicochimiques du fruit à pain

2.1 Composition chimique

Relativement peu de données existent concernant le fruit à pain. Le fruit à pain est très riche en potassium, en phosphore, en magnésium, en calcium, en sodium, en fer, en zinc, en vitamine C, en β -carotène et en lutéine (Oshodi et al., 1999; Rincón et Padilla, 2004). Le taux de protéine est par contre peu élevé. La valeur énergétique du fruit à pain est d'environ 120 kcal/100g de portion comestible.

Le fruit à pain est une très bonne source de carbone à maturité, en particulier sous forme d'amidon. En effet, au cours de la maturation, une augmentation de la teneur en amidon est observée tout au long de la maturation du fruit, parallèlement à une diminution des sucres réducteurs et des sucres totaux (Figure 1.5) (Worrell et al., 1998). L'indice glycémique du fruit à pain a été estimé à 60 (Dan Ramdath et al., 2004).

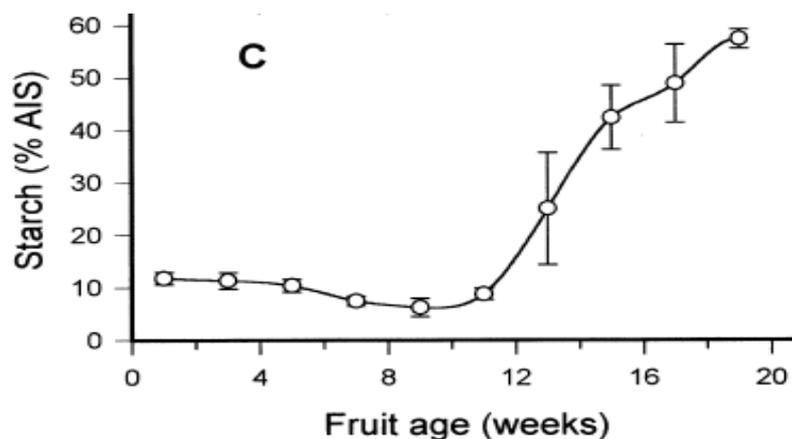


Figure 1.5: Evolution du taux d'amidon pendant la maturation du fruit à pain (Worrell et al)

2.2 Amidon du fruit à pain

2.2.1 *Composition et morphologie des grains d'amidon*

Les grains d'amidon de fruit à pain sont ovoïdes irréguliers de 17 μm de diamètre en moyenne (Adebayo et al., 2008; Akanbi et al., 2009). Peu de données existent concernant leur composition. Ainsi, la concentration en amylose et en amylopectine est estimée à 22,5% et 77,5% (Akanbi et al., 2009) ou 27,7% et 72,3% (Rincón et Padilla, 2004) respectivement. Toutefois, à ce jour, aucune donnée concernant les caractéristiques de ces amyloses et de ces amylopectines ne sont disponibles.

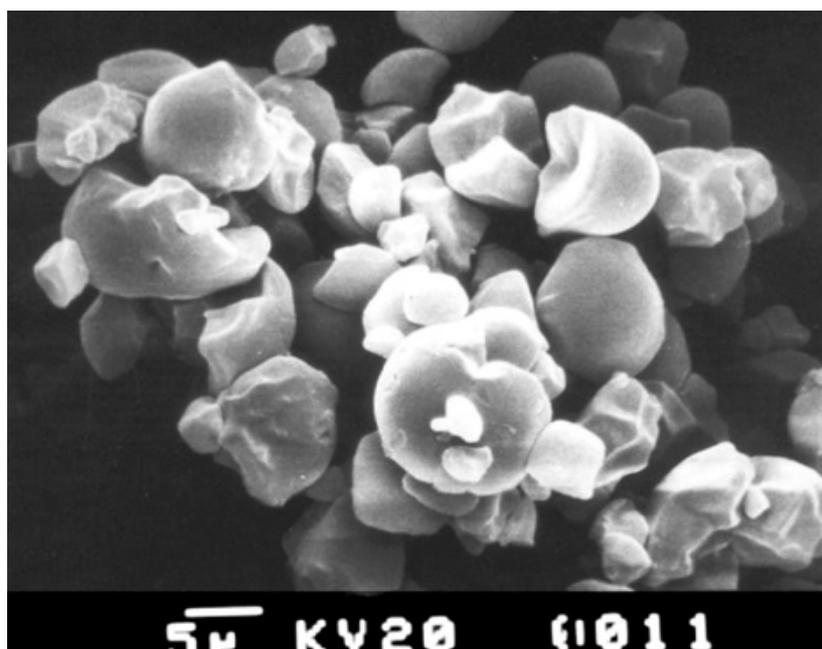


Figure 1.6: Amidon de fruit à pain

2.2.2 Propriétés physicochimiques

L'amidon de fruit à pain a un fort pouvoir de gonflement et de solubilisation. De 70°C à 80°C, on observe une très importante augmentation du gonflement et de la solubilité parallèlement à une augmentation de la température (Akanbi et al., 2009) . La solubilité maximale est atteinte à 90°C. La température de gélatinisation est de 73,3°C (Rincón et Padilla, 2004). Toutefois, des valeurs de 64,6°C et de 84°C ont également été observées par Adebawale et al. (2005) et par Akanbi et al. (2009) respectivement. Les valeurs de rétrogradation sont différentes suivant les auteurs. Ainsi, Adebawale et al. (2005) ont déterminé une valeur de rétrogradation de 174 RVU contre 40 RVU pour Akanbi et al. (2009). Rincón et Padilla (2004) ont proposé de classer l'amidon du fruit à pain dans le groupe des amidons formés de chaînes ramifiées courtes et longues de glucanes.

Relativement peu de données sont disponibles dans la littérature concernant l'amidon de fruit à pain. La raison repose probablement sur le fait que cette plante était cantonnée à une utilisation plus domestique qu'industrielle. Toutefois des travaux récents commencent à montrer les différentes possibilités offertes par cette amylacée très répandue dans le monde, comme pour la réalisation de comprimés effervescents (Adebayo et al., 2008) ou encore la fabrication de biscuits et de chips (Omobuwajo, 2003) .

La patate douce (*Ipomoea batatas*)

1 Présentation et mode de consommation

La patate douce (*Ipomoea batatas*) est une plante vivace, de la famille des Convolvulacées, à tiges rampantes pouvant atteindre 2,5 à 3 m de long. Les feuilles alternes sont entières, au pétiole relativement long et au limbe de forme variable à bord sinué ou denté ou bien lobées, formant 5 à 7 lobes aigus, à nervation palmée. Les fleurs à corolle soudée, de couleur violette ou blanche, sont très semblables à celles du liseron qui appartient au même genre. Elles apparaissent à l'aisselle des feuilles, isolées ou groupées en cymes de quelques fleurs. La fructification de cette plante est très rarement observée en culture.

La patate douce est probablement originaire d'Amérique du Sud. Cette plante, inconnue à l'état sauvage, s'est répandue depuis très longtemps dans toutes les zones tropicales et subtropicales, aussi bien en Amérique, en Océanie, en Asie et en Afrique. Son introduction en Europe est postérieure aux voyages de Christophe Colomb en Amérique. Sa culture en France date de 1750 environ.

La patate douce produit des tubercules de forme plus ou moins allongée, voire arrondie, à la peau fine. Suivant la variété, la couleur de la peau du tubercule va du blanc au jaune, à l'orange ou au violet (photo). Ce tubercule est très riche en amidon. Sa saveur sucrée et sa texture farineuse rappellent un peu celles de la châtaigne.



Figure 1.7: Patate douce (*Ipomoea batatas*)

La patate douce est cultivable même sur les sols pauvres, mais elle préfère un sol profond, frais et riche en humus. La multiplication est exclusivement végétative, par plantation soit de tubercules, soit de rejets produits par des tubercules mis à germer, soit par des boutures de fragment de tiges. Cette plante se cultive aussi bien en région tropicale qu'en région tempérée

chaude. En région tropicale, la culture peut se faire en toute saison, même s'il est préférable de la récolter en dehors de la saison des pluies car les tubercules sont très sensibles au pourrissement en cas d'excès d'humidité.

Les tubercules se mangent toujours cuits, à l'eau ou au four, ou bien frits, aussi bien en légumes qu'en dessert grâce à leur saveur sucrée. La patate douce est un aliment de base dans les régions tropicales où elle prend la place de la pomme de terre. Les feuilles de patate douce peuvent être consommées, à la manière des épinards. La patate douce, en raison du saccharose présent, peut être utilisée pour la production d'alcool par fermentation et distillation, ainsi qu'à la production de féculé.

2 Données économiques

La surface totale mondiale consacrée à la culture de la patate douce est de 9,1 millions d'hectares (FAO, 2007). La Chine représente à elle seule plus de la moitié de la surface cultivée (4,7 millions d'hectares), devant le Nigéria (1 million d'hectares), l'Ouganda (578 000 hectares), la Tanzanie (505 000 hectares), le Vietnam (180 000 hectares) et l'Indonésie (173 000 hectares). Aux Antilles françaises, les surfaces consacrées à la culture de la patate douce sont de 370 Ha en Guadeloupe et 125 Ha en Martinique.

La production mondiale de patate douce est de 126,3 millions de tonnes. La Chine est le principal producteur avec une production en 2007 de 102,2 millions de tonnes (FAO, 2007), devant le Nigéria (3,5 millions de tonnes), l'Ouganda (2,6 millions de tonnes), l'Indonésie (1,8 millions de tonnes), le Vietnam (1,4 millions de tonnes) et le Japon (1 million de tonnes). La production en Guadeloupe est estimée à 4300 tonnes.

3 Analyses physicochimiques de la patate douce

3.1 Composition chimique

La patate douce a une valeur énergétique de 86 Kcal/100 g de portion comestible. C'est une bonne source de calcium (environ 70 mg/100 g), de phosphore (40-50 mg/100 g), de sodium (20-38 mg/100 g), et une excellente source de potassium (235-502 mg/100 g) (Ishida et al., 2000; Panda et al., 2007). Le contenu en protéine est de l'ordre de 3g/100g de portion comestible (Bressani et al., 1984). Les quantités de lipide retrouvées sont par contre assez limitées (0,20 g/100 g). Les fibres diététiques ont une valeur d'environ 3 g/100g. Selon les variétés, la patate douce peut être une source très intéressante de β -carotène (8 μ g-18 mg/ 100 g). La patate douce est relativement riche en vitamine B1 (52-130 μ g/100 g), B2 (37-58 μ g/100 g) et B6 (36-105 μ g/ 100g). C'est une source très importante de vitamine C (20-35

mg/100 g) et de vitamine E (0,32 mg/100 g). La patate douce est une très bonne source de carbone, principalement sous forme d'amidon (Jyothi et al., 2005) et de saccharose.

BIOCHEMICAL CONSTITUENTS OF β -CAROTENE-RICH
SWEET POTATO VAR. ST 14 (FRESH WEIGHT BASIS)

Constituents	Mean value*
Moisture (g/kg)	755.0 \pm 39.2
Protein (g/kg)	33.8 \pm 2.2
Starch (g/kg)	148.0 \pm 35.4
Total sugar (g/kg)	23.5 \pm 3.4
Dietary fiber (g/kg)	18.9 \pm 2.9
Ash (g/kg)	9.2 \pm 1.8
Minerals (mg/kg)	
Ca	350 \pm 2.4
P	510 \pm 1.1
Mg	260 \pm 4.7
Na	380 \pm 3.5
K	2,830 \pm 13.4
S	150 \pm 12.2
Fe	5.8 \pm 1.4
Cu	1.8 \pm 0.2
Zn	6.8 \pm 1.0
Mn	1.5 \pm 0.4
Al	7.5 \pm 0.3
B	1.2 \pm 0.3
β -Carotene (mg/kg)	180 \pm 4.1
Ascorbic acid (mg/kg)	200 \pm 4.1

* Data obtained from the same cultivar grown in three subplots (4 \times 4 m) in the same field (40 \times 40 m) harvested in November 2005.

\pm SD.

Tableau 3: Composition de la patate douce (Panda et al, 2007)

3.2 Amidon de la patate douce

3.2.1 *Composition et morphologie des grains d'amidon*

Le grain d'amidon de patate douce est rond, polygonal ou ovale et a une taille d'environ 2-72 μ m (Hoover, 2001; Jangchud et al., 2003; Moorthy, 2002; Noda et al., 2008; Peroni et al., 2006; Wickramasinghe et al., 2009; Yadav et al., 2007; Zaidul et al., 2007). L'amidon de patate douce est selon les travaux de type A (Hoover, 2001; Shariffa et al., 2009) ou de type C (Moorthy, 2002; Osundahunsi et al., 2003; Yadav et al., 2007).

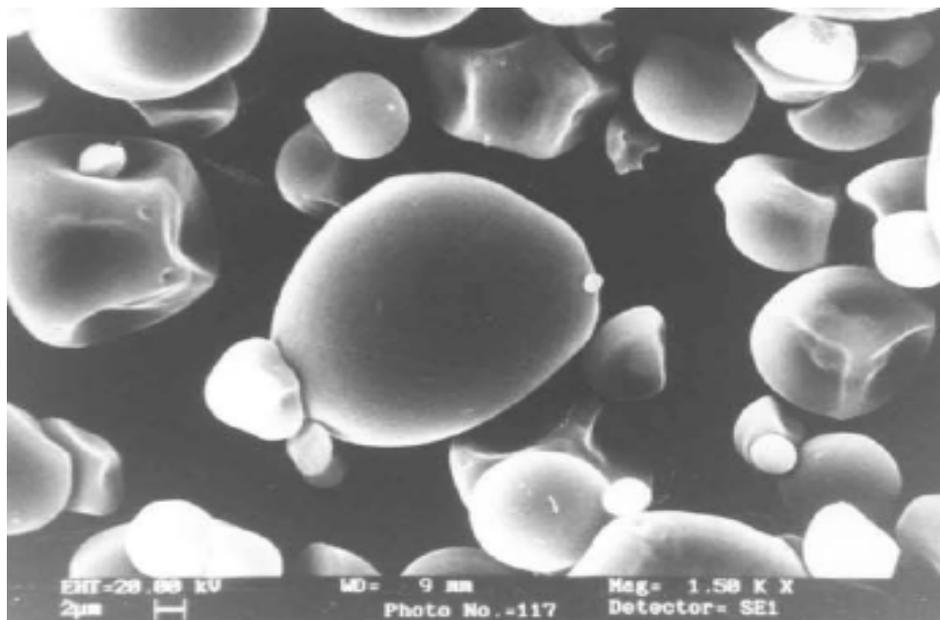


Figure 1.8: Amidon de patate douce

Les valeurs d'amylose retrouvées pour la patate douce varient également selon les auteurs. Celles-ci vont de 4% (Lockwood et al., 2008) à 80% (Oladebeye et al., 2009). Toutefois, la majorité des auteurs estiment que la concentration d'amylose est comprise entre 20% et 35% (Aina et al., 2009; Huang et al., 2010; Moorthy, 2002; Osundahunsi et al., 2003; Peroni et al., 2006; Ramesh Yadav et al., 2006; Ramesh Yadav et al., 2007; Shariffa et al., 2009; Tan et al., 2006; Yadav et al., 2007; Zaidul et al., 2007). Le poids moléculaire de l'amylose de patate douce est estimé à $3,28.10^5$ Da (Tan et al., 2006), et le degré de polymérisation observé est de 3400-4100 (Hoover, 2001).

L'amylopectine de patate douce, de poids moléculaire $2,23.10^7$ Da (Tan et al., 2006), a un DP de 6-28 en majorité (Hoover, 2001; Noda et al., 2008; Tan et al., 2006).

3.2.2 Propriétés physicochimiques

L'amidon de patate douce a une capacité de gonflement d'environ 20-50 ml/g et une solubilité d'environ 20% débutant à environ 80°C (Jyothi et al., 2005; Jangchud et al., 2003; Peroni et al., 2006; Wickramasinghe et al., 2009; Osundahunsi et al., 2003; Ramesh Yadav et al., 2006; Ramesh Yadav et al., 2007; Lu et al., 2006). Shariffa et al. (2009) ont pour leur part trouvé une valeur de 10 ml/g pour la capacité de gonflement et 4% pour la solubilité.

La température de gélatinisation de l'amidon de patate douce est comprise entre 70°C et 80°C (Huang, 2009; Iwe, 1998; Jyothi et al., 2005; Lockwood et al., 2008; Peroni et al., 2006). Ces valeurs restent constantes quelque soit la concentration en amidon de patate douce utilisée (Zaidul et al., 2008). Les paramètres de viscosité d'amidon de patate douce à 7% et

11% montrent respectivement, un pic de viscosité de 66-132 RVU et 250-463 RVU, une viscosité de la pâte chaude de 61-108 RVU et 114-242 RVU, et une viscosité de pâte froide de 84-186 RVU et 187-352 RVU (Collado et al., 1999). Les valeurs d'enthalpie lors de la gélatinisation sont d'environ 13-15 J/g (Hoover, 2001; Jyothi et al., 2005; Moorthy, 2002). Pour l'amidon rétrogradé, la température de gélatinisation passe à environ 55°C et une valeur d'enthalpie de 6,4 J/g (Peroni et al., 2006).

Les amidons de patate douce sont plus digestibles une fois gélatinisés, que sous forme brute (Noda et al., 2008) en raison de la rupture et de la désintégration de la structure cristalline compacte des grains d'amidon (Yadav et al., 2007; Ramesh Yadav et al., 2007).

Les bactéries lactiques

1 Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont Gram positives et ne produisent pas de catalase, ni de nitrate-reductase, ni de cytochrome-oxydase. Les bactéries lactiques sont immobiles, asporulées, anaérobies mais aéro-tolérantes. Elles ne liquéfient pas la gélatine et ne produisent pas d'indole ni d'hydrogènes sulfureux. Seules quelques espèces sont capables d'hydrolyser la caséine.

Les bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles en ce qui concerne les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles. Lors de la fermentation des glucides, les bactéries lactiques peuvent produire soit de l'acide lactique uniquement (bactéries homofermentaires), soit de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂ (bactéries hétérofermentaires strictes). Les bifidobactéries ont un métabolisme qui leur est propre, à savoir qu'elles produisent un mélange d'acide lactique et d'acide acétique. Certaines espèces peuvent produire de l'acide formique ou de l'acide succinique.

1.1 Le genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* spp regroupe de nombreuses espèces présentes dans la nature mais rarement pathogènes. Ce genre se divise en trois groupes :

- Groupe I : formé des lactobacilles homofermentaires stricts ne produisant presque exclusivement que de l'acide lactique à partir de la fermentation des hexoses. Ils ne peuvent fermenter ni les pentoses ni les gluconates.
- Groupe II : formé de lactobacilles hétérofermentaires facultatifs qui fermentent les hexoses en acide lactique, et peuvent fermenter les pentoses en acide lactique et en acide acétique grâce à une phosphocétolase inductible.
- Groupe III : formé de lactobacilles hétérofermentaires stricts qui fermentent les hexoses en acide lactique, acide acétique (ou éthanol) et CO₂, et qui fermentent les pentoses en acide lactique et acide acétique.

	I Homofermentative		II Heterofermentative	
Glucose fermented to lactic acid	≥ 85%		50%	
Formation of CO ₂ , acetic acid and ethanol	-		+	
CO ₂ formed from glucose	-		+	
Thiamine required for growth	-		+	
Fructose di-phosphate aldolase present	+		-	
Orla-Jensen, 1919				
	“ <i>Thermobacterium</i> ” Obligate homofermentative	“ <i>Streptobacterium</i> ” Facultative Obligate heterofermentative	“ <i>Betabacterium</i> ” heterofermentative	
Rogosa, 1970	IA	IB	II	
Growth at 45°C	+	d		
Growth at 15°C	-	d		
Ribose fermented	-	+	+	
CO ₂ from gluconate	-	+	+	
Rogosa, 1974			II	III
Acidophilic			-	+
Ethanol tolerant			-	+
Most carbohydrates fermented			+	-
Sharpe, 1979			IIA	IIB
Aerobic species	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. brevis</i>	<i>L. fructivorans</i>
	<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. coryniformis</i>	<i>L. buchneri</i>	<i>L. hilgardii</i>
	<i>L. helveticus</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. confusus</i>	
	<i>L. jensenii</i>	<i>L. homohiochii</i>	<i>L. fermentum</i>	
	<i>L. salivarius</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. viridescens</i>	
		<i>L. yamanshiensis</i>		
Anaerobic species	<i>L. ruminis</i>			
	<i>L. vitulinus</i>			
Kandler and Weiss, 1986				
	Group I	Group II	Group III	
Hexose almost exclusively to lactic acid	+	+	-	
Hexose fermented to lactic-, acetic acid, ethanol, CO ₂	-	-	+	
Lactic-, acetic-, formic acid, ethanol under glucose limitation	-	d	+	
Pentose phosphoketolase	-	+	+	
Gluconate fermented	-	+	+	

d Strain dependent; *L.*, *Lactobacillus*

Tableau 4: Classification des lactobacilles selon les paramètres métaboliques et de fermentation

Cette classification est la seule reconnue, bien qu'elle soit imparfaite car le séquençage de l'ADNr 16S a montré que des bactéries lactiques classées selon des caractères phénotypiques sont en réalité de parenté phylogénique très éloignée. De plus, le contenu en GC% qui varie énormément d'une espèce à l'autre (32 à 53%) et l'absence d'homologie ADN-ADN significative entre beaucoup d'espèces, sont aussi le reflet d'une parenté phylogénique éloignée.

1.2 Voies métaboliques des lactobacilles

Les lactobacilles des groupes I et II convertissent par la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) une mole de glucose, via la formation de deux pyruvates et deux NADH,H⁺, en deux moles d'acide lactique en générant deux Adénosine Tri Phosphate (ATP).

Les lactobacilles du groupe III convertissent, par la voie des pentoses phosphates, le glucose en une molécule de lactate, une molécule de CO₂ et une molécule d'éthanol ou d'acétate, et génère une mole d'ATP avec réoxydation du NADH₂ en NAD.

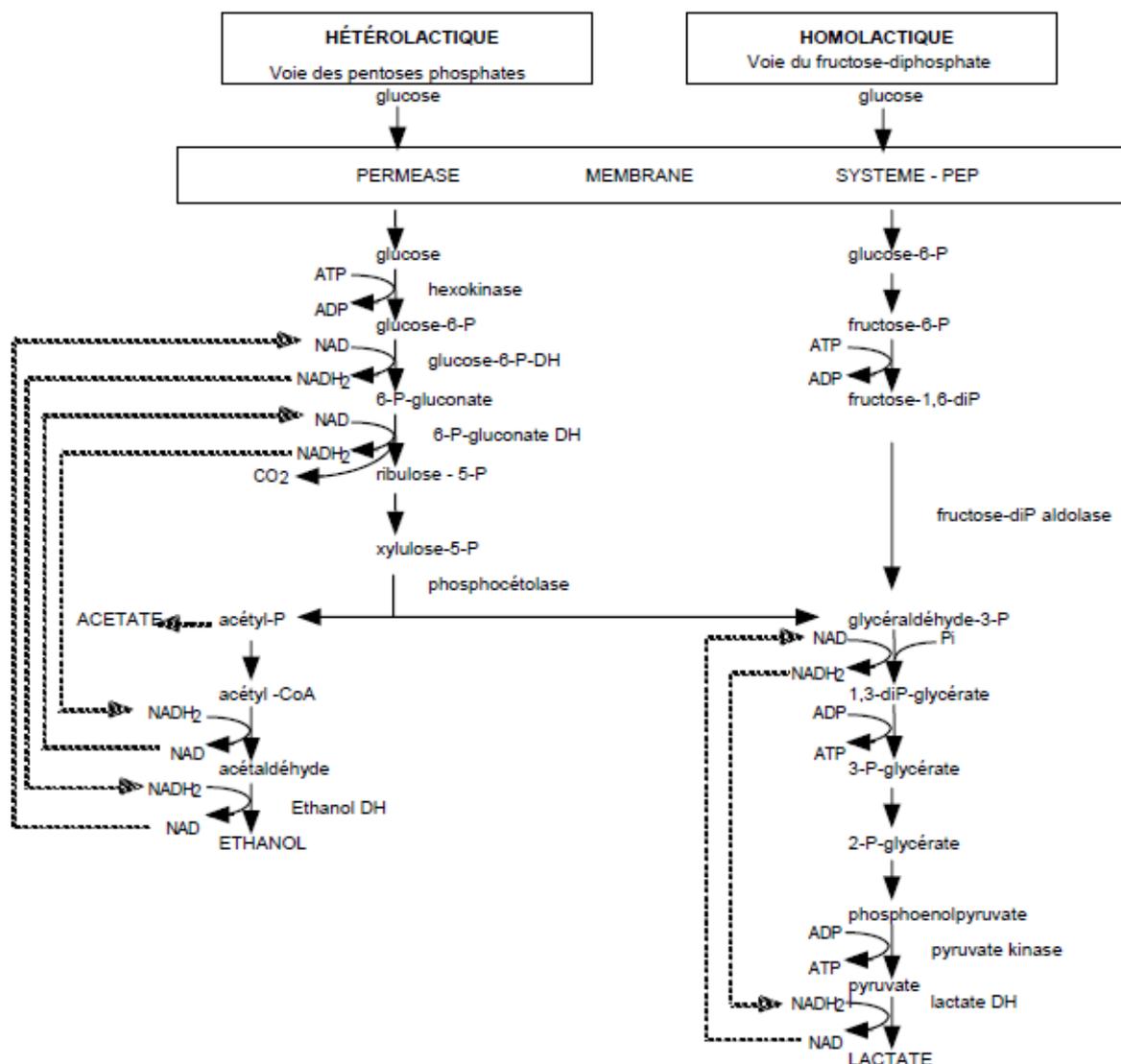
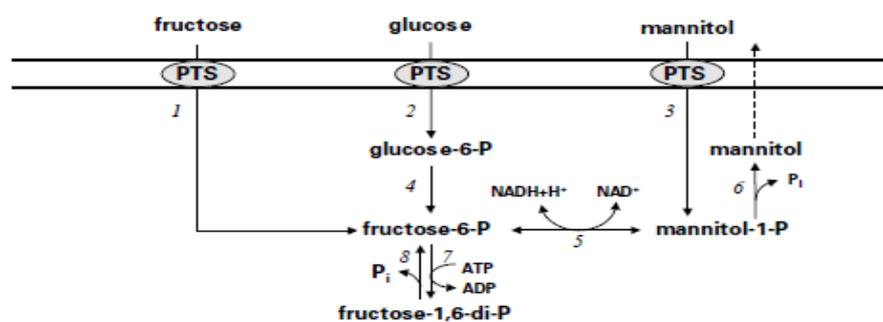


Figure 1.9: Voies métaboliques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont capables de produire du mannitol (Wisselink et al., 2002). Pour les bactéries homofermentaires (incluant les groupes de lactobacilles I et II), quand la fermentation se fait à partir du glucose, la voie du fructose-diphosphate (ou voie d'Embden-

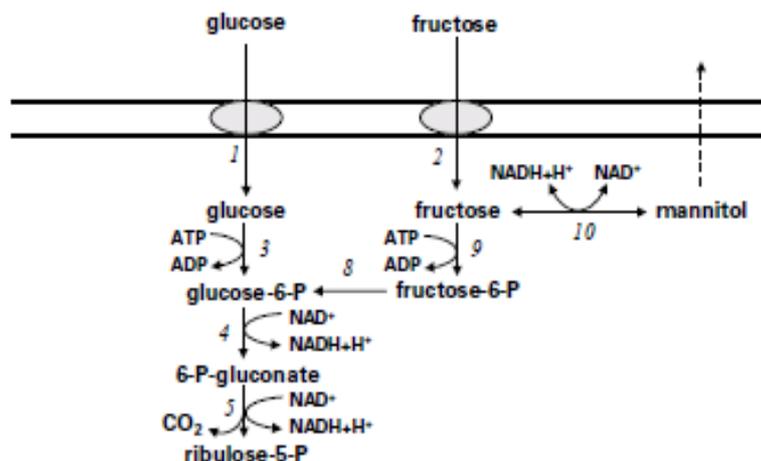
Meyerhof-Parnas) classique est observée (Figure 1.10). Le pyruvate est alors réduit en acide lactique par une lactate déshydrogénase NAD^+ dépendante, tout en réoxydant le NADH formé lors des étapes précédentes. Sous certaines conditions, les bactéries lactiques homofermentaires sont capables de produire un mélange de produits de fermentation comme l'acide acétique, l'éthanol, le diacétyl et dans certains cas le mannitol. La synthèse du mannitol par les bactéries lactiques homofermentaires commence au niveau de l'intermédiaire de glycolyse, le fructose-6-phosphate. Le mannitol 1-phosphate déshydrogénase (EC 1.1.1.17) catalyse la réduction du fructose 6-phosphate, et à contrario, l'oxydation du mannitol 1-phosphate. Le mannitol 1-phosphate est ensuite déphosphorylé en mannitol par la mannitol phosphatase. Toutefois, cette production de mannitol est très rare et passe souvent par une désactivation (ou une mutation) de la lactate déshydrogénase. La consommation de mannitol par ces bactéries lactiques homofermentaires est plus connue (Wisselink et al., 2002).



(1) and (2); phosphoenolpyruvate (PEP)-dependent sugar phosphotransferase system (PTS); (3) mannitol-specific PTS; (4) phosphoglucose isomerase; (5) mannitol 1-phosphate dehydrogenase; (6) mannitol 1-phosphatase; (7) 6-phosphofructokinase; (8) fructose-diphosphatase

Figure 1.10: Voie de production du mannitol par les bactéries lactiques homofermentaires

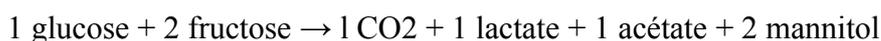
Les bactéries lactiques hétérofermentaires strictes, dont les lactobacilles du groupe III font partie, utilisent la voie des pentoses phosphates et sont déficientes en fructose 6-phosphate diphosphate aldolase. Par la conversion de l'acétyl phosphate en acide acétique, une molécule d'ATP supplémentaire peut être produite. Sous des conditions anaérobies, des composés comme le pyruvate et le fructose peuvent être réduits. Le mannitol est le produit final de la réduction du fructose. Cette réaction est réalisée par une mannitol déshydrogénase (EC 1.1.1.67) (Figure 1.11).



(1) and (2); glucose and fructose permease; (3) glucokinase; (4) glucose 6-phosphate dehydrogenase; (5) 6-phosphogluconate dehydrogenase; (8) glucose phosphate isomerase; (9) fructokinase; (10) mannitol dehydrogenase

Figure 1.11: Voie de production du mannitol par les bactéries lactiques hétérofermentaires (Wisselink et al., 2002)

En présence de glucose et de fructose, l'équation de la réaction est la suivante :



En présence de fructose uniquement, l'équation de la réaction est la suivante :



A l'inverse des bactéries lactiques homofermentaires, les bactéries lactiques hétérofermentaires ne produisent pas de mannitol phosphate déshydrogénase, et ne consomment donc pas de mannitol. Des souches de *Lactobacillus fermentum* (hétérofermentaire stricte) ont récemment montré une capacité à produire du mannitol en grande quantité (Vrancken et al., 2008).

2 Les bactéries lactiques amylolytiques

La fermentation lactique est très répandue dans les pays industrialisés dits « du Nord », notamment lors de la fabrication des fromages et du saucisson par exemple. Toutefois, il existe « au Sud » une très large variété d'aliments faisant intervenir une étape de fermentation lactique au cours de la transformation des matières premières (Blandino et al., 2003), en particulier ceux élaborés à partir de céréales, tel le pozol du Mexique, boisson fermentée à base de maïs (Wacher et al., 2000), ou de manioc comme le fufou ou la chikwangue de certains pays africains (Trèche et Massamba, 1995). Certaines de ces fermentations sur matière première amylicée ont fait l'objet d'études des microflore impliquées dans ces procédés de transformation traditionnels. Ainsi pour l'amidon aigre de manioc produit en Colombie, les espèces suivantes ont été identifiées par séquençage des amplicons d'ADNr

16S extraits de gels d'électrophorèse en gradient de dénaturation (DGGE): *Bifidobacterium minimum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus* sp., *Enterococcus saccharolyticus*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus manihotivorans* (Ampe et al., 2001). En ce qui concerne certains aliments fermentés à base de maïs comme le pozol du Mexique, le potopoto du Congo et l'ogi du Bénin, Ampe et Miambi (2000) décrivent parmi les principales espèces la présence de *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*. Cette description est complétée pour le pozol par celle de Diaz-Ruiz et al. (2003) qui montrent que des espèces de streptocoques, telles que *Streptococcus bovis*, sont aussi majoritairement présentes.

Les études des fermentations lactiques sur matières premières amylacées ont également permis de mettre en évidence des bactéries lactiques capables de fermenter l'amidon (Figure 1.12), qui est la principale source de carbone de ces matières premières.

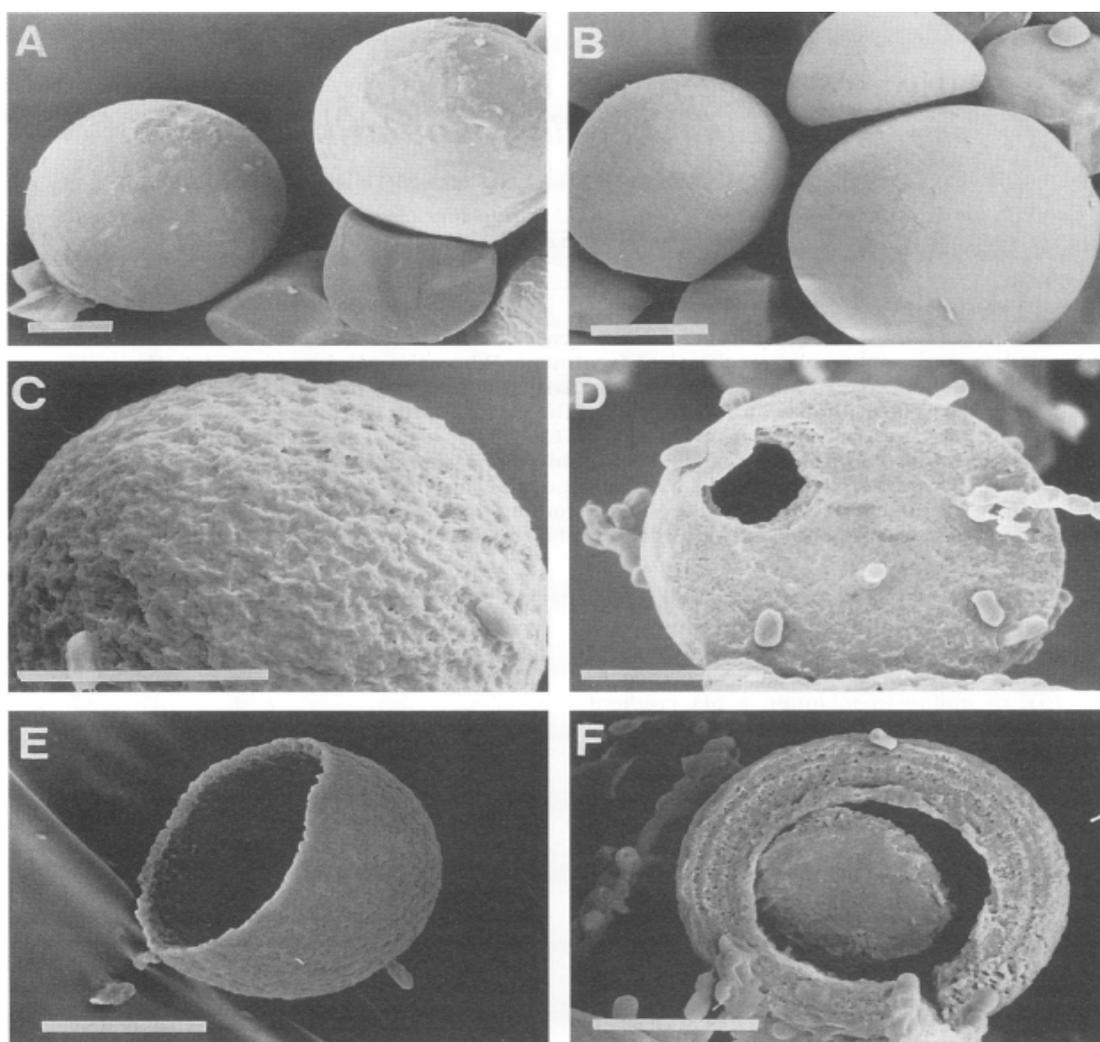


Figure 1.12: Amidons de manioc hydrolysés par *Lb plantarum* A6 après cuisson (A, C, E) ou crus (B, D, E) selon Giraud et al (1994)

Si ces bactéries lactiques amylolytiques (BLA) ont été isolées à partir de nombreux types d'aliments amylicés fermentés tant du continent américain, que d'Asie et d'Afrique, Morishita et Shiromizu (1986) ont isolé des BLA à partir de viandes et produits carnés au Japon. Par ailleurs, des bactéries intestinales comme les bifidobactéries peuvent être amylolytiques (Ryan et al., 2006).

Sans être dominantes, les BLA peuvent constituer en fin de fermentation 12 % à 14% de la microflore lactique (Johansson et al., 1995; Tou et al., 2006). Ces taux peuvent varier en cours de fermentation, ainsi pour le pozol la proportion de BLA au sein de la communauté bactérienne varie de 40 à 30% en début et en fin de fermentation (Diaz-Ruiz et al., 2003).

Les BLA connues à ce jour sont réparties entre les principaux genres et espèces de bactéries lactiques, et sont listées dans le tableau suivant (Reddy et al., 2008) :

Amyolytic lactic acid producing bacteria so far reported	
Bacteria	Strain
<i>L. manihotivorus</i>	OND32T
<i>L. manihotivorus</i>	LMG18010T
	LMG 18011
<i>L. fermentum</i>	Ogi E1
<i>L. fermentum</i>	MW2
<i>L. fermentum</i>	K9
<i>L. amylovorus</i>	ATCC33622
<i>L. amylovorus</i>	B-4542
<i>L. amylovorus</i>	
<i>L. amylophilus</i>	JCIM 1125
<i>L. amylophilus</i>	B 4437
<i>L. amylophilus</i>	GV6
<i>L. acidophilus</i>	
<i>L. fermentum</i>	L9
<i>L. plantarum</i>	A6
<i>L. plantarum</i>	LMG18053
<i>L. plantarum</i>	NCIM 2084
<i>S. bovis</i>	148
<i>Lactobacillus</i> sp.	TH165
<i>Leuconostoc</i>	S3-28
<i>L. cellobiosus</i>	
<i>Lactobacillus</i> strains	LEM 220, 207, 202
<i>Leuconostoc</i> strains	
<i>S. macedonicus</i>	
<i>L. amyolyticus</i>	

Tableau 5: Principales bactéries lactiques amylolytiques isolées à ce jour

Toutefois, seules quelques unes de ces souches ont fait l'objet d'études approfondies. Parmi celles-ci on peut citer *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus plantarum* A6, *Lactobacillus fermentum* OgiE1 et *Lactobacillus manihotivorans* LMG 18010^T.

2.1 Les α -amylases des bactéries lactiques amylolytiques

2.1.1 Particularités des α -amylases des bactéries lactiques amylolytiques

Les enzymes impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon sont variées et se distinguent selon leur mode d'action (endo ou exo) et selon qu'elles hydrolysent les liaisons α -1 \rightarrow 4 ou α -1 \rightarrow 6, leurs produits d'hydrolyse et leur configuration. Différentes enzymes amylolytiques ont été mises en évidence chez les BLA, comme la glucoamylase, l' α -glucosidase, l'amylopullulanase et l' α -amylase. Pour illustrer ceci, Calderon Santoyo et al. (2003) ont proposé un modèle d'hydrolyse de l'amidon pour la souche *Lb. fermentum* Ogi E1 (Figure 1.13).

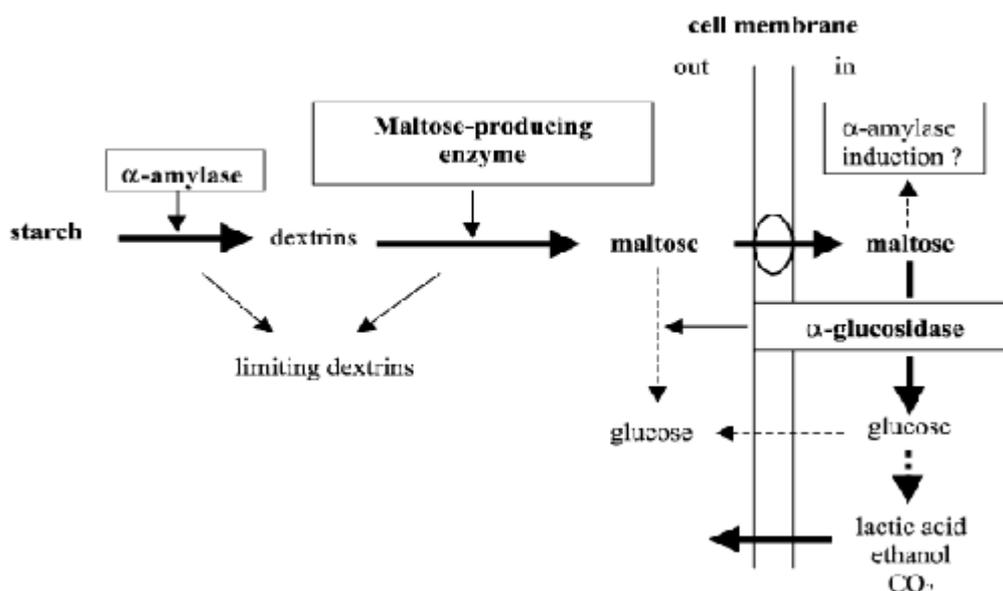


Figure 1.13: Modèle d'hydrolyse de l'amidon par *Lactobacillus fermentum* OgiE1

Les α -amylases ont été celles qui ont été les plus étudiées. Les α -amylases (1,4- α -D-glucan-4 glucanohydrolase; EC 3.2.1.1) sont un vaste groupe d'endo-enzymes qui catalysent l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques de l'amidon cru et soluble, générant ainsi des dextrans et des oligosaccharides (Rodriguez-Sanoja et al., 2005) ainsi que du maltose.

Une caractéristique majeure des α -amylases des BLA est que leur poids moléculaire est environ deux fois supérieur à celui des α -amylases bactériennes, telles que celles produites par les *Bacillus* dont le poids moléculaire se situe dans une fourchette de 50 à 60 kDa (Vihinen et Mantsiila, 1989). Ainsi, le poids moléculaire des α -amylases des BLA est par exemple de 99,5

kDa pour *Lb. plantarum* A6, 140 kDa pour *Lb amylovorus*, 100 kDa pour *Lb. amylophilus*, et de 135 kDa pour *Lb. manihotivorans* LMG 18010^T (Aguilar et al., 2000; Giraud et Cuny, 1997; Pompeyo et al., 1993).

La comparaison des cinétiques d'hydrolyse de l'amylose par les α -amylases de *Lactobacillus fermentum* Ogi E1, *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus manihotivorans* montre que celle produite par *Lactobacillus plantarum* A6 présente une meilleure aptitude à hydrolyser l'amidon que celles des deux autres bactéries (Talamond et al., 2002). Les auteurs ont montré également que le type d'inhibition de l' α -amylase de *Lb. fermentum* Ogi E1 par l'acarbose (inhibiteur pseudotetrasaccharidique) se différenciait des amylases des autres espèces (Tableau 6).

Enzyme	k_{cat} (s ⁻¹)	K_m (nM)	k_{cat}/K_m (s ⁻¹ M ⁻¹) × 10 ⁻⁹	K_{11} ^a (μ M)	L_{11} ^a (μ M)	Type of inhibition
FERMENTA	130 ± 3	130 ± 11	1	5.27 ± 2.41	1.73 ± 0.15	Mixed non-competitive
MANIHOA	225 ± 5	70 ± 6	3.2	ns	1.52 ± 0.09	Uncompetitive
PLANTAA	706 ± 15	56 ± 5	12.6	ns	1.93 ± 0.12	Uncompetitive

^a K_{11} , L_{11} are dissociation constants of the inhibitor containing complexes EI and ESI, respectively. Amylose was substrate.

Tableau 6: Paramètres cinétiques et constantes d'inhibition des α -amylases de *Lb fermentum* (FERMENTA), *Lb manihotivorans* (MANIHOA) et *Lb plantarum* (PLANTAA)

2.1.2 Structure des α -amylases

Les α -amylases sont constituées d'un domaine catalytique, d'un domaine B situé entre la troisième bande β et la troisième hélice α , et d'un domaine C à la suite de la portion catalytique constitué de bandes β . Ce domaine C stabiliserait le domaine catalytique en séparant les résidus hydrophobiques de celui-ci du solvant.

Les α -amylases de *Lactobacillus manihotivorans*, *Lactobacillus amylovorus* et *Lactobacillus plantarum* A6 appartiennent au groupe CBM26 et leur partie catalytique appartient au groupe GH13. Il existe un autre domaine présent dans 10% des α -amylases et des enzymes qui leur sont associées : le domaine de liaison de l'amidon (DLA).

Ce DLA est un domaine fonctionnel non catalytique qui peut lier les grains d'amidon, ce qui permet une augmentation locale de la concentration en substrat au niveau du site actif de l'enzyme, améliorant ainsi la capacité amylolytique de l' α -amylase. Ce domaine permettrait aussi une désorganisation de la surface de l'amidon, ce qui augmenterait l'efficacité de l'amylolyse (Rodriguez-Sanoja et al., 2005; Sorimachi et al., 1997; Southall et al., 1999). Ces DLA sont généralement localisés au niveau de la partie C-terminal (Rodriguez-Sanoja et al., 2005).

Ce domaine de liaison de l'amidon est constitué d'environ 500 acides aminés organisés en tandem de répétition de 91 acides aminés chacun, avec 4 répétitions pour *Lactobacillus manihotivorans* (Morlon-Guyot et al., 2001; Rodriguez-Sanoja et al., 2005) et *Lactobacillus plantarum* et 5 répétitions pour *Lactobacillus amylovorus* (Giraud et Cuny, 1997).

De part et d'autre des régions répétées se trouvent deux régions, une de 35 nucléotides (à l'extrémité 5' de la région répétée) et une autre de 21 nucléotides (à l'extrémité 3'). Chez *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus manihotivorans*, on retrouve des régions intermédiaires de 48 nucléotides entre les régions répétées qui sont riches en sérine et en thréonine (Rodriguez-Sanoja et al., 2005).

Les travaux de Rodriguez-Sanoja et al. (2005) sont venus corroborer ceux de Giraud et Cuny (1997) qui ont étudié les parties N-terminale et C-terminale de l' α -amylase de *Lactobacillus plantarum* A6. Ils montrent que cette partie N-terminal possède les caractéristiques typiques de la famille des α -amylases, avec 65% de similarité avec celle de *Bacillus subtilis* et 97% d'identité avec celle de *Lactobacillus amylovorus*. Les observations concernant la partie C-terminal de l' α -amylase et les tandems de répétitions de *Lactobacillus plantarum* et de *Lactobacillus amylovorus* ont également été corroborés. Par ailleurs, le séquençage des gènes *AmyA* de *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus manihotivorans* montre une similarité de 98% (Rodriguez-Sanoja et al., 2005).

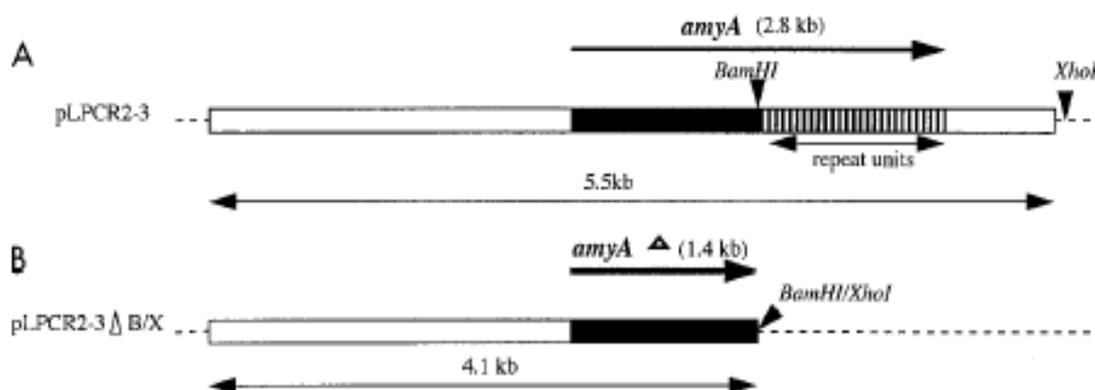
Les DLA des α -amylases de *Lactobacillus plantarum* A6 et de *Lactobacillus amylovorus* ne diffèrent significativement qu'au niveau de leur organisation. La comparaison de leur capacité à hydrolyser différentes sources d'amidon sous forme granulaire ou gélatinisée a permis de mettre en évidence des différences entre ces deux enzymes (Rodriguez-Sanoja et al., 2005). Ainsi, l' α -amylase de *Lactobacillus amylovorus* hydrolyse l'amidon dix fois plus vite que celle de *Lactobacillus plantarum* A6, et relâche dix fois plus de sucres réducteurs. Toutefois, une très faible différence est observée entre ces deux enzymes quand l'amylose est utilisée comme substrat. Les deux enzymes se sont montrées également plus efficaces sur l'amidon de pomme de terre que sur la farine de maïs insoluble. Par ailleurs, aucune différence n'a été observée concernant l'adsorption des enzymes sur l'amidon cru, ce qui montre que, bien que les unités répétées et les régions intermédiaires interviennent dans la liaison de l'enzyme à l'amidon, leur nombre par contre ne joue pas vraiment de rôle dans l'efficacité de l'attachement.

Ce domaine de liaison à l'amidon est toutefois indispensable à l'hydrolyse et à l'adsorption sur l'amidon cru ou soluble. Ainsi, Rodriguez Sanoja et al. (2000), en se basant sur des observations de Fitzsimons et al. (1994), ont utilisé la souche *Lactobacillus plantarum* A6

afin d'étudier les différences qui existent entre une forme tronquée et une forme complète de l'enzyme. Dans la forme tronquée, la partie du gène *AmyA* codant pour les 66 kDa de la région répétée de la partie C-terminale a été déléetée (Figure 1.14).

Les deux formes de l'enzyme montrent des activités spécifiques identiques pour l'amylose, l'amylopectine, les α -cyclodextrines et l'amidon soluble. Les deux enzymes sont incapables d'hydrolyser le pullulane ou les β et les γ -cyclodextrines. Par contre, la forme complète de l'enzyme obtient de meilleurs résultats pour l'hydrolyse du glycogène que la forme tronquée (qui a une activité très faible). De même, l'enzyme tronquée est incapable de dégrader l'amidon cru et de se fixer à celui-ci, alors qu'il s'agit de caractéristiques primordiales de l' α -amylase de *Lactobacillus plantarum* A6.

Ce domaine de liaison à l'amidon joue donc un rôle prépondérant dans la réaction de dégradation de l'amidon par l' α -amylase. En effet, en plus d'augmenter la concentration de l'amidon au niveau du site catalytique, le DLA permet à l'enzyme de se fixer à l'amidon cru et rend ainsi possible l'hydrolyse de celui-ci.



(A) Plasmide pLPCR2-3, portant le gène AmyA de 2,8 kb de *L.amylovorus* lié au site Bg/II du plasmide pLPCR2-3. (B) Plasmide pLPCR2-3ΔB/X obtenu après délétion du fragment BamHI-XhoI (2kb) à partir de pLPCR2-3

Figure 1.14: Carte de restriction des plasmides pLPCR2-3 et pLPCR2-3ΔB/X.

Bien que les α -amylases constituent une des caractéristiques des bactéries lactiques amylolytiques, elles font partie d'un véritable puzzle enzymatique (Figure 1.15), constitué d'un ensemble d'enzymes dont les activités se complètent, comme les α -glucosidases (Calderon Santoyo et al., 2003) ou l'amylopullulanase (Olympia et al., 1995; Vishnu et al., 2006).

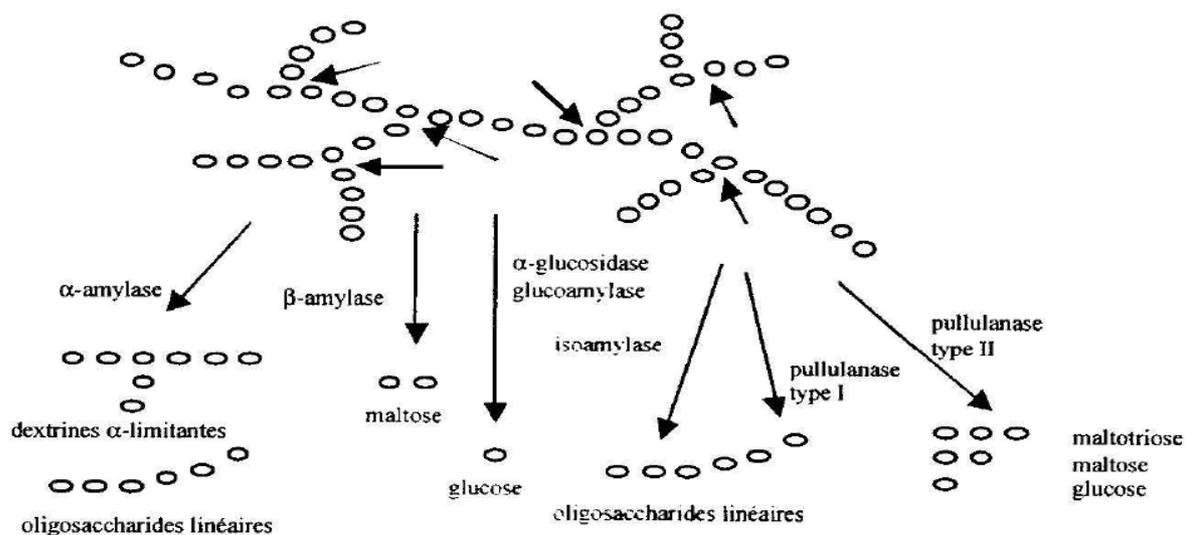


Figure 1.15: Pool enzymatique amyliques et leur produit de dégradation de l'amidon

2.2 Domaines d'application des bactéries lactiques amylolytiques

Les bouillies fermentées préparées à partir de pâtes ou de farines fermentées de céréales ou de manioc sont fréquemment utilisées en alimentation complémentaire à l'allaitement maternel du jeune enfant. La valeur nutritionnelle d'une bouillie infantile dépend, entre autre, de l'énergie disponible dans un volume donné d'aliment et de la biodisponibilité en macro- et micro-nutriments.

Telles que préparées traditionnellement dans les pays en développement, les bouillies infantiles utilisées comme aliment de complément du jeune enfant (ACJE) n'ont pas une densité énergétique suffisante pour satisfaire aux besoins du jeune enfant. Pour accroître la densité énergétique des ACJE, il faut augmenter la quantité de matière sèche, par exemple la farine, dans un même volume de bouillie, ce qui conduit après cuisson à un aliment de consistance semi-solide, inadéquate pour le jeune enfant. Pour rendre la consistance acceptable (liquide à semi-liquide), il faut donc appliquer un traitement enzymatique utilisant les α -amylases pour hydrolyser partiellement les amidons. En général des α -amylases commerciales ou du malt sont utilisées pour réaliser cette opération.

Récemment, Nguyen et al. (2007b) ont montré qu'il était possible de produire une bouillie infantile à base d'un mélange de farines de riz et de soja par un procédé biotechnologique impliquant l'utilisation de *Lb. plantarum* A6. Ceci concerne une voie novatrice pour produire de nouveaux aliments de compléments. Néanmoins, pour les aliments fermentés traditionnels comme le *ben-saalga*, les bactéries amylolytiques naturellement présentes lors de la transformation (Tou et al., 2006; Tou et al., 2007b) ne sont pas suffisamment efficaces dans

ces conditions pour effectuer une hydrolyse de l'amidon qui permet d'obtenir les modifications recherchées. Cependant, Tou et al. (2007b) ont montré qu'il était aussi possible d'augmenter la densité énergétique du *ben-saalga* par une combinaison impliquant une pré-cuisson de la pâte fermentée de mil, l'ajout de malt et l'inoculation par un pied-de-cuve. On pourrait imaginer, à l'instar des travaux réalisés par Nguyen et al. (2007b), que des souches sélectionnées de BLA puissent être utilisées, dans des procédés traditionnels améliorés, comme culture starter en substitution du malt et de l'inoculation par pied-de-cuve.

Tous ces travaux semblent montrer qu'une exploitation de la fermentation lactique amylolytique de plantes amylacées afin de mettre de nouveaux types d'aliments serait possible. Aux Antilles, les amylacées telles que la banane plantain, le fruit à pain et la patate douce sont très appréciées, mais sont uniquement consommées sous forme cuite. L'utilisation de la fermentation lactique sur ces plantes amylacées est quasiment inexistante à notre connaissance.

L'étude de la faisabilité d'une fermentation lactique en utilisant des bactéries lactiques amylolytiques sur ces amylacées serait intéressante et constitue un préalable à tout développement de nouvel aliment d'intérêt nutritionnel/fonctionnel.

Afin d'étudier le potentiel des deux bactéries lactiques *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus fermentum* OgiE1 à être utilisées pour la mise au point de nouveaux aliments fermentés disposant d'une valeur ajoutée à partir de la banane plantain, du fruit à pain et de la patate douce, différentes méthodes et matériels ont été employés et seront présentées dans le chapitre suivant.

Chapitre 2:

Matériels et méthodes

Matières premières et souches de bactéries lactiques amylolytiques

1 Farines de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce

Les farines de banane plantain (*Musa paradisiaca*), de fruit à pain (*Artocarpus altilis*) et de patate douce (*Ipomoea batatas*) sont de marque Bichon® (Tropical Food, Goyave, Guadeloupe, France) et ont été achetées dans un supermarché local. Ces farines ont été autoclavées (121°C pendant 21 min) dans des flacons Schott® de 250 ml. Les bouillies et les suspensions non gélatinisées (SNG) sont préparées à partir de ces farines d'amylacées.

1.1 Préparation des suspensions non gélatinisées

20 et 40 g de farine (pour obtenir des concentrations de matière sèche d'environ 10 % et 20 %) sont autoclavés dans des flacons Schott® de 250 ml. Parallèlement, 200 ml d'eau déminéralisée sont autoclavés à 121°C pendant 21 min puis mélangés à la farine stérile (directement dans les flacons de farine pour éviter les contaminations).

1.2 Préparation des bouillies

Les farines et l'eau déminéralisée sont préparées comme précédemment. Pour la gélatinisation, après mélange de l'eau stérile et de la farine, la suspension est mise à cuire sur une plaque chauffante, réglée sur le thermostat 8, jusqu'à une température de 95°C. Cette température de cuisson est maintenue pendant 15 min à thermostat 4, puis la bouillie (200 ml) est placée dans des flacons Schott® de 250 ml. Avant ensemencement avec la souche de bactérie lactique, la bouillie est refroidie à environ 30°C afin de limiter la mort cellulaire due à une chaleur excessive.

Mélanger la farine et l'eau stérile et chauffer jusqu'à apparition des bulles (92-95°C)



Laisser cuire pendant 15 min à 95°C



Laisser refroidir à 30°C environ



Ensemencer avec la souche

2 Souches de bactéries lactiques amylolytiques utilisées

Au cours de ce travail, seules les souches *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus fermentum* OgiE1 ont été utilisées, et sont respectivement hétérofermentaires facultatives et hétérofermentaires strictes.

2.1 *Lactobacillus plantarum* A6 (LMG 18053, BCCMTM/LMG)

La souche *Lactobacillus plantarum* A6 a été isolée à partir du manioc roui au Congo (Giraud et al., 1991). Cette bactérie synthétise une α -amylase extracellulaire dont le pH optimal est de 5,5 et la température optimale de 55°C. Cette enzyme est capable de dégrader l'amidon cru en glucose, maltose et dextrines. La fermentation produit environ 32% d'acide lactique L(+). La souche *Lactobacillus plantarum* A6, à l'instar des autres souches de l'espèce est acido-tolérante.

2.2 *Lactobacillus fermentum* OgiE1 (I-2028, CMCN, Institut Pasteur)

La souche *Lactobacillus fermentum* OgiE1 a été isolée de l'ogi béninois à partir de pâte fermentée de maïs (Agati et al., 1998). Cette souche est plus acido-tolérante que la *Lactobacillus plantarum* A6 et est capable de maintenir constant son taux spécifique de croissance jusqu'à un pH de 4,0 (Calderon et al., 2001). Cependant le taux spécifique de production d' α -amylase chute très rapidement dès lors que le pH atteint des valeurs inférieures à 5,0. L' α -amylase de cette souche, à la fois extra-cellulaire et liée à la cellule, à la différence de celles produites par *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus manihotivorans* OND32 (LMG 18010^T) a un optimum de température de 45°C. Lors de la fermentation de l'amidon, en présence de fructose et de saccharose, cette souche produit du mannitol (Calderon et al., 2003).

3 Conditions de cultures des souches microbiennes

3.1 Milieux de culture

Le milieu de culture utilisé est le MRS-amidon (Guyot et Morlon-Guyot, 2001) (Tableau 7). Ce milieu modifié est dépourvu de Tween 80, et l'unique source de carbone est l'amidon à 10 g/L qui est donc substitué au glucose, qui est normalement la source de carbone présente dans le milieu MRS classique. L'amidon introduit dans le milieu doit être au préalable entièrement solubilisé par chauffage dans de l'eau déminéralisée. Après préparation, le milieu est stérilisé à 121°C pendant 15 min. Pour le dénombrement bactérien, le milieu gélosé est préparé en ajoutant 15 g/L d'agar à la préparation normale de MRS-amidon.

Peptone pancréatique de caséine	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	5 g
Hydrogénocitrate de diammonium	2,17 g
Acétate de sodium	5 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,207 g
Sulfate de manganèse monohydraté	0,056 g
Hydrogénophosphate de dipotassium	2,62 g
Amidon soluble	10 g
Agar (pour gélose)	15 g

Tableau 7: Composition du milieu MRS [- Glucose + Amidon] pour 1L de milieu

3.2 Conservation et préparation des souches

Les souches de *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus fermentum* OgiE1 ont été conservées à -80°C. 1 ml d'un bouillon de culture de MRS-amidon additionné de glycérol (20% v/v) ont été placés dans des cryotubes de 2 ml puis placé au congélateur. Lorsqu'elles sontensemencées sur boîte de Pétri, les BLA sont conservées à 4°C pendant une semaine après scellage des boîtes à l'aide de parafilm.

Après décongélation, le contenu des cryotubes est rajouté dans des tubes à essais en verre contenant 15 ml de bouillon MRS-amidon, et mis à incuber pendant 24h à 30°C en anaérobie. 1 ml de ce bouillon est ensuite repris dans 15 ml de MRS-amidon, et incubé sur la nuit à 30°C en anaérobie avant utilisation pour l'ensemencement des suspensions.

1 ml du bouillon MRS-amidon de la culture est prélevé, et centrifugé à 12000 g pendant 10 min dans un tube eppendorf de 2 ml. Après élimination du surnageant, le culot est remis en suspension dans 1 ml d'eau physiologique (0,9% NaCl m/v) stérile. La suspension bactérienne obtenue est ensuite centrifugée comme précédemment. Le surnageant est à nouveau éliminé, et le culot est repris dans 1 ml d'eau physiologique. La totalité de cette suspension bactérienne est placée dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique, puis l'ensemble est vortexé soigneusement. 2 ml de cette suspension seront utilisés pour ensemenecer les suspensions gélatinisés et non gélatinisées.

3.3 Dénombrement bactérien

2 g de suspension (gélatinisée ou non) sont prélevés toutes les 4h, mélangés à un tube à essai contenant 8 ml d'eau physiologique stérile et des billes en verre stériles, et soigneusement vortexé. Ce tube (dilution 10^{-1}) est utilisé afin de réaliser les dilutions en cascade jusqu'à la dilution 10^{-6} . 100 μ l de ces dilutions ont été utilisés pour ensemenecer les

boîtes de Pétri de MRS [- Glucose + Amidon]. Les résultats sont exprimés en unité formant colonies (UFC) pour 1g de produit frais.

3.4 Conditions de réalisation des fermentations

Les bouillies et les SNG sontensemencées avec un inoculum (2 ml) de la souche désirée, afin d'obtenir une population bactérienne de départ d'environ 10^6 UFC/g de produit frais. Les fermentations sont réalisées dans des flacons Schott® de 250 ml remplis à 200 ml hermétiquement fermés. Les fermentations sont réalisées à 30°C pendant 24h en anaérobie. Pendant la fermentation, le pH est mesuré toutes les 4 h, et des prélèvements sont réalisés toutes les 2 h afin de réaliser les analyses physicochimiques et le dénombrement bactérien. Toutes les fermentations sont réalisées en triple.

Analyses physicochimiques

1 Mesures de matière sèche

1 à 2 g d'échantillon sont placés dans une coupelle en aluminium préalablement séchée dans une étuve à 105°C pendant 24 h (temps estimé pour obtenir un poids constant) et tarée avec une balance de précision à $\pm 0,1$ mg (Mettler toledo). La coupelle contenant l'échantillon est pesée après les mêmes conditions de séchage.

2 Mesures de la viscosité

La viscosité des bouillies a été mesurée à l'aide d'un viscosimètre rotatif HAAKE VISCOTESTER VT550 (Rheo, Champlan, France). Le mobile SV-DIN a été utilisé avec une vitesse de cisaillement de 83 s⁻¹. La mesure de la viscosité apparente des bouillies exprimée en Pascals seconde (Pa.s) est effectuée à 30°C dans une enceinte thermostatée (Nguyen et al., 2007b). Le logiciel Rheowin 2.64 a été utilisé pour la commande du viscosimètre, l'acquisition et l'analyse des données. La valeur de la viscosité apparente est enregistrée après 10 minutes de rotation (Mouquet et Trèche, 2001). Pour les mesures de viscosité des suspensions fermentées non gélatinisées, celles-ci sont gélatinisées dans les mêmes conditions que les bouillies.

3 Mesure de l'écoulement

L'écoulement des bouillies est mesuré à l'aide d'un consistomètre Polyvisc de marque Kinematica INC, Newark, USA (Bookwalter, Peplinski et Pfeifer, 1968). L'appareil comprend deux compartiments : le premier reçoit environ 100 g du produit à analyser et le deuxième est le compartiment d'écoulement séparé du premier par une cloison amovible. A $t = 0$, la bouillie est libérée et le paramètre de consistance retenu correspond à la distance parcourue par le front de bouillie après 30 secondes d'écoulement qui s'affiche sur l'écran du Polyvisc. L'écoulement est mesuré avec la bouillie à 30°C.



Figure 2.1: Consistomètre de modèle Polyvisc pour la mesure de l'écoulement des produits

4 Dosage des produits de fermentation et des sucres

4.1 Réalisation des prélèvements

Toutes les deux heures, 2 g d'échantillon sont prélevés et mélangés dans 8 ml d'eau déminéralisée stérile, et la suspension obtenue est utilisée pour préparer les échantillons à analyser :

- Pour le dosage de l'acide lactique, de l'acide acétique et de l'éthanol, 1,3 ml de cette solution sont mélangés à 0,2 ml de H₂SO₄ 2N dans des tubes Eppendorf de 2 ml pour stopper les activités enzymatiques. Après homogénéisation au vortex, le mélange est centrifugé pendant 10 min à 10000 g. Le surnageant est récupéré puis stocker à -20°C jusqu'à l'analyse.
- Pour le dosage des oses (sucres réducteurs et maltodextrines) et du mannitol, 1,3 ml de cette solution sont mélangés à 0,2 ml de NaOH 5N dans des tubes Eppendorf de 2 ml afin de stopper les activités enzymatiques. Après homogénéisation au vortex, le mélange est centrifugé pendant 10 min à 10000 g. Le surnageant est récupéré puis stocker à -20°C jusqu'à l'analyse.

4.2 Dosage de l'acide lactique, de l'acide acétique et de l'éthanol par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

Les dosages de l'acide lactique, l'acide acétique et de l'éthanol ont été réalisés par HPLC à l'aide d'une colonne Animex HPX87H (Biorad Co, Marne la Coquette, France). Cette colonne permet la séparation des acides organiques et de l'éthanol par échange d'ions, de tamisage moléculaire et d'interactions hydrophobes. La résine est un copolymère de styrène et de sulfonate de divinyl benzène. La charge sur la résine assure les interactions ioniques alors que le squelette de polystyrène favorise les interactions de type hydrophobe. Avant le passage dans la colonne, les échantillons sont filtrés sur membrane de 0,2 µm de porosité afin d'éliminer toutes les particules évitant ainsi le colmatage de la colonne. Un étalonnage externe est utilisé.

Caractéristiques du dispositif HPLC (Biorad, Yvry-sur Seine, France) :

- Pompe : Waters Modèle 515 HPLC pump
- Injecteur : Waters Modèle 717 plus autosampler
- Four : Waters Modèle 038040
- Colonne : Aminex HPX-87H, 300x7,8 mm

- Détecteur : réfractomètre Waters Modèle 2410 réfractive index detector.
- Logiciel Millennium 2010, Chromatography manager. Utilisé pour le contrôle de la chromatographie, l'acquisition de données et l'intégration.

Les conditions de chromatographie utilisées pour le dosage des acides organiques et de l'éthanol sont les suivantes :

- Phase mobile : H₂SO₄ 6 mM, filtrée (0,45 µm) et dégazée sous hélium.
- Température : 65°C
- Débit : 0,8 ml/min
- Pression : 1000 psi
- Volume injecté 10 µl

4.3 Dosage des oses (sucres réducteurs et maltodextrines) et du mannitol par Chromatographie Ionique Haute Performance (HPIC)

Les matériels utilisés sont de marque Dionex S.A (Jouy-en-Josas, France) soit : une pompe avec un dégazeur *in situ* Modèle GP 40, un injecteur automatique Modèle AS 50, un détecteur ampérométrique Modèle ED 40 (le détecteur consiste en une électrode en or et en une cellule de référence argent/chlorure d'argent immergée dans une solution saturée de chlorure de potassium) et une colonne d'échanges d'ioniques (CarboPac PA1) (10 µm). Le contrôle des différents éléments, l'acquisition des données et l'intégration sont pilotés par le logiciel Dionex Chromatography Management System Version 6.20.

Les paramètres opératoires utilisés pour l'analyse des oses sont les suivants :

- Phases mobiles : NaOH 105 mM
- Température : 35°C
- Pression : 1980 psi
- Débit : 1,0 ml/min
- Volume injecté : 25 µl

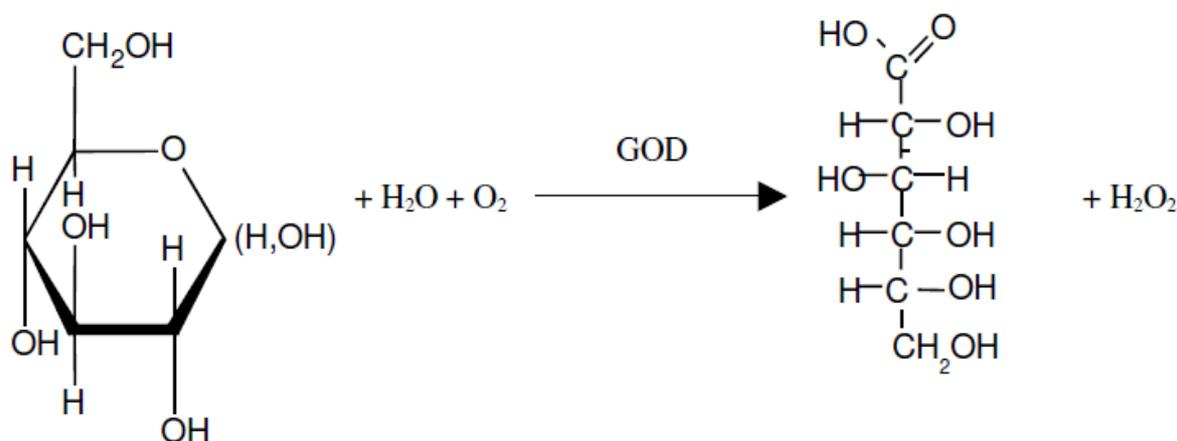
Les bactéries lactiques hétérofermentaires strictes étant les seules capables de produire du mannitol en condition normale de culture (mais en présence de fructose), ce dosage n'a été effectué que pour les fermentations réalisées avec *Lactobacillus fermentum* OgiE1 (Vrancken et al., 2008; Wisselink et al., 2002).

Caractérisation des amidons

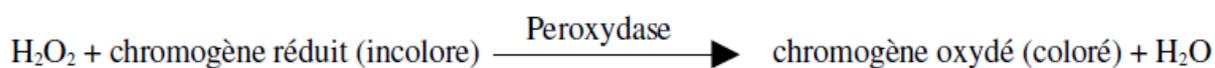
1 Digestibilité *in vitro* des amidons

Le dosage de la digestibilité *in vitro* des amidons a été réalisé afin de déterminer les différentes fractions d'amidon présentes dans les suspensions gélatinisées à 10 % de matière sèche, avant et après fermentation par *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus fermentum* OgiE1. Les fractions d'amidon analysées sont le glucose soluble libre (FSG pour Free Soluble Glucose), les amidons rapidement digestibles (RDS pour Rapidly Digestible Starch), les amidons lentement digestibles (SDS pour Slowly Digestible Starch), les amidons résistants (RS pour Resistant Starch) et les amidons totaux (TS pour Total Starch). Les dosages de digestibilité ont été réalisés en se basant sur la méthode d'Englyst et al. (1999), avec les modifications apportées par Bravo et al. (1998), Sharavathy et al. (2001) et Icard-Vernière et al. (2010). Cette méthode repose sur l'hydrolyse des différentes fractions d'amidon en glucose, et le dosage de ce dernier grâce à la méthode spectrophotométrique au Glucose oxydase/ peroxydase (GOPOD).

Le dosage au GOPOD repose sur l'oxydation du glucose en acide gluconique en présence de glucose oxydase, avec formation de peroxyde d'hydrogène.



Ce dernier est dosé par une réaction enzymatique indicatrice. En présence de peroxydase, le peroxyde d'hydrogène oxyde, en le colorant, un chromogène que l'on dose par spectrophotométrie à 510 nm.



1.1 Dosage du glucose soluble libre (FSG)

Environ 10 g de suspension gélatinisée sont mélangés à 25 ml d'eau dans des tubes Falcon® de 50 ml et vortexés. Les tubes sont mis à incuber dans un bain marie bouillant pendant 30 min (avec mélange régulier par inversion), puis vortexés vigoureusement. Les tubes sont ensuite refroidis dans un bain de glace (5min) jusqu'à une température d'environ 37°C. 0,4 ml d'invertase pure (Megazyme, Ireland) sont ajoutés, et les tubes sont incubés horizontalement sous agitation (200 battements par min) à 37°C pendant 30 min, puis vortexés vigoureusement. 200 µl de solution sont prélevés dans 4 ml d'éthanol 80 % dans des tubes à essai en verre puis stockés à 4°C jusqu'à analyse par la méthode au GOPOD. La valeur obtenue après dosage correspond au glucose soluble libre.

1.2 Détermination des fractions RDS et SDS

Environ 10 g de suspension gélatinisée sont mélangés à 5 ml d'eau déminéralisée et 10 ml de Pepsine (50 mg/10 ml HCl 0,05 M; EC 3.4.23.1; P-7000 Sigma Chemical Co, Cambridge, UK) dans des tubes Falcon de 50 ml, puis mis à incuber à 37°C pendant 30 min dans un bain marie à agitation (200 battements par min), afin de réaliser un traitement protéolytique. 5 ml d'acétate de sodium 0,5 M et 5 ml d'un mélange de pancréatine (Sigma Chemical Co, Cambridge, UK), d'invertase pour hydrolyser le sucrose (Megazyme, Ireland) et d'amyloglucosidase (Megazyme, Ireland) pour hydrolyser l'amidon digestible. Les tubes sont remis à incuber à 37°C dans le bain marie à agitation (même réglages que précédemment) pendant exactement 20 min.

200 µl de la solution sont prélevés dans 4 ml d'éthanol 80 % préalablement préparés dans des tubes à essai en verre. Ces extraits sont stockés à 4°C en attendant leur dosage du glucose par la méthode au GOPOD. La valeur obtenue correspond à G20, qui permet par la suite de déterminer la fraction d'amidon rapidement digestible (RDS).

Les tubes sont remis à incuber sous agitation pendant 100 min supplémentaires. 200 µl de la solution sont de nouveau prélevés dans 4 ml d'éthanol 80 % dans des tubes à essai en verre et stockés à 4°C jusqu'à analyse. Après dosage du glucose par la méthode au GOPOD, la valeur obtenue correspond à G120, qui sert à déterminer la fraction d'amidon lentement digestible (SDS).

1.3 Préparation des échantillons et de la gamme étalon, et dosage au GOPOD

1 ml des tubes stockés à 4°C ont été placés dans des tubes Eppendorf® de 2 ml, et centrifugés 5 min à 1500g. 50 µl du surnageant sont transférés dans un tube à hémolyse

contenant 50 µl d'eau déminéralisée, puis 1,5 ml de GOPOD (Megazyme, Ireland) sont rajoutés.

Pour la gamme d'étalonnage (de 0 à 1,25 g/L), la préparation s'effectue dans les mêmes conditions en remplaçant le surnageant par la solution de concentration en glucose voulue. Le blanc de réaction est préparé avec 100 µl d'eau déminéralisée et 1,5 ml de GOPOD. Les tubes (échantillons et gamme étalon) sont ensuite mis à incuber à 50°C pendant 20 min, et l'absorbance à 510 nm est mesurée contre le blanc de réaction en utilisant. La concentration en glucose est obtenue en se basant sur la gamme d'étalonnage.

1.4 Dosage de l'amidon total

Le dosage de l'amidon total a été déterminé en utilisant un kit de dosage de l'amidon total K-TSTA (Megazyme, Irlande) séparément du dosage des fractions RDS et SDS. Lors de ce dosage, les échantillons sont hydratés et l'amidon est hydrolysé en maltodextrines avec une α -amylase thermostable à 95-100°C. La température et le pH sont ajustés, et les maltosaccharides sont quantitativement hydrolysés en glucose avec une amyloglucosidase (AMG) purifiée. La quantité de glucose est déterminée par la méthode au GOPOD.

Environ 50 mg d'échantillon (tamisé à 500 µm) sont pesés dans un tube, et 2.5 ml d'éthanol à 80 % sont ajoutés. Le tube est mis à incuber 5 min à 80-85°C, vortexé puis 2.5 ml d'éthanol à 80 % sont ajoutés. L'ensemble est centrifugé pendant 10 min à 1000 g. Le surnageant est éliminé, et le culot est resuspendu dans 5 ml d'éthanol à 80 %, vortexé puis centrifugé comme précédemment. Le surnageant est de nouveau délicatement éliminé.

Le culot est repris dans 1 ml de DMSO, puis bien homogénéisé au vortex. Les tubes sont placés au bain-marie bouillant pendant 5 min. 1.5 ml de la solution d' α -amylase thermostable sont rajoutés. Le tube est homogénéisé vigoureusement puis placé dans un bain-marie bouillant pendant 6 min avec des agitations régulières au vortex, afin d'empêcher la formation de grumeaux et l'évacuation d'une partie de l'échantillon par le haut du tube lors de l'évaporation de l'alcool.

Le tube est ensuite placé dans un bain-marie à 50°C pendant 5 min afin qu'il s'équilibre, et 2 ml de tampon d'acétate de sodium (200 mM) et 50 µl de solution AMG sont ajoutés. La solution obtenue est ensuite homogénéisée vigoureusement au vortex, puis incubés à 50°C pendant 30 min. Le contenu du tube est transféré quantitativement dans des fioles de 50 ml qui sont complétées avec de l'eau jusqu'au trait de jauge. Après homogénéisation, des aliquots sont centrifugés pendant 10 min à 1000 g. Une gamme étalon de glucose est préparée à partir d'une solution mère (SM) à 2 g/l comme suite :

Glucose (g/l)	0	0,1	0,3	0,5	0,7	1	1,2
V _{SM Glucose} (ml)	0	0,25	0,75	1,25	1,75	2,5	3
V _{eau} (ml)	5	4,75	4,25	3,75	3,25	2,5	2

Pour le dosage de l'amidon total, les tubes à essai sont préparés de la manière suivante :

	Blanc réactif	Standards de glucose	Échantillons
Solution de GOPOD	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
Standard de glucose	-	0,05 ml	-
Echantillon	-	-	0,05 ml
Eau	0,1 ml	0,05 ml	0,05 ml

Les tubes sont ensuite mis à incuber à 50°C pendant 20 min. Les absorbances sont ensuite déterminées à 510 nm contre le Blanc réactif.

1.5 Traitement des données

Les valeurs de glucose obtenues par spectrophotométrie sont utilisées afin de déterminer les différentes fractions d'amidons présentes. Les formules suivantes sont utilisées (Aarathi et al., 2003; Ahmed et Asna Urooj, 2008; Sharavathy et al., 2001) :

$$TS = (TG - FSG) \times 0,9$$

$$RDS = (G20 - FSG) \times 0,9$$

$$SDS = (G120 - G20) \times 0,9$$

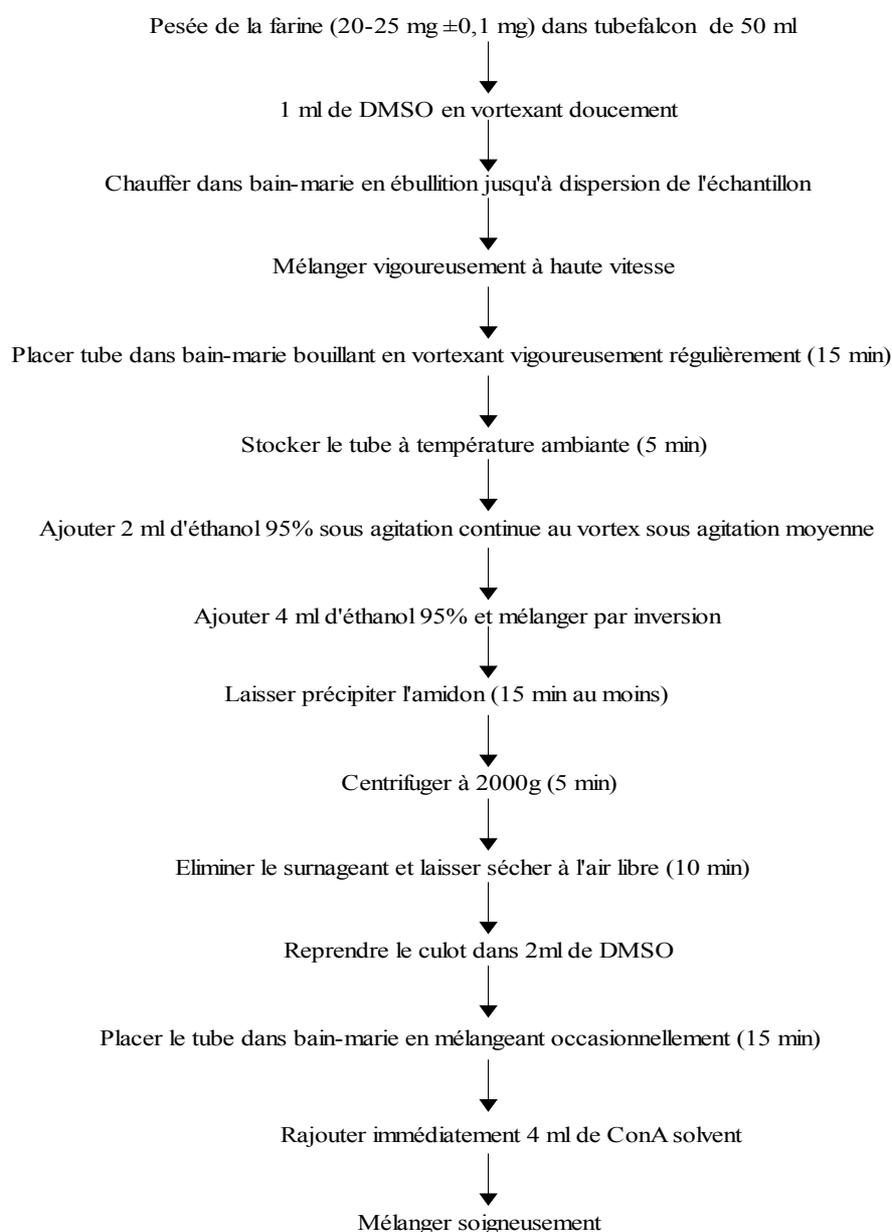
$$RS = TS - (RDS + SDS)$$

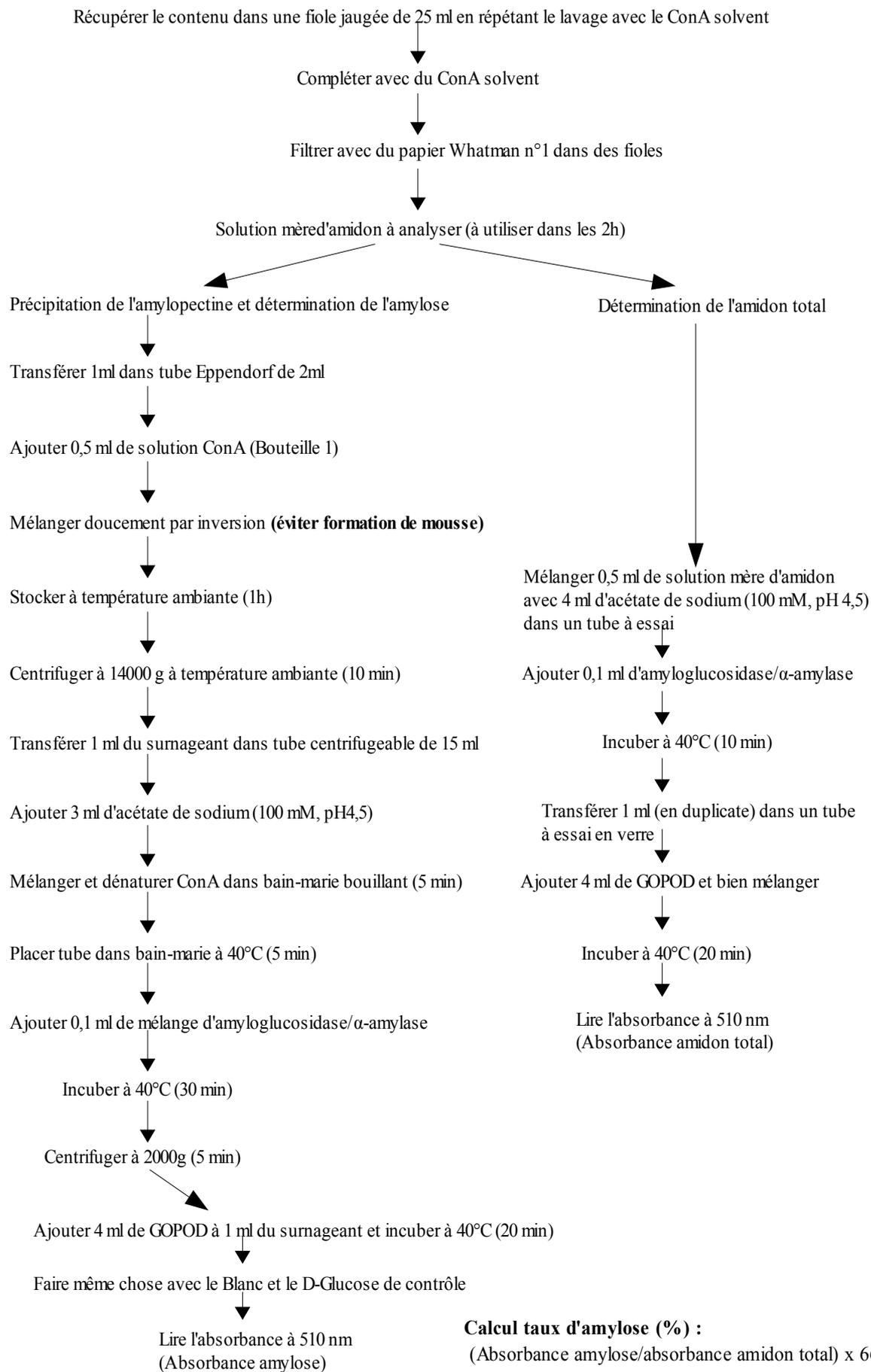
$$SDI = \frac{RDS}{TS} \times 100$$

2 Détermination du taux d'amylose et du taux d'amylopectine

Le taux d'amylose a été déterminé en utilisant le kit K-AMYL (Megazyme, Ireland). Avant l'analyse, les échantillons gélatinisés (2 g congelés à -20°C) ont été lyophilisés afin d'obtenir une poudre. Dans ce dosage, l'amylopectine forme un complexe avec la lectine concanavilineA (ConA) qui précipite et est ensuite éliminé par centrifugation. L'amylose présent dans le surnageant est hydrolysé en D-Glucose en utilisant une amyloglucosidase. Le dosage de D-Glucose est réalisé après une réaction de glucose oxydase/peroxydase. Les étapes de réalisation du dosage sont résumées dans le schéma suivant (McCleary et al., 2006):

Pré-traitement des farines





Le taux d'amylose est obtenu en utilisant la formule suivante :

Calcul du taux d'amylose (%) : $(\text{Absorbance amylose} / \text{Absorbance amidon total}) \times 66,8$

On considère que l'amylose et l'amylopectine sont les seuls composants des grains d'amidon. Le taux d'amylopectine est donc calculé :

Calcul du taux d'amylopectine (%) : $100 - \text{Taux d'amylose}$

Analyses statistiques

Toutes les expérimentations ont été réalisées en triple. Les données recueillies ont été traitées par ANOVA en utilisant le logiciel de statistique « opensource » R-Project Software dans sa version 2.9.2 (<http://www.r-project.org>) (Ihaka et Gentleman, 1996) couplé à l'interface graphique R-commander version 1.5.1 sur les systèmes d'exploitation Mandriva Linux et Ubuntu Linux.

Chapitre 3:

Résultats et discussions

Fermentation des suspensions gélatinisées

Fermentation lactique de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par des bactéries lactiques amylolytiques homo et hétérofermentatives

1 Résumé introductif

Les fermentations de suspensions gélatinisées à faibles (Low DM) et hautes (High DM) valeurs de matière sèche préparées à partir de farines de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par les souches de bactéries lactiques amylolytiques *Lb plantarum* A6 (homofermentaire) et *Lb fermentum* OgiE1 (hétérofermentaire) ont été étudiées. Au cours de ces fermentations, une baisse du pH à des valeurs de 5.00-4.00, ainsi qu'une croissance bactérienne sont observées pour toutes les matières premières quelque soit la souche. La valeur de pH la plus basse a été observée lors de la fermentation de la bouillie à faible teneur en matière sèche de patate douce par *Lb plantarum* A6.

Quelque soit la suspension gélatinisée d'amylacée étudiée, le fructose, le glucose et le saccharose ont été peu ou difficilement utilisés au cours des fermentations. Toutefois, une production de maltodextrines a été observée pour les deux souches, principalement les G3 et G4 pour *Lb plantarum* A6 et G3 pour *Lb fermentum* OgiE1.

Les concentrations de produits de fermentation sont plus faibles pour le fruit à pain et la banane plantain par rapport à la patate douce. Pour *Lb plantarum* A6, seul de l'acide lactique a été détecté, alors que pour *Lb fermentum* OgiE1, la production d'un mélange d'acide lactique et d'acide acétique, qui a un potentiel inhibiteur plus important des pathogènes alimentaires est observée. Les productions d'acide lactique et/ou d'acide acétique à des taux élevés, couplées à une formation de maltodextrines, indiquent que l'amidon a été le principal substrat. Aucune production d'éthanol n'a été détectée pour aucune des deux souches. Par ailleurs, une propriété très intéressante de la souche *Lb fermentum* OgiE1 a été la production du mannitol, principalement lors de la fermentation de la patate douce, qui est un édulcorant naturel non digestible ayant des allégations santé très intéressantes (anti-oxydant).

La baisse du pH à des valeurs proches ou en-dessous de 4,5 (valeur inhibitrice de la plupart des pathogènes), la production d'acide acétique et d'acide lactique (qui contribuent à l'acceptabilité de ce type d'aliments par les consommateurs), la production de mannitol (qui est un anti-oxydant et un édulcorant naturel) et de maltodextrines (qui favorisent la production de butyrate et limitent la croissance d'*Escherichia Coli* dans l'intestin) sont autant

d'indications que ces suspensions gélatinisées fermentées de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce peuvent servir de base pour la réalisation de nouveaux produits fermentés comme des yaourt-likes, des boissons ou comme composant de compléments alimentaires.

2 Lactic acid fermentation of plantain, breadfruit and sweet potato by amylolytic lactic acid bacteria

Authors

Julien Haydersah, Jean-Pierre Guyot, Isabelle Rochette, Christèle Icard-Vernière, Christian Picq, Thérèse Marianne-Pépin, Isabelle Chevallier

Affiliations

Julien Haydersah, Isabelle Chevallier (corresponding author : i.chevallier@vetagro-sup.fr)
UR Typicité des Produits Alimentaires, VetAgro Sup, Campus agronomique de Clermont, 89 Avenue de l'Europe, BP 35, 63370 Lempdes, France

Jean-Pierre Guyot, Isabelle Rochette, Christèle Icard-Vernière, Christian Picq
IRD UMR 204 « Prévention des Malnutritions et des Pathologies associées » (Nutripass),
IRD/Montpellier2/Montpellier1/SupAgro, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France
Thérèse Marianne-Pépin

Unité Dynamique des protéines et modélisation, Université Antilles-Guyane, Campus de Fouillole, BP 250, 97157 Pointe à Pitre Cedex, France

Abstract

The ability of gelatinized slurries prepared from plantain, breadfruit and sweet potato flours to be fermented by amylolytic lactic acid bacteria (ALAB), *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus fermentum* Ogi E1, was investigated. ALAB thrived on all slurries, which were acidified to pH between 5.0-4.0 depending on the raw material. Lowest final pH was obtained with the sweet potato slurry and with *Lb. plantarum* A6. Irrespective of the raw material, fructose, glucose, sucrose were not or hardly used during fermentation, but maltodextrins were produced, mainly G3 and G4 for strain A6 and G3 for strain Ogi E1. Concentrations of end-products of fermentation were very low in breadfruit and plantain slurries compared to the sweet potato slurries. *Lb. plantarum* A6 produced only lactic acid whereas *Lb. fermentum* Ogi E1 produced a mixture of acetic and lactic acids that has a better potential for food-borne pathogen inhibition. High acetic and lactic acid production together with maltodextrin formation indicate that starch was the main substrate for ALAB. *Lb.*

fermentum Ogi E1 was also able to produce mannitol, mostly with sweet potato, that is another interesting property since it is a non digestible sweetener with potential beneficial health effect (antioxidant).

Keywords

Lactobacillus plantarum, *Lactobacillus fermentum*, mannitol, maltodextrin, starch

Introduction

Plantain, breadfruit and sweet potatoes are staples in West Indies (Guadeloupe, Martinique), and also in many other tropical countries [1-4]. These plants are often consumed in the households, but their processing into more elaborated foodstuffs with increased added-value may offer new opportunities to promote local agricultural productions. Lactic acid fermentation is an appealing alternative to process these raw materials into functional foods. Indeed, many traditional fermented foods are prepared from amylaceous plants (cereals, roots and tubers) in non-occidental countries [5-8], like *mawé* and *ogi* from sorghum or maize in Benin and Nigeria, *pozol* in Mexico, *gari* and *fufu* from cassava in Congo and sour cassava starch in Colombia and Brazil. From such amylaceous fermented foods, some lactic acid bacteria able to directly ferment starch have been isolated [9]. Two of the most studied amylolytic lactic acid bacteria (ALAB) are *Lactobacillus plantarum* A6 [10-14] and *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 [15-18] which were isolated from retted cassava in Congo and from *ogi* (fermented maize dough) in Benin, respectively.

The use of such strains is of interest to develop new products from starchy raw materials [9]. For instance, *Lactobacillus plantarum* A6 has been used for cassava fermentation [12, 14] and to elaborate high energy density fermented gruels from cereal based mixtures like rice/soybean or pearl millet/groundnut slurries [19, 20]. However, to our knowledge, fermentation by ALAB of starchy fruits and tubers like plantain, breadfruit and sweet potato to determine their potential for elaborating novel fermented foods have not been yet investigated. Only alcoholic fermentation of banana using yeasts was studied for wine processing [1]. Lactic acid fermentation of sweet potato was previously assessed, in order to produce lacto-juice [21, 22], but not using ALAB and their ability to directly ferment starch.

Since *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 are, respectively, facultative heterofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria which can

efficiently ferment starch, we will investigate their ability to ferment plantain, breadfruit and sweet potato in relation with their respective metabolic characteristics.

Materials and methods

Flours pre-treatment and gelatinization

Plantain (*Musa paradisiaca*), breadfruit (*Artocarpus altilis*) and sweet potato (*Ipomoea batatas*) flours were purchased from the enterprise Tropical Food (Goyave, Guadeloupe, France) under trademark Bichon[®]. Before use, these flours were heated at 121°C for 15 min for sterilization and stored at 4°C. Proximate composition of flours is given in Table 1.

	Dry matter	Lipid	Fiber ADF (Van Soest)	Protein (N x 6.25)	Total starch	Damaged starch
Plantain	86,86	0,16	3,28	2,58	87,58	6,37
Breadfruit	88,09	1,20	7,77	3,85	70,30	20,81
Sweet potato	94,83	0,37	3,87	3,93	63,17	11,45

Table 1. Proximate composition of flours of plantain, breadfruit and sweet potato (expressed in g/100g of dry matter).

Since dry matter (DM) content of the slurries after cooking in water will affect their consistency and could have an effect on the issue of the fermentations, slurries were prepared at two DM contents. For preparation of gelatinized slurries, 80 g or 160 g of flour for low DM and high DM content, respectively, were mixed to 800 ml sterile distilled water, and then heated at 95°C. Boiling was maintained for 15 min under stirring. Gelatinized slurries were then cooled at 30°C and inoculated as indicated below. Fermentations were performed for 24h at 30°C in 250 ml vials filled to 200 ml. Following the preparation of gelatinized slurries, the exact DM content of the slurries was determined by over-drying at 105°C to constant weight (Table 2).

	A6		OgiE1	
	Low DM	High DM	Low DM	High DM
Plantain	10,2 ± 1,7	16,7 ± 0,3	10,2 ± 0,6	16,6 ± 1,2
Breadfruit	9,1 ± 0,1	17,1 ± 1	9,8 ± 0,4	16,9 ± 0,3
Sweet potato	8,7 ± 0,1	18,5 ± 0,2	9,4 ± 0,2	16,3 ± 0,1

Table 2. Dry matter content of gelatinized slurries of plantain, breadfruit and sweet potato (expressed in %).

Preparation of strains and inoculum

Lactobacillus plantarum A6 (LMG 18053) and *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 (I-2028) were conserved in 20% glycerol at -80°C. Before inoculation, they were reactivated twice in 15 ml modified MRS-starch broth medium containing starch as unique substrate [23] at 30°C. For preparation of inoculum, 2 ml of an overnight culture were centrifuged for 10 min at 14 000g. The pellet was washed in 2 ml sterile physiological solution (0.9%, w/v NaCl) and centrifuged for 10 min at 14000 g. The pellet was resuspended in 1 ml of sterile physiological solution and diluted in 9 ml sterile physiological solution. 2 ml of this suspension were used for inoculation. Concentrations of cells in the inoculated slurries are given in the “Results and Discussion” section.

Bacterial growth and pH measurements

1 g of gruel sampled every 4 hours was homogenized in 9 ml of sterile physiological solution followed by decimal serial dilutions. Since the lactic acid bacteria are amylolytic, MRS-starch agar (1.5% w/v) medium was used to determine bacterial growth as colony forming units (CFU); incubation was at 30°C for 48h. During fermentation, pH was measured using a pH meter (pH 95, WTW, Germany).

Analysis of fermentation products and sugars

2 g of gruel were sampled, diluted in 8 ml of sterile deionized water and well homogenized. 1.3 ml of this solution were then mixed in a microtube with either 0.2 ml of H₂SO₄ 2N for lactic acid, acetic acid and ethanol determination, or 0.2 ml of NaOH 5N for sugars and mannitol determinations. Microtubes were then centrifuged for 10 min at 10 000g and supernatant was conserved at -20°C until analysis.

Lactic acid, acetic acid and ethanol were analyzed by HPLC using an Aminex HPX-87H column (BioRad, Yvry-sur-seine, France), under the following conditions: mobile phase H₂SO₄ 6 mM, flow rate 0.8 ml min⁻¹, temperature 65°C, injection sample 10 µl [15, 16, 19].

Mono- and disaccharides, maltodextrins and mannitol were analyzed using a HPAEC Dionex Carbopac PA1 column [17, 20, 24], under the following conditions: mobile phase NaOH 105 mM, flow rate 1 ml min⁻¹, temperature 35°C, injection sample 25 µl.

Data analysis

All experiments were made in triplicate, and data were expressed as means ± standard deviations. Data were analyzed performing an ANOVA within 95 % confidence interval, using the R software version 2.9.2 (<http://www.r-project.org>) [25].

Results and Discussion

Cell growth and pH changes

The initial levels of inoculation were 7 log CFU/g of gelatinized slurry for *Lb fermentum* Ogi E1, and near 7.5 log CFU/g of gelatinized slurry for *Lb plantarum* A6. In spite of a low protein content of the raw materials (Table 1), and consequently in the slurries, and low initial pH, at the end of the fermentation cell counts reached values between 8.7-9 log CFU/g of gelatinized slurry (Fig. 1) similar to those reported for cereal-based fermented slurries [19, 26, 27]. Initial pH for plantain, breadfruit and sweet potato was acidic and comprised between 5.0-5.6. Consistently with ALAB growth and production of lactic acid and acetic acid, pH decreased in all cases, with *Lb. plantarum* A6 being the most efficient acidifying strain (Fig. 1). The slurry prepared from sweet potato presented the best acidification capacity whatever the LAB strain, however the combination sweet potato/*Lb. plantarum* A6 enabled to reach at low and high DM content the lowest final pH values between 4.0-4.5.

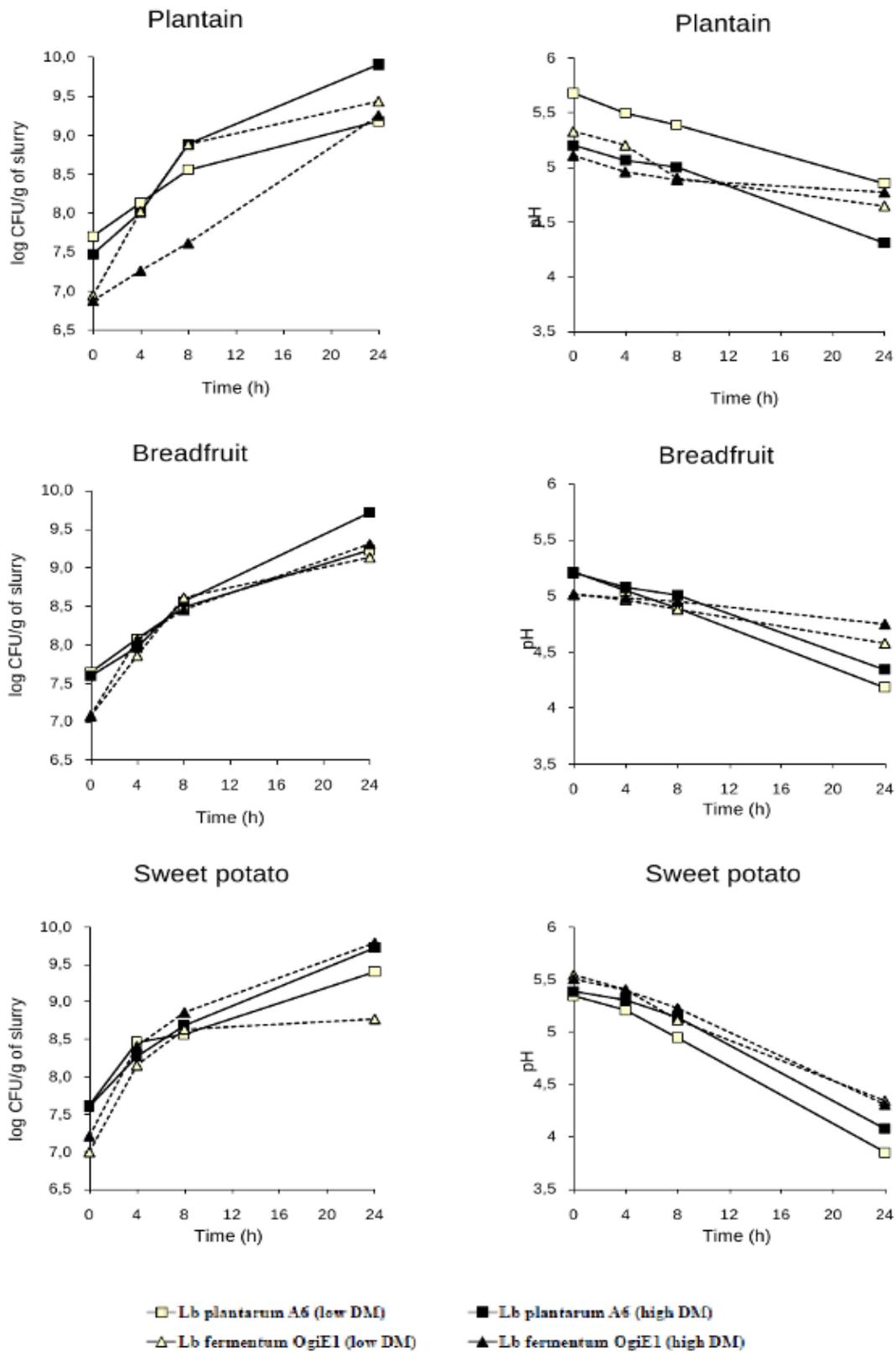


Figure 1. Cell growth and pH changes during fermentation of gelatinized slurries of plantain, breadfruit and sweet potato slurries by *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus fermentum* Ogi E1.

In contrast, final pH of fermented slurries prepared from breadfruit and plantain remained relatively high; mostly in the case of the use of *Lb. fermentum* Ogi E1 that did not enable to reach values lower than 4.5. pH 4.5 being considered as the value below which the growth of most food-borne pathogens is inhibited [28], this could lead to the conclusion that fermented plantain and breadfruit products could hardly have the ability to avoid or limit food-borne pathogen growth in case of contamination. However, since *Lb. fermentum* Ogi E1 produced also acetic acid, at the observed final pH close to 4.75 corresponding to the pK_a of acetic acid [29], this acid under its protonated form will have a more potent inhibitory effect than lactic acid; in addition the mixture acetic and lactic acid has a synergistic inhibitory effect [30]. Therefore, considering this aspect, heterofermentation by *Lb. fermentum* Ogi E1 leading to mixed acid production could be considered as a positive characteristic.

Evolution of mono-, disaccharides and maltodextrins

Glucose and fructose initial concentrations were very low in the breadfruit slurries (near 10 mmol.kg⁻¹ of slurry) and found as traces in plantain slurries. As for maltose, only traces were detected in all slurries. Sucrose was also present at low concentrations (under 10 mmol.kg⁻¹ of slurry) except for the slurries made from sweet potato that had high concentrations, e.g. 60 mmol.kg⁻¹ (i.e. 20.5 g. kg⁻¹ of slurry) for the slurry prepared at high DM content fermented by *Lb. plantarum* A6 (Fig. 2). Strikingly, no major changes in mono- and disaccharide concentrations were observed from the beginning to the end of the fermentations, except during the fermentation of the sweet potato slurries by *Lb. fermentum* Ogi E1 where a slight decrease in sucrose concentration was observed (Fig. 2).

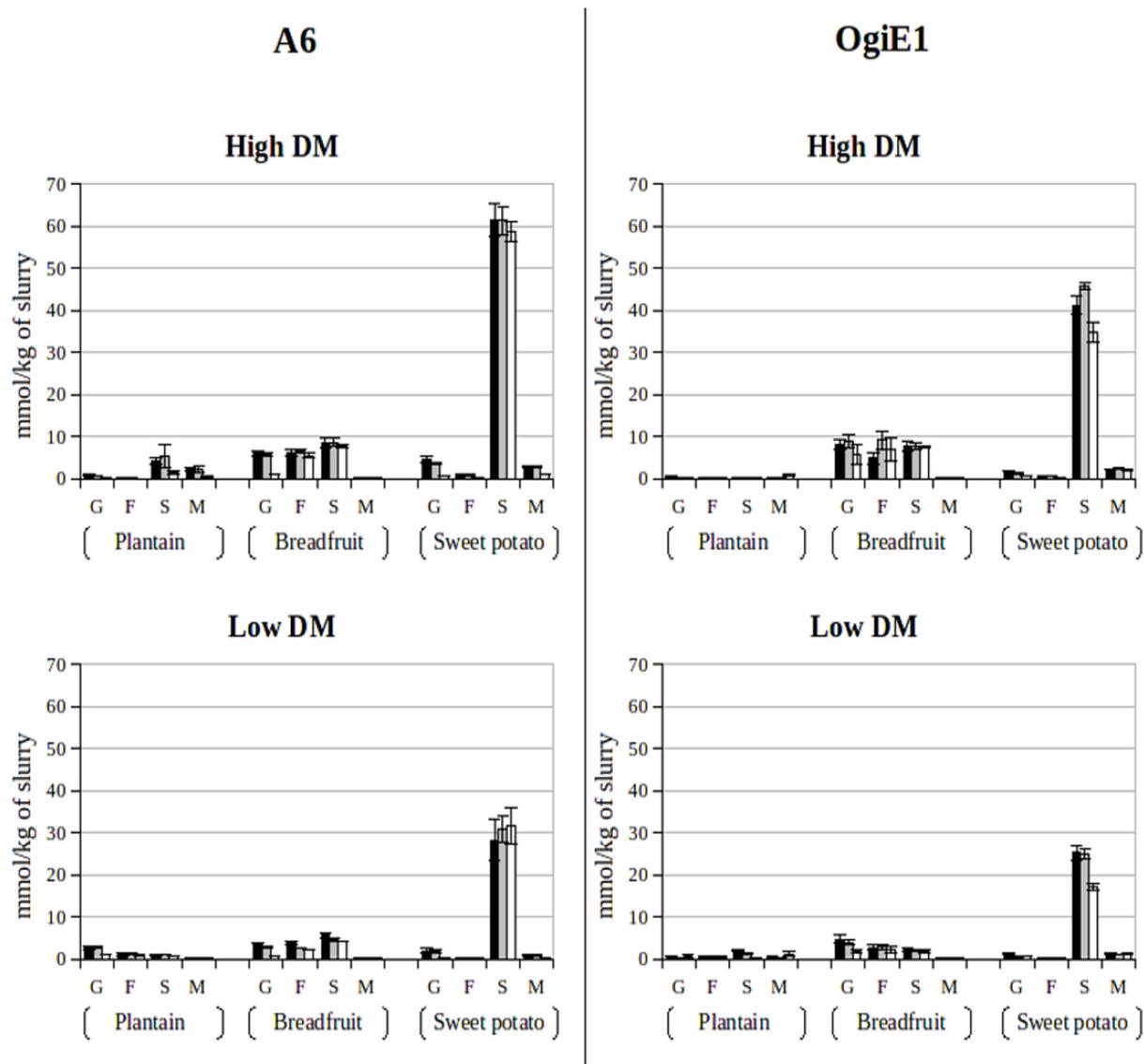


Figure 2. Concentration of mono (G : Glucose; F : Fructose) and disaccharides (S : Sucrose; M : Maltose) after 0 (■), 8 (□) and 24 (□) hours of fermentation of low and high DM content of gelatinized slurries of plantain, breadfruit and sweet potato by *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus fermentum* OgiE1.

Therefore, whatever the ALAB strain used, lactic acid fermentation of such slurries had little or no effect on their mono- and disaccharide content. More particularly, for the sweet potato slurry, such a high sucrose concentration maintained during fermentation together with lactic acid and acetic acid production should have interesting consequences on the sensory characteristics of the product that would have to be evaluated in case of further product development.

In contrast, changes in maltodextrin concentrations were observed (Fig. 3). Irrespective of the ALAB strain used, for a same type of slurry and at both DM contents, the concentrations and variations in maltodextrins were similar. Consistently with a previous study in which *Lb.*

plantarum A6 was used to ferment a pearl-millet/groundnut slurry [20], G3 and G4 were the main maltodextrins produced, but some minor production of maltodextrins from G5 to G7 was also observed. *Lb. fermentum* Ogi E1 produced mainly G3 at much higher concentration than *Lb. plantarum* A6 (Fig. 3), furthermore the highest production of G3 was observed with sweet potato.

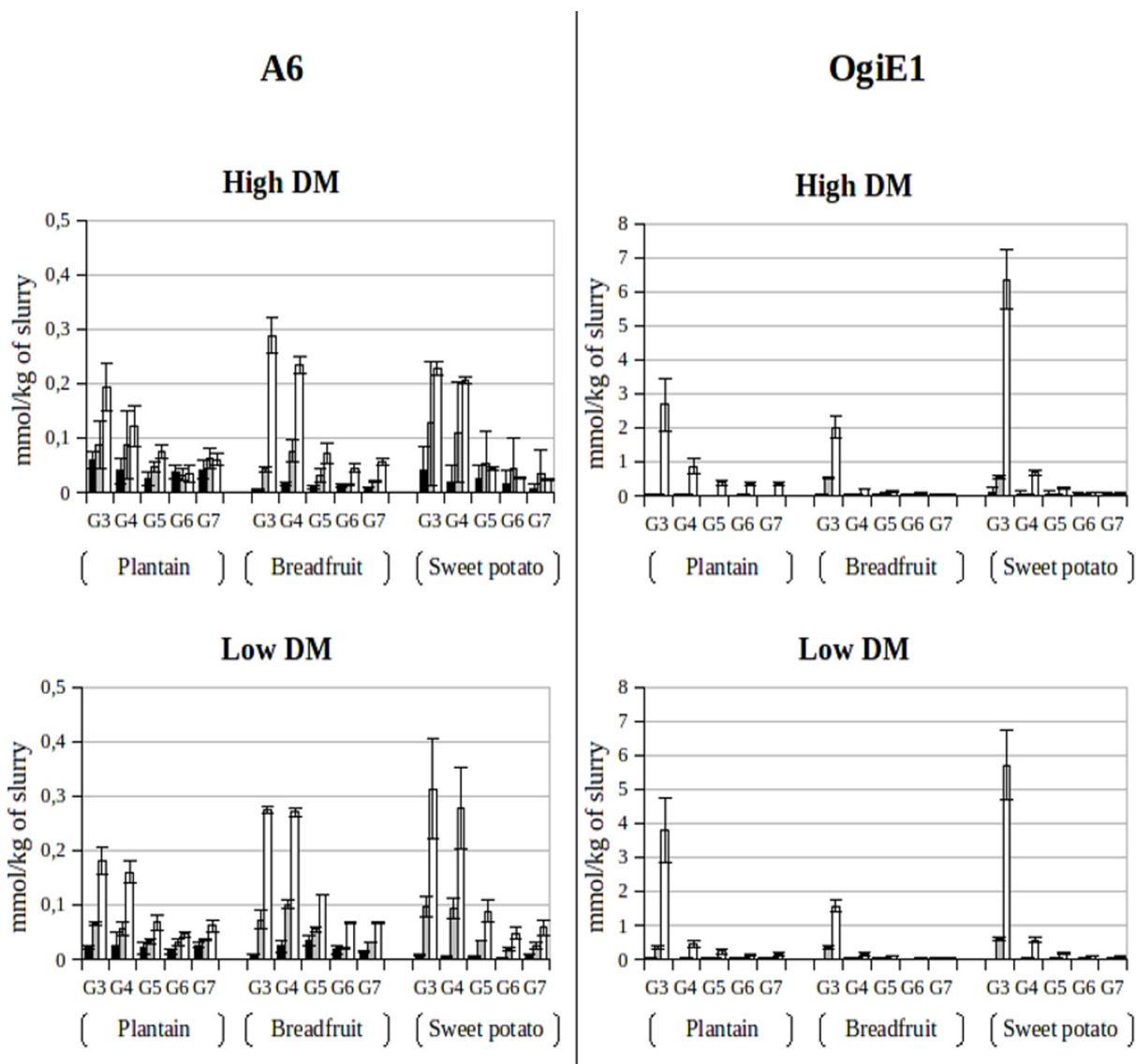


Figure 3. Production of maltodextrins (G3 : Maltotriose; G4 : Maltotetraose; G5 : Maltopentaose; G6 : Maltohexaose; G7 : Maltoheptaose) after 0 (■), 8 (□) and 24 (□) hours of fermentation of low and high DM content gelatinized slurries of plantain, breadfruit and sweet potato by *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus fermentum* OgiE1.

End-product formation

As expected from their fermentative type, ALAB strains differentiate in the end-products formed and in the concentration of these end-products which varied according to the raw

material and their DM content (Fig. 3). During fermentation of the plantain, breadfruit and sweet potato slurries by *Lb plantarum* A6, the only end-product of fermentation was lactic acid with the highest concentration obtained with the sweet potato slurry at high and low DM contents (38 mmol lactic acid.kg⁻¹ of slurry and 20 mmol lactic acid/kg of gelatinized slurry, respectively). *Lb. fermentum* Ogi E1 produced lactic acid, acetic acid and mannitol (Fig. 4). The highest acetic and lactic acid production was observed with the sweet potato slurries followed by the breadfruit slurries. For all raw materials, the high molar ratio of organic acid produced cannot be explained by the variations in mono- and disaccharide concentrations. Similarly to the observations made for cereal-based foods fermented by ALAB [20, 27], starch is most probably the main substrate responsible for lactic acid fermentation that is consistent with the production of maltodextrins observed for all raw materials.

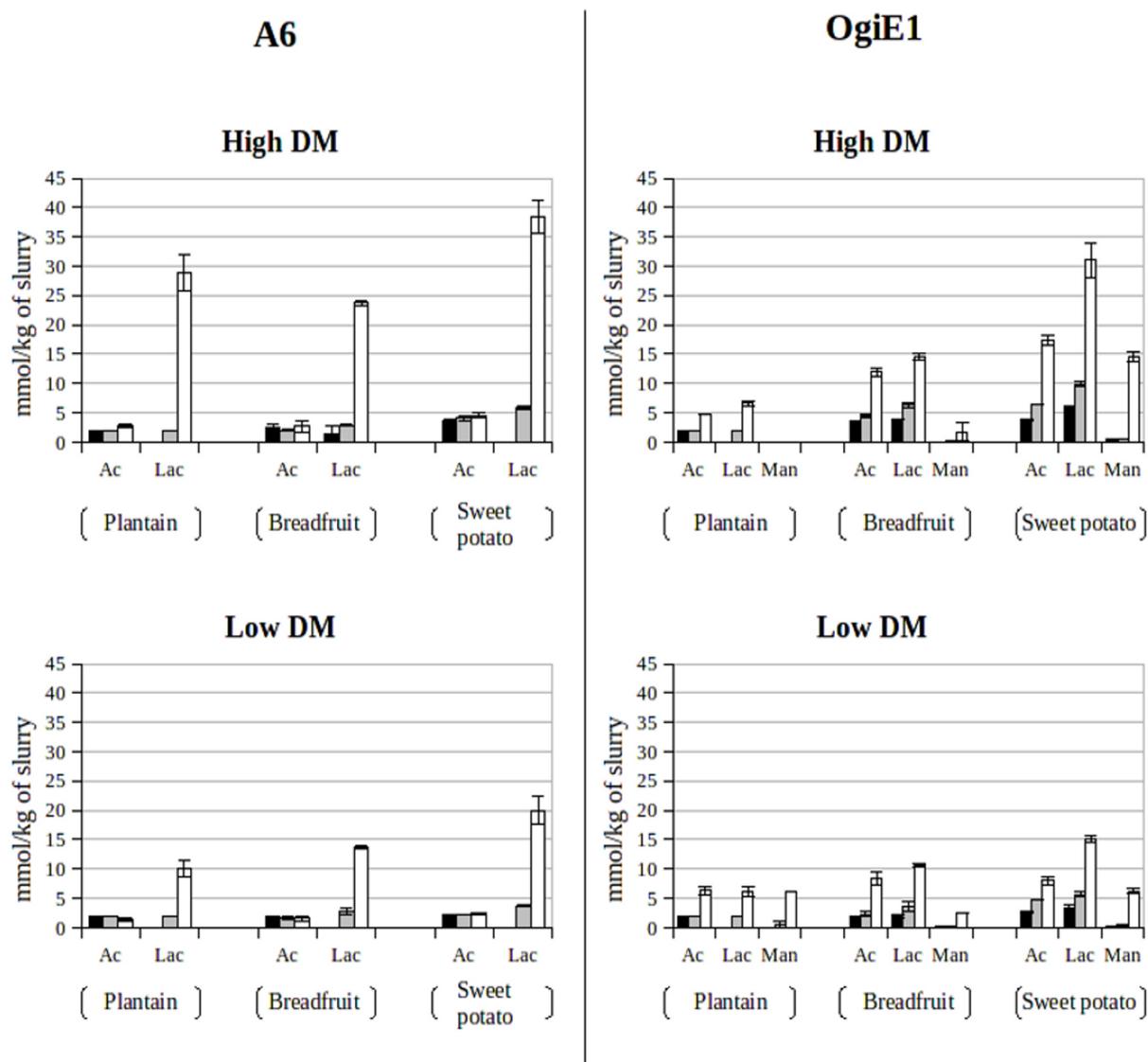


Figure 4. Production of acetic acid (Ac), lactic acid (Lac) and mannitol (Man) after 0 (■), 8 (□) and 24 (□) hours of fermentation of low and high DM content gelatinized slurries of plantain, breadfruit and sweet potato

by *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus fermentum* OgiE1.

Concerning the production of mannitol and acetic acid by strain Ogi E1, it can be explained in the case of the sweet potato slurries by the limited sucrose consumption. Indeed, previous observations showed that the fructose moiety of sucrose can serve as electron acceptor to produce mannitol, leading to acetate instead of ethanol by strain Ogi E1 [18]. However, since no marked consumption in fructose or sucrose was observed for the breadfruit and plantain slurries, other non-identified compounds from these complex fruit matrixes must be responsible for the observed mannitol production. Mannitol is assumed to have beneficial properties as an antioxidant and as non-metabolizable sweetener [31]. Direct production in the food matrix by *Lb. fermentum* Ogi E1 is therefore another interesting property that offers the perspective of developing “natural” mannitol-containing foods [31], more particularly in the case of the sweet potato slurry prepared at high DM content where it is produced in higher concentrations.

Conclusion

Gelatinized slurries of plantain, breadfruit and sweet potato can be fermented by *Lb. plantarum* A6 and *Lb. fermentum* Ogi E1 without being markedly affected in their mono- or disaccharide content. Among these three amylaceous plants, irrespective of the ALAB strains used, lower final pH, higher organic acid and mannitol production were obtained with sweet potato compared to breadfruit and plantain that had similar fermentation patterns, except in maltodextrin (G3, G4) production that differs between both fruits. Contrary to end-products of fermentation, final pH and maltodextrin patterns and concentrations are hardly affected by the dry matter content.

As for the strains, in spite of lower final pH of the products that can be reached with *Lb. plantarum* A6, acetic acid production together with lactic acid production, higher maltodextrin production and production of mannitol makes the use of *Lb. fermentum* Ogi E1 very attractive to develop food products with interesting functional properties [31, 32]. To this respect, the combination *Lb. fermentum* Ogi E1/sweet potato seems very promising. However, studies are under process to investigate the effect of the fermentation of these amylaceous plants by ALAB on the slurry consistency and digestibility that should provide a better insight on their potential for new functional food development.

Acknowledgements

Haydersah J. is recipient of a PhD fellowship funded by Conseil Régional de la Guadeloupe and Fonds Social Européen. Authors thank VetAgroSup, IRD Montpellier and Université des Antilles-Guyane for experimental and financial support.

References

1. Aurore G., Parfait B., Fahrasmane L. (2009) Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends Food Sci Tech* 20 : 78-91.
2. Worrell D.B., Sean Carrington C.M., Huber D.J. (1998) Growth, maturation and ripening of breadfruit, *Artocarpus altilis* (Park.) Fosb. *Sci Hortic-Amsterdam* 76 : 17-28.
3. Spary E., White P. (2004) Food of paradise: Tahitian breadfruit and the autocritique of European consumption. *Endeavour* 28 : 75-80.
4. Roberts-Nkrumah L.B., Badrie N. (2005) Breadfruit consumption, cooking methods and cultivar preference among consumers in Trinidad, West Indies. *Food Qual Prefer* 16 : 267-274.
5. Blandino A., Al-Aseeri M.E., Pandiella S.S., Cantero D., Webb C. (2003) Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res Int* 36 : 527-543.
6. Oyewole O.B. (1997) Lactic fermented foods in Africa and their benefits. *Food Control* 8 : 289-297.
7. Ray R.C., Sivakumar P.S. (2009) Traditional and novel fermented foods and beverages from tropical root and tuber crops: review. *Int J Food Sci Tech* 44 : 1073-1087.
8. Mestres C., Rouau X., Zakhia N., Brabet, C. (1996) Physicochemical properties of cassava sour starch. In: D. Dufour, G.M. O'brient & R. Best (Eds), *Cassava Flour and Starch: Progress in Research and Development*. Cali, Colombia: CIAT Publications, p. 143.
9. Reddy G., Altaf M., Naveena B., Venkateshwar M., Kumar E.V. (2008) Amylolytic bacterial lactic acid fermentation -- A review. *Biotech Adv*, vol. 26, 2008, pp. 22-34.
10. Giraud E., Brauman A., Keleke S., Lelong B., Raimbault M. (1991) Isolation and physiological study of an amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Appl Microbiol and Biotechnol* 36 : 379-383
11. Giraud E., Gosselin L., Marin B., Parada J., Raimbault M. (1993) Purification and characterization of an extracellular amylase from *Lactobacillus plantarum* strain A6. *J Appl Microbiol* 75 : 276-282.

12. Giraud E., Champailier A., Raimbault M. (1994) Degradation of raw starch by a wild amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. Appl Environ Microbiol 60 : 4319-4323.
13. Giraud E., Cuny G. (1997) Molecular characterization of the [alpha]-amylase genes of *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus amylovorus* reveals an unusual 3' end structure with direct tandem repeats and suggests a common evolutionary origin. Gene 198 : 149-157.
14. Florêncio J., Eiras-Stofella D., Soccol C., Raimbault M., Guyot J.P., Fontana J. (2000) *Lactobacillus plantarum* amylase acting on crude starch granules. Appl Biochem Biotechnol 84-86 : 721-730.
15. Calderon M., Loiseau G., Guyot J.P. (2001) Nutritional requirements and simplified cultivation medium to study growth and energetics of a sourdough lactic acid bacterium *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 during heterolactic fermentation of starch. J Appl Microbiol 90 : 508-516.
16. Agati V., Guyot J.P, Morlon-Guyot J., Talamond P., Hounhouigan D. (1998) Isolation and characterization of new amylolytic strains of *Lactobacillus fermentum* from fermented maize doughs (mawe and Ogi) from Benin. J Appl Microbiol 85 : 512-520.
17. Calderon Santoyo M., Loiseau G., Rodriguez Sanoja R., Guyot J.P. (2003) Study of starch fermentation at low pH by *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 reveals uncoupling between growth and [alpha]-amylase production at pH 4.0. Int J Food Microbiol 80 : 77-87.
18. Calderon M., Loiseau G., Guyot J.P. (2003) Fermentation by *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 of different combinations of carbohydrates occurring naturally in cereals: consequences on growth energetics and [alpha]-amylase production. Int J Food Microbiol 80 : 161-169.
19. Nguyen T.T.T., Loiseau G., Icard-Verniere C., Rochette I., Trèche S., Guyot J.P. (2007) Effect of fermentation by amylolytic lactic acid bacteria, in process combinations, on characteristics of rice/soybean slurries: A new method for preparing high energy density complementary foods for young children. Food Chem 100 : 623-631.
20. Songré-Ouattara L., Mouquet-Rivier C., Icard-Vernière C., Rochette I., Diawara B., Guyot J.P. (2009) Potential of amylolytic lactic acid bacteria to replace the use of malt for partial starch hydrolysis to produce African fermented pearl millet gruel fortified with groundnut. Int J Food Microbiol 130 : 258-264.
21. Panda S.H., Parmanick M., Ray R.C. (2007) Lactic acid fermentation of sweet potato (*Ipomoea Batatas L.*) into pickles. J Food Process Pres 31 : 83-101.

22. Panda S., Ray R. (2007) Lactic acid fermentation of β -carotene rich sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) into lacto-juice. *Plant Food Hum Nutr* 62 : 65-70.
23. Guyot J.P., Morlon-Guyot J. (2001) Effect of different cultivation conditions on *Lactobacillus manihotivorans* OND32T, an amylolytic lactobacillus isolated from sour starch cassava fermentation. *Int J Food Microbiol* 67 : 217-225.
24. Vrancken G., Rimaux T., De Vuyst L., Leroy F. (2008) Kinetic analysis of growth and sugar consumption by *Lactobacillus fermentum* IMDO 130101 reveals adaptation to the acidic sourdough ecosystem. *Int J of Food Microbiol* 128 : 58-66.
25. Ihaka R., Gentleman R. (1996) R: A language for data analysis and graphics. *J Comput Graph Stat* 5 : 299-314.
26. Tou E., Mouquet-Rivier C., Picq C., Traorè A., Trèche S., Guyot J.P. (2007) Improving the nutritional quality of ben-saalga, a traditional fermented millet-based gruel, by co-fermenting millet with groundnut and modifying the processing method. *LWT-Food Sci Technol* 40 : 1561-1569.
27. Nguyen T.T.T., Guyot J.P., Icard-Verniere C., Rochette I., Loiseau G. (2007) Effect of high pressure homogenisation on the capacity of *Lactobacillus plantarum* A6 to ferment rice/soybean slurries to prepare high energy density complementary food. *Food Chem* 102 : 1288-1295.
28. Nout M.J.R., Rombouts F.M., Havelaar A. (1989) Effect of accelerated natural lactic fermentation of infant good ingredients on some pathogenic microorganisms. *Int J Food Microbiol* 8 : 351-361 (1989).
29. Davidson, P.M. (1997) Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), *Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington, DC, pp. 520–556.
30. Adams M.R., Hall C.J. (1988) Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *Int J Food Sci Tech* 23 : 287-292.
31. Wisselink H.W., Weusthuis R.A., Eggink G., Hugenholtz J., Grobben G.J. (2002) Mannitol production by lactic acid bacteria: a review. *Int Dairy J* 12 : 151-161.
32. Zuleta A., Sarchi M., Rio M., Sambucetti M., Mora M., De Fabrizio S., Parada J. (2004) Fermented milk-starch and milk-inulin products as vehicles for lactic acid bacteria. *Plant Food Hum Nutr* 59 : 155-160.

Changements physico-chimiques et nutritionnels lors de la fermentation de bouillies de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par des bactéries lactiques amylolytiques

1 Résumé introductif

Les précédents travaux ont montré que les deux souches *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 étaient capables de fermenter les bouillies de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce. Toutefois, l'étude des changements physico-chimiques et nutritionnels se produisant au cours de ces fermentations de bouillies serait intéressante.

L'une des particularités des suspensions non gélatinisées de ces amyloacées est que leurs propriétés physico-chimiques dépendent principalement de l'amidon qui est leur principale forme de stockage de carbone. Les BLA étant capables de fermenter les amidons directement en composés plus simples (glucose, fructose par exemple), l'évolution de la consistance et de la viscosité des bouillies de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce pendant des fermentations par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 ont été étudiées. Par ailleurs, la digestibilité des amidons de chacune des plantes amyloacées avant et après fermentation a été déterminée, ainsi que l'évolution des différentes fractions comme les amidons rapidement et lentement digestibles et les amidons résistants.

Une diminution de la consistance et de la viscosité sont observées pour toutes les bouillies après fermentation par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1, les bouillies à 10% de matière sèche passant d'un état collant et compact à « buvable » en fin de fermentation, à l'exception de la fermentation de la patate douce par *Lb fermentum* OgiE1, où aucune modification de la consistance n'est observée.

La diminution de la digestibilité des amidons et l'augmentation des amidons résistants montrent que les deux souches sont capables de modifier les propriétés rhéologiques ainsi que les propriétés nutritionnelles du fruit à pain et de la patate douce. La banane plantain présente une digestibilité des amidons plus importante et un taux d'amidons résistants plus bas que les deux autres matières premières.

La capacité des deux souches de bactéries lactiques amylolytiques à modifier les propriétés rhéologiques et nutritionnelles des suspensions gélatinisées montre que le développement de nouveaux produits fermentés, en particulier de produits buvables ou de yaourt-like, à partir de ces fermentations serait envisageable.

2 Changes induced by amyolytic lactic acid bacteria on some physico-chemical and nutritional characteristics of starchy fruits and roots : the case of plantain, breadfruit and sweet potato slurries

Authors

Julien Haydersah, Isabelle Chevallier, Christèle Icard-Vernière, Claire Mouquet-Rivier, Thérèse Marianne-Pépin, Jean-Pierre Guyot

Affiliations

Julien Haydersah, Isabelle Chevallier

UR Typicité des Produits Alimentaires, VetAgro Sup, Campus agronomique de Clermont, 89 Avenue de l'Europe, BP 35, 63370 Lempdes, France

Christèle Icard-Vernière, Claire Mouquet-Rivier, Jean-Pierre Guyot (Corresponding author : jean-pierre.guyot@ird.fr)

IRD UMR 204 « Prévention des Malnutritions et des Pathologies associées » (Nutripass), IRD/Montpellier2/Montpellier1/SupAgro, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France

Marie-Noëlle Sylvestre, Thérèse Marianne-Pépin

Unité Dynamique des protéines et modélisation, Université Antilles-Guyane, Campus de Fouillole, BP 250, 97157 Pointe à Pitre Cedex, France

Abstract

Plantain, breadfruit and sweet potato are staples in many tropical countries whose commercial value and nutritional quality can be enhanced through fermentation. The ability of homo and heterofermentative (*Lb plantarum* A6 and *Lb fermentum* Ogi E1, respectively) amyolytic lactic acid bacteria (ALAB) to affect consistency, starch composition and starch digestibility of slurries prepared at 10% dry matter from these starchy raw materials was studied. Whatever the ALAB strain used, the consistency of the product varied from sticky and thick before fermentation to drinkable at the end of fermentation and apparent viscosity decreased to values near 1 Pa.s. As for digestibility, main changes were observed for the breadfruit and sweet potato slurries with a decrease in starch digestibility and an increase in resistant starch, showing that ALAB are not only able to modify the rheological properties of starchy slurries but also their nutritional characteristics. In contrast, compared to these products, the plantain fermented slurry had a higher starch digestibility and lower resistant

starch content.

Keywords :

Starch digestibility, resistant starch, amylose, lactic acid fermentation, root, tuber

Introduction

Amylaceous plants are staples in many countries around the world, and plantain (*Musa Paradisiaca*), breadfruit (*Artocarpus altilis*) and sweet potato (*Ipomoea batatas*) are between the most consumed. These plants are often consumed in the households, but their processing into more elaborated foodstuffs with increased added-value may offer new opportunities to promote local agricultural productions. Using amylolytic lactic acid bacteria (ALAB) represents an attractive way to ferment starchy fruits and roots such as plantain, breadfruit and sweet potato flours in order to produce novel fermented foods [1].

Amylase activity is not common in lactic acid bacteria (LAB) and this characteristic can be found in LAB belonging to different genus in particular the genus *Lactobacillus*. *Lactobacillus plantarum* A6, a homofermentative LAB [2] and *Lactobacillus fermentum* Ogi E1, a heterofermentative LAB [3], isolated from African cassava and corn fermentations, respectively, are efficient strains for starch fermentation. Previous works showed that *Lactobacillus plantarum* A6 was able to ferment gelatinized slurries made of cereal and legumes like rice/soybean [4] or pearl millet-groundnut mixtures [5] and to decrease their apparent viscosity and consistency due to direct starch hydrolysis. As for plantains, breadfruits and sweet potatoes, the ability of *L. plantarum* A6 and *L. fermentum* Ogi E1 to ferment these fruits and root and to hydrolyse their starch was recently shown [6]. Fermentation characteristics were dependent on the strain and raw material used. However, the effect of starch hydrolysis by these ALAB on product consistency, starch composition and digestibility has not been reported yet. In this work, we investigated changes induced by *L. plantarum* A6 and *L. fermentum* Ogi E1 and that are of importance to determine the texture of the products resulting from fermentation.

Materials and methods

Preparation of the gelatinized slurries for fermentation

Plantain (*Musa paradisiaca*), breadfruit (*Artocarpus altilis*) and sweet potato (*Ipomoea batatas*) flours (same batch) were purchased from the enterprise Tropical Food (Goyave, Guadeloupe, France) under trademark Bichon®. Before use, these flours were dry heated at

121°C for 15 min for sterilization and stored at 4°C. Proximate composition of flours is given in Table 1.

	Dry matter	Lipid	Fiber ADF (Van Soest)	Protein (N x 6.25)	Total starch	Damaged starch
Plantain	86.86	0.16	3.28	2.58	87.58	6.37
Breadfruit	88.09	1.20	7.77	3.85	70.30	20.81
Sweet potato	94.83	0.37	3.87	3.93	63.17	11.45

Table 1. Proximate composition of flours of plantain, breadfruit and sweet potato (expressed in g/100g of dry matter).

Slurries were prepared at approximately 10% DM. For preparation of gelatinized slurries, 80 g of flour were mixed to 800 ml sterile distilled water, and then heated at 95°C. Boiling was maintained for 15 min under stirring. Gelatinized slurries was then cooled to 30°C and inoculated as indicated below. Fermentations were performed for 24h at 30°C in 250 ml vials filled to 200 ml. Following the preparation of gelatinized slurries, the exact DM content of the slurries was determined by over-drying at 105°C to constant weight (Table 2). All fermentations were made in triplicate.

	A6	Ogi E1
Plantain	10.69 ± 0.25	9.09 ± 1.21
Breadfruit	11.93 ± 1.10	11.87 ± 0.81
Sweet potato	10.49 ± 0.18	11.13 ± 0.94

Table 2. Dry matter content (%) of gelatinized slurries of plantain, breadfruit and sweet potato

Preparation of strains and inoculum

Strains *Lactobacillus plantarum* A6 (LMG 18053) and *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 (I-2028) were conserved in 20% glycerol at -80°C. Before inoculation, they were reactivated at 30°C for 24h in 15 ml modified MRS-starch broth medium containing starch as unique substrate [7]. For preparation of inoculum, 2 ml of an overnight culture were centrifuged for 10 min at 14 000g. Supernatant was removed and pellet was washed in 2 ml sterile physiological solution (0.9%, w/v NaCl) and centrifuged for 10 min at 14000 g. The pellet was resuspended in 1 ml of sterile physiological solution and diluted in 9 ml sterile

physiological solution. 2 ml of this suspension were used for inoculation.

Rheological properties

Apparent viscosity was measured using an Haake viscometer T550 with SV-DIN coaxial cylinders driven by Rheowin 2.67 software on Gruels at 30°C. Shear rate and shear time were respectively 83 s⁻¹ and 10 min.

Consistency of Gruels were determined using a Bostwick consistometer Polyvisc (Kinematica INC, Newark, USA) on Gruels at 30°C for 30s [4].

Amylose determination

Amylose was determined on 2 g of slurry using the K-AMYL kit (Megazyme, Ireland) following the manufacturer assay procedure. Briefly, in this assay amylopectin forms a complex with the lectin concanavalin A (Con A) that precipitates and is further eliminated by centrifugation. The amylose fraction in the supernatant is hydrolyzed to D-glucose using amyloglucosidase. Thereafter, D-glucose is analyzed colourimetrically after a glucose oxydase/peroxydase reaction. Results were expressed as g amylose/100 g of TS.

Determination of starch digestibility

Starch digestibility was estimated by *in vitro* digestion of starch [8] that enables to define different starch fractions: rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS), resistant starch (RS).

First, free soluble glucose (FSG) was determined. Approximately 10 g of gelatinized flour, before and after fermentation, were sampled in 50 ml tubes. 25 ml of distilled water were added. Then tubes were vigorously homogenized and incubated in boiling water bath for 30 min. Tubes were then vigorously mixed one more time and cooled to 37°C in ice. 0.2 ml of invertase solution (Megazyme, Ireland) was added and tubes were incubated at 37°C for 30 min under agitation. After vigorous mixing, 200 µl of solution were added to 4 ml of ethanol 80%, this preparation was used to determine FSG. These FSG samples were stored at 4°C until analysis of glucose.

Rapidly and slowly digestible starch were measured based on the method of Icard-Vernière et al. [9]. A known amount of slurry (approximately 10 g) is mixed with 5 ml of sterile distilled water and 10 ml of pepsine (50 mg/10 ml HCl 0.05 M; EC 3.4.23.1; P-7000 Sigma Chemical Co, Cambridge, UK). Tubes were incubated in a 37°C water bath for 30 min under agitation. 5 ml of sodium acetate buffer (0.5 M) and 5 ml of a

pancreatin/invertase/amyloglucosidase solution were added. The mix was incubated at 37°C under agitation, and after 20 min (G20) and 120 min (G120), 200 µl of solution were then taken and mixed with 4 ml of ethanol 80%, in order to determine respectively RDS and SDS. These RDS and SDS samples were stored at 4°C until analysis of glucose.

To determine soluble glucose in FSG, RDS and SDS samples, the Glucose oxidase/oxidase (GOPOD) method was used. After vortexing, 2 ml of samples were centrifuged 5 min at 1500 g. 50 µl of supernatant were taken and mixed with 1.5 ml of GOPOD (Megazyme, Ireland) and 50 µl of distilled water in hemolysis tubes, which were then incubated for 20 min at 50°C. Absorbance at 510 nm was read against blank reagent and compared to a standard curve of glucose.

Total starch (TS) was determined using the K-TSTA kit (Megazyme, Ireland). Briefly, starch is hydrolyzed into maltodextrins using thermostable α -amylase. Maltodextrins are then hydrolyzed into glucose using purified amyloglucosidase. Before measurements, starches were pre-treated using aqueous alcohol and then incubated with DMSO at 95°C.

The values of RDS and SDS were determined using the glucose values determined at 20 (G20) and 120 (G120) minutes determined as follow :

$$\text{RDS} = (\text{G20} - \text{FSG}) \times 0.9$$

$$\text{SDS} = (\text{G120} - \text{G20}) \times 0.9$$

$$\text{RS} = \text{TS} - (\text{RDS} + \text{SDS})$$

These values were expressed as g/100 g of dry matter .

Statistical analysis

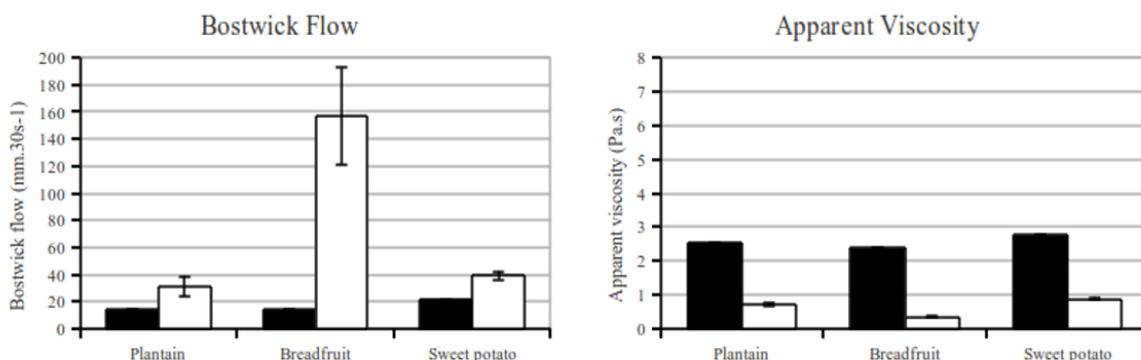
All experiments were made in triplicate and data were expressed as means \pm standard deviations. Data were analyzed performing an ANOVA within 95 % confidence interval, using the statistical R software version 2.9.2 (<http://www.r-project.org>) [10].

Results and discussion

Rheological changes due to fermentation

Bostwick flow and apparent viscosity were measured at the beginning and at the end (24h) of fermentation (Figure 1). Before fermentation, all gelatinized slurries had a sticky and thick consistency. The apparent viscosities of these starchy fruits and root slurries were higher than values reported by Mouquet et Trèche (2001) [11] using the same viscometer under the same conditions (83 s⁻¹ and 10 min) and similar DM contents for a non fermented gelatinized maize-based gruel and a multicomponent gruel (millet, soybean, groundnut, sugar).

A6



OgiE1

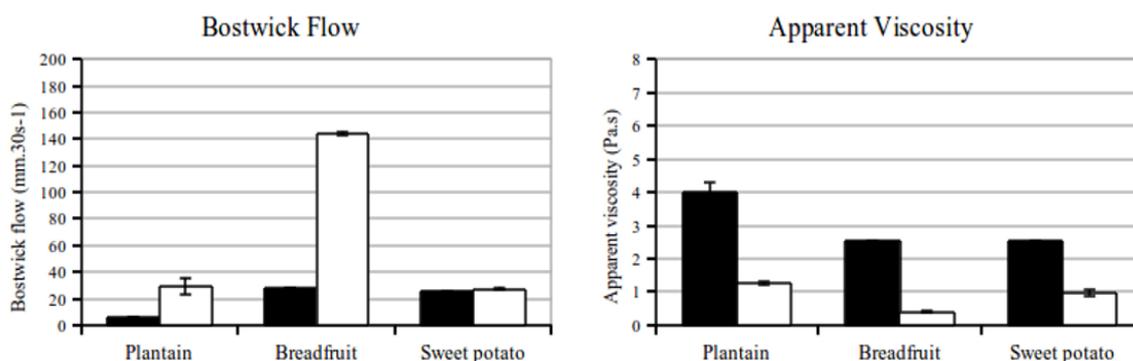


Figure 1. Apparent viscosity and Bostwick flow of plantain, breadfruit and sweet potato slurries before inoculation (■) and after 24 h of fermentation (□) by *Lb plantarum* A6 and *Lb fermentum* Ogi E1.

After fermentation, for all slurries, both ALAB strains were efficient to decrease the apparent viscosity to values near 1 Pa.s or lower and the Bostwick flow increased, except for the sweet potato fermented by *Lb fermentum* Ogi E1 where no change in Bostwick flow was observed. This last result is not surprising since the Bostwick flow can be very different between slurries prepared with different starchy raw materials and having the same apparent viscosity [12]. The lowest value in viscosity and highest Bostwick flow were obtained with the breadfruit fermented slurries that had a liquid consistency whatever the strain used. As for the plantain and sweet potato fermented slurries, their consistency were between drinkable and spoonable using the descriptive terms described by Mouquet at Trèche (2001) [11] for maize or millet based gruels.

Increased Bostwick flow and decreased viscosity is consistent with starch hydrolysis as indicated by maltodextrin (G3 and G4) production observed during the fermentation of these

starchy fruits and root slurries [6]. These changes are also in accordance with previous works on the ALAB fermentation of cereal/legumes based slurries [4, 5] investigated to develop high energy density gruels for infant feeding, showing therefore a large potential for ALAB to ferment and modify rheological properties of starchy matrixes leading to products that could be comparable to drinkable yogurts.

Analysis of amylose content of the slurries

In an attempt to determine if there was a preferential use of amylose or amylopectin, amylose content of the slurries was analyzed. Amylose contents of raw materials before fermentation were in a narrow range of values (30-36% of TS) albeit significantly different (Table 3), with the highest value for sweet potato and the lowest for plantain (29,8 %). Amylose content of plantain was in the range reported in the literature that seems variable according to the authors [13, 14]. Same observations were made for sweet potato whose amylose content was in the range 20-35 % [15-17] . For breadfruit, the amylose content was close to that reported by Rincon and Pindalle [18] , whereas Akanbi et al [19] found a content of 22.5 %.

	Amylose (%)
<u>Plantain</u>	
Initial	29.8 ± 2.2 ^a
A6	34.7 ± 2.7 ^b
Ogi E1	31.7 ± 2.6 ^a
<u>Breadfruit</u>	
Initial	33.3 ± 4 ^c
A6	34 ± 3.4 ^c
Ogi E1	28.8 ± 4.3 ^c
<u>Sweet potato</u>	
Initial	36.1 ± 2.6 ^d
A6	30 ± 2.9 ^e
Ogi E1	32.1 ± 2.3 ^e

Values with different letters are significantly different (P<0.05)

Table 3. Amylose content of plantain, breadfruit and sweet potato slurries before and after fermentation by *L. plantarum* A6 and *L. fermentum* Ogi (expressed as function of total starch).

After fermentation, whatever the ALAB strain a limited but significant decrease in amylose content was observed for the sweet potato slurry (Table 3). The α -amylase of *Lb plantarum* A6 has a similar affinity for both amylopectin and amylose, however the k_{cat} and the relation k_{cat}/K_m of the enzyme is higher for amylose [20] suggesting that strain A6 would hydrolyse amylose at a faster rate than amylopectin, that leads to expect a more pronounced decrease in amylose content as observed for sweet potato. However, for *L. fermentum* Ogi E1 the catalytic properties of its α -amylase are not known.

Whereas the amylose content was not affected in the breadfruit slurries fermented by *L. fermentum* Ogi E1 and *L. plantarum* A6 and in the plantain slurry fermented by *L. fermentum* Ogi E1, a slight significant increase in the amylose content was observed for the plantain slurry fermented by *L. plantarum* A6 (Table 3). No variations or increase in amylose content could respectively indicate that amylose and amylopectin could have been used with the same efficiency or a preferential use of amylopectin. However, the assay for determining amylose content is based on the removal of branched polysaccharides (e.g. amylopectin) mediated by Con A (see Material and methods). This implies that non-ramified dextrans resulting from amylopectin hydrolysis by α -amylase are not eliminated and enter in the “amylose pool” that will be quantified by the Megazyme’s method through enzymatic glucose release and oxidation. Therefore, the initial amylose content would appear as being either not affected or increased at the end of fermentation due to the production of non-ramified dextrans.

Starch digestibility of the fermented slurries

Both ALAB strains had a similar effect on the different starch fractions of the slurries (Table 4) and differences were mainly due to the botanical origin of the raw materials. The plantain slurries had a higher RDS content than the other products and this fraction was not affected by the fermentation. For the RS value, it was similar to those of the unfermented breadfruit and sweet potato slurries before fermentation and did not vary at the end.

	TS (g.100g ⁻¹)	RDS (g.100g ⁻¹)	SDS (g.100g ⁻¹)	RS
<u>Plantain</u>				
Initial	75 ± 1.6 ^a	46 ± 2.7 ^b	8.3 ± 3.8 ^c	20.7 ± 7.2 ^d
A6	72.5 ± 0.6 ^a	46.3 ± 3.6 ^b	6.9 ± 3.2 ^c	19.3 ± 3.7 ^d
Ogi E1	71.3 ± 1.6 ^a	51.1 ± 2.3 ^b	3.4 ± 1.8 ^c	16.8 ± 3.3 ^d
<u>Breadfruit</u>				
Initial	65.1 ± 2.2 ^f	36 ± 3.2 ^g	8.9 ± 3.3 ⁱ	20.2 ± 2.9 ^j
A6	64.2 ± 0.8 ^f	30.6 ± 0.8 ^h	7.6 ± 4.3 ⁱ	26 ± 4.3 ^j
Ogi E1	64.9 ± 0.7 ^f	29.9 ± 2.9 ^g	5.3 ± 1.4 ⁱ	29.7 ± 1.2 ^k
<u>Sweet potato</u>				
Initial	61.7 ± 0.7 ^k	36.3 ± 1.5 ^m	7 ± 5.7 ^o	18.4 ± 5.5 ^p
A6	63.2 ± 1.8 ^k	32.2 ± 1.1 ⁿ	3.5 ± 0.5 ^o	27.5 ± 2.1 ^q
Ogi E1	67 ± 0.6 ^l	33.2 ± 1 ⁿ	3.5 ± 1.3 ^o	30.4 ± 0.5 ^q

Values with different letters are significantly different (P<0.05)

Table 4. Starch digestibility of plantain, breadfruit and sweet potato gelatinized slurries before and after fermentation by *Lb plantarum* A6 and *Lb fermentum* Ogi E1.

The mean starch digestibility index (SDI) for plantain slurries was around 66% whereas it was 50% and 53% for the breadfruit and sweet potato slurries, respectively (data not shown). The observed effects of ALAB on breadfruit and sweet potato slurries were similar but different to the results obtained with the plantain slurries: fermentation by ALAB induced a significant decrease in RDS and SDS contents and a strong increase in RS content compared to the corresponding unfermented gelatinized slurries, showing that ALAB can affect some important starch fractions in nutrition.

Stating that HI (hydrolysis index of starch) could be used to predict the glycemic index (GI) of foods and due to a linear relation between RDS expressed in dry weight, Rosin et al. (2002) [21] proposed that RDS can be an alternative way to select foods with low GI provided that RDS is expressed on a dry weight basis. In that sense, breadfruit and sweet potato fermented slurries would appear as a better choice than plantain slurries to develop fermented products that potentially would have a lower GI. Furthermore, since their higher RS content when they are fermented, breadfruit and sweet potato fermented slurries have a great potential to develop new products with prebiotic properties. Indeed, RS can stimulate

the microbiota of the human gastrointestinal tract triggering an increased production of short chain fatty acids that have beneficial effects on the human health [22-24]. However, this increase of RS for breadfruit and sweet potato need further investigations in order to be explained. In particular, it would be interesting to investigate if this increase would not be linked to retrogradation during the cooling period before inoculation.

Conclusion

ALAB can change the consistency of stiff gelatinized slurries prepared from plantain, breadfruit and sweet potato into drinkable fermented products. Local availability and nutritional targets would determine the choice of one of these starchy raw materials to develop new functional fermented foods that are lactose and gluten free and that do not depend on milk and cereal availability. One of the most remarkable effects that could be exploited and further investigated for that purpose is the increase in the RS content (even if it should be studied and explained) due to the ALAB fermentation for the breadfruit and sweet potato slurries, together with a decreased digestibility that could putatively be linked to a decreased glycemic index. Even if no major differences between the ALAB strains were observed on these characteristics, their own metabolic pathway (heterofermentative and homofermentative) will determine the fermentation products and will also have to be taken into account for further product development, in particular for organoleptic characteristics and preservation during storage.

Acknowledgements

Haydersah J. is recipient of a PhD fellowship funded by Conseil Régional de Guadeloupe and Fonds Social Européen. Authors thank Ms. Marie-Noëlle Sylvestre from Université des Antilles-Guyane for her experimental support.

References

1. Reddy G., Altaf M., Naveena B., Venkateshwar M., Kumar E.V. (2008) Amylolytic bacterial lactic acid fermentation -- A review. *Biotech Adv* 26 : 22-34 .
2. Giraud E., Brauman A., Keleke S., Lelong B., Raimbault M. (1991) Isolation and physiological study of an amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Appl Microbiol and Biotechnol* 36 : 379-383.

3. Agati V., Guyot J.P., Morlon-Guyot J., Talamond P., Hounhouigan D. (1998) Isolation and Characterization of New Amylolytic Strains of *Lactobacillus Fermentum* from Fermented Maize Doughs (mawe and Ogi) from Benin. *J Appl Microbiol* 85 : 512-520.
4. Nguyen T.T.T., Loiseau G., Icard-Verniere C., Rochette I., Treche S., Guyot J.P. (2007) Effect of fermentation by amylolytic lactic acid bacteria, in process combinations, on characteristics of rice/soybean slurries: A new method for preparing high energy density complementary foods for young children. *Food Chem* 100 : 623-631.
5. Songré-Ouattara L., Mouquet-Rivier C., Icard-Vernière C., Rochette I., Diawara B., Guyot J.P. (2009) Potential of amylolytic lactic acid bacteria to replace the use of malt for partial starch hydrolysis to produce African fermented pearl millet gruel fortified with groundnut. *Int J Food Microbiol* 130 : 258-264.
6. Haydersah J., Guyot J.P., Rochette I., Icard-Vernière C., Picq C., Marianne-Pépin T., Chevallier I. (Submitted) Lactic acid fermentation of plantain, breadfruit and sweet potato by amylolytic lactic acid bacteria. *Plant Food Hum Nutr*.
7. Guyot J.P., Morlon-Guyot J. (2001) Effect of different cultivation conditions on *Lactobacillus manihotivorans* OND32T, an amylolytic lactobacillus isolated from sour starch cassava fermentation. *Int J Food Microbiol* 67 : 217-225.
8. Englyst H.N., Hudson G.J. (1996) The classification and measurement of dietary carbohydrates. *Food Chem* 57 : 15-21.
9. Icard-Vernière C., Mouquet-Rivier C., Rablat D., Moreau C. (2010) Occurrence of a 'very slowly digestible' starch fraction in different whole or dehulled cereal foods. In : Van der Kamp J, Jones J, McCleary B, Topping D (Eds), *Dietary fibre: new frontiers for food and health*. The Netherlands : Wageningen Academic publishers, pp. 351-362.
10. Ihaka R., Gentleman R. (1996) R : A Language for Data Analysis and Graphics. *J Comput Graph Stat* 5 : 299-314.
11. Mouquet C., Trèche S. (2001) Viscosity of gruels for infants: a comparison of measurement procedures. *Int J Food Sci Nutr* 52 : 389 - 400.
12. Mouquet C., Greffeuille V., Treche S. (2006) Characterization of the consistency of gruels consumed by infants in developing countries: assessment of the Bostwick consistometer and comparison with viscosity measurements and sensory perception. *Int J Food Sci Nutr* 57 : 459 - 469.
13. Nwokocha L.M., Williams P.A. (2009) Some properties of white and yellow plantain (*Musa paradisiaca*, Normalis) starches. *Carbohydr Polym* 76 : 133-138.

14. Espinosa-Solis V., Jane J., Bello-Perez L.A. (2009) Physicochemical Characteristics of Starches from Unripe Fruits of Mango and Banana. *Starch - Starke* 61 : 291-299.
15. Moorthy S.N. (2002) Physicochemical and Functional Properties of Tropical Tuber Starches: A Review. *Starch - Starke* 54 : 559-592.
16. Osundahunsi O., Fagbemi T., Kesselman E., Shimoni E. (2003) Comparison of the Physicochemical Properties and Pasting Characteristics of Flour and Starch from Red and White Sweet Potato Cultivars. *J Agr Food Chem* 51 : 2232-2236.
17. Peroni F.H., Rocha T.S., Franco C.M. (2006) Some Structural and Physicochemical Characteristics of Tuber and Root Starches. *Food Sci Technol Int* 12 : 505-513.
18. Rincón A., Padilla F. (2004) Physicochemical properties of Venezuelan breadfruit (*Artocarpus altilis*) starch. *Arch Latinoam Nutr* 54 : 449-456.
19. Akanbi T., Nazamid S., Adebowale A. (2009) Functional and pasting properties of a tropical breadfruit (*Artocarpus altilis*) starch from Ile-Ife, Osun state, Nigeria. *Int Food Res J* 16 : 151-157 (2009).
20. Rodriguez-Sanoja R., Ruiz B., Guyot J.P., Sanchez S. (2005) Starch-Binding Domain Affects Catalysis in Two *Lactobacillus* α -Amylases. *Appl Environ Microbiol* 71.
21. Rosin P.M., Lajolo F.M., Menezes E.W. (2002) Measurement and Characterization of Dietary Starches. *J Food Compos Anal* 15 : 367-377.
22. Brouns F., Kettlitz B., Arrigoni E. (2002) Resistant starch and "the butyrate revolution". *Trends Food Sci Tech* 13 : 251-261.
23. Topping D. (2007) Cereal complex carbohydrates and their contribution to human health. *J Cereal Sci* 46 : 220-229.
24. Wong J.M.W., Jenkins D.J.A. (2007) Carbohydrate Digestibility and Metabolic Effects. *J Nutr* 137 : 2539-2546.

Résultats complémentaires : Changements physico-chimiques et nutritionnels induits par la fermentation lactique amylolytique de suspensions gélatinisées à haute teneur en matière sèche

Introduction

Les modifications de certaines propriétés physico-chimiques et nutritionnelles des suspensions gélatinisées à teneur élevée en matière sèche (Tableau 8) de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce ont été étudiées. Des mesures consistence et de viscosité avant et après fermentation (24h) ont été effectuées.

	A6	OgiE1
Plantain	17.50 ± 0.73	18.77 ± 1.92
Breadfruit	17.30 ± 1.18	17.38 ± 0.27
Sweet potato	18.10 ± 0.24	18.32 ± 0.33

Tableau 8: Valeurs de matière sèche des suspensions gélatinisées

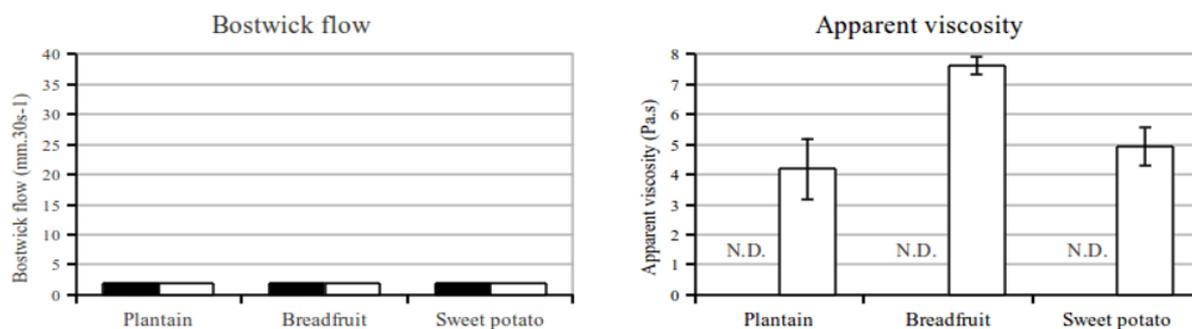
Résultats et discussions

Avant fermentation, les valeurs d'écoulement Bostwick sont très faibles et identiques pour la banane plantain, le fruit à pain et la patate douce, et la viscosité n'a pu être mesurée car les suspensions sont très collantes et compactes (Figure 3.1).

Une augmentation de l'écoulement Bostwick a été observée uniquement pour le fruit à pain après fermentation par *Lb fermentum* OgiE1. Une diminution de la viscosité est observée pour toutes les matières premières pour les deux souches. Les valeurs de viscosité observées pour les deux souches correspondent à des bouillies compactes (Mouquet et Trèche, 2001).

Les modifications des suspensions gélatinisées à forte teneur de matière sèche de banane plantain, de fruit à pain et de la patate douce par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 sont très limitées. Contrairement aux suspensions gélatinisées à faible teneur en matière sèche, les valeurs de viscosité et de consistance en fin de fermentation ne correspondent pas à des valeurs de bouillies « buvables » (Mouquet et Trèche, 2001).

A6 High DM



OgiE1 High DM

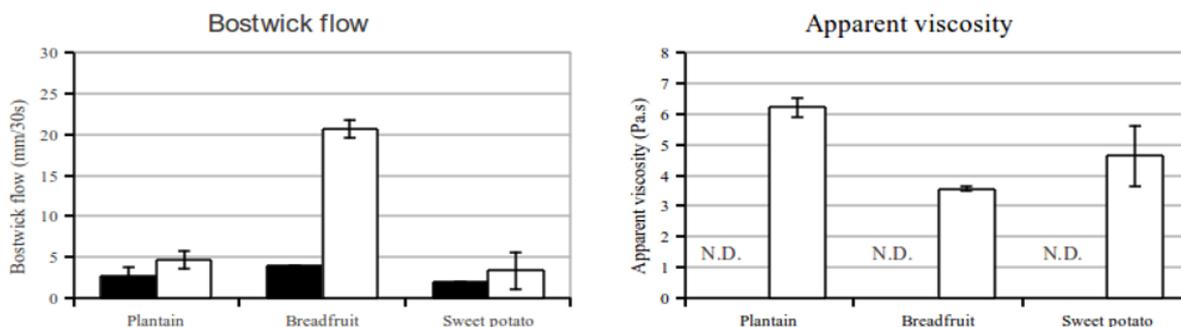


Figure 3.1: Viscosité apparente et écoulement Bostwick de suspensions gélatinisées de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce avant () et après 24h () de fermentation par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1

Ces observations, mises en relation avec celles obtenues pour le dosage des maltodextrines et des produits de fermentation, montrent que *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 sont capables d'hydrolyser l'amidon des suspensions gélatinisées à haute teneur en matière sèche.

Conclusion

La fermentation des suspensions gélatinisées à haute teneur en matière sèche de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 a des effets très limités sur les propriétés rhéologiques de ces suspensions après 24h de fermentation.

Résultats complémentaires : Fermentation de suspensions non gélatinisées

Introduction

Des fermentations sur des suspensions non gélatinisées (SNG) de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce ont été réalisées afin d'étudier la capacité de *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 à fermenter les amidons crus de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce. Les cinétiques des produits de fermentation (acide lactique, acide acétique, éthanol et mannitol), des sucres (glucose, fructose, saccharose et maltose) et des maltodextrines (maltotriose à maltoheptaose) ont été étudiées. Les changements des propriétés rhéologiques ont également été analysés après cuisson des suspensions non gélatinisées fermentées pendant 15 min à 95°C. Les concentrations en matière sèche sont d'environ 9 % et 19 %, et sont désignées comme Low Dry Matter (Low DM) et High Dry Matter (High DM) respectivement.

Résultats

1 Croissance bactérienne et suivi de pH

Lb plantarum A6 et *Lb fermentum* OgiE1 sont capables de se développer dans les suspensions non gélatinisées (SNG) de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce, quelque soit la teneur en farine employée. Les numérations indiquent 6,5-7 log UFC/g en début de fermentation à environ 9-9,5 log UFC/g en fin de fermentation (Figure 3.2).

Concernant l'évolution du pH des suspensions, une acidification se produit, mais les valeurs finales sont différentes suivant le milieu et la souche. Il semble que le comportement des souches soit fonction de la SNG employée mais pas de leur teneur en matière sèche. L'acidification la plus importante a été obtenue avec la patate douce, et le pH le plus élevé pour la banane plantain pour les deux souches. Toutefois, il apparaît que l'acidification par *Lb plantarum* A6 de toutes les SNG est plus importante que pour *Lb fermentum* OgiE1.

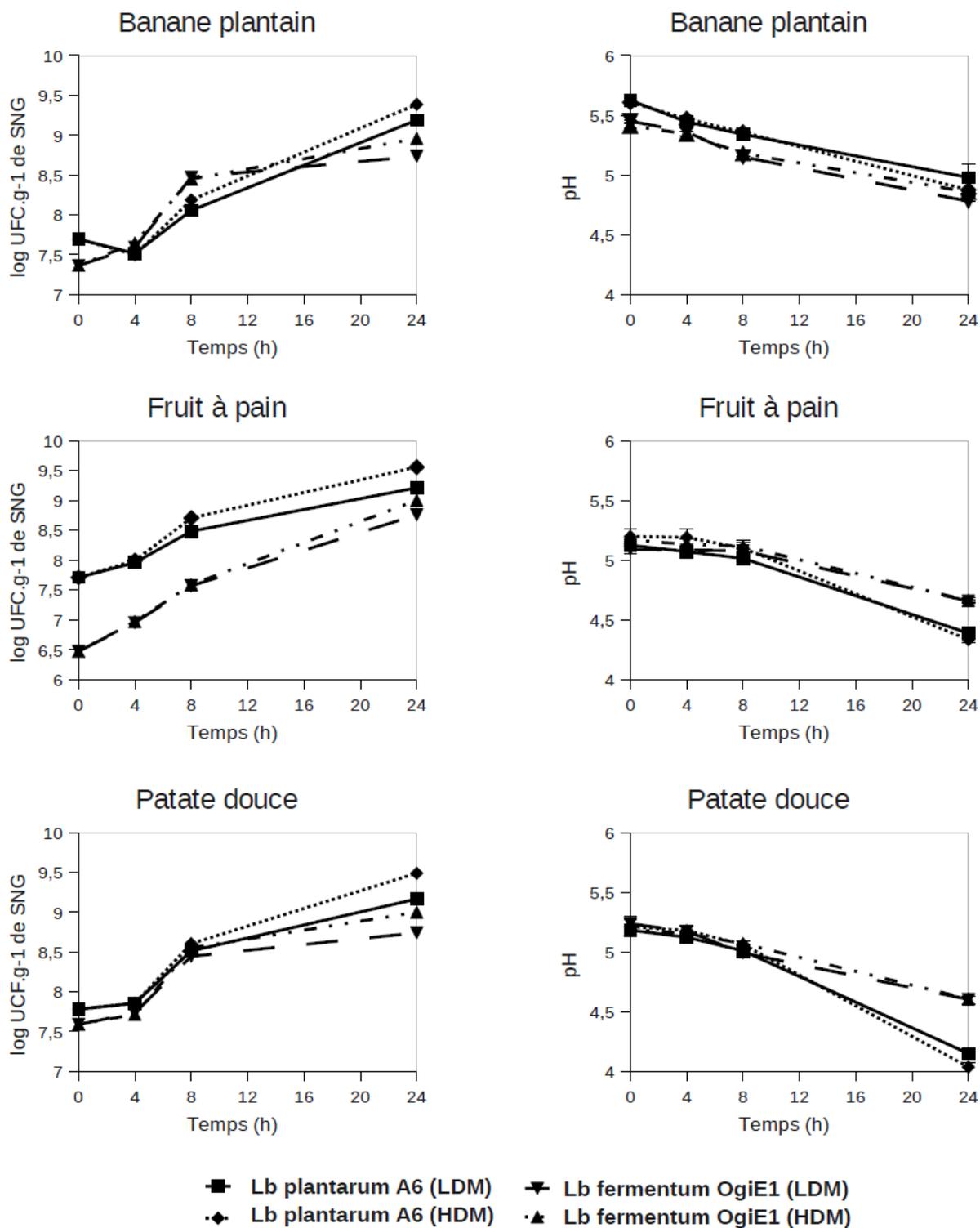


Figure 3.2: Croissance bactérienne et évolution du pH pendant la fermentation de suspensions de farines de banane plantain, fruit à pain et patate douce par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1

2 Dosage des produits de fermentation

Lors de la fermentation des SNG de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par *Lb plantarum* A6, des productions d'acétate (pour la banane plantain uniquement) et de lactate sont observées (Figure 3.3). Pour *Lb fermentum* OgiE1, du mannitol est produit en plus de ces métabolites (Figure 3.3). Pour les deux souches, aucune production d'éthanol n'a été détectée. Toutefois, des différences existent entre les deux souches. Ainsi, le maximum d'acétate et de lactate a été obtenu lors de la fermentation de SNG de banane plantain HDM pour *Lb plantarum* A6. Par ailleurs, en comparant les deux souches, la production de lactate est plus importante pour *Lb plantarum* A6 quelque soit l'amylacée. Pour les deux souches de BLA, les productions d'acétate et de lactate (et de mannitol pour *Lb fermentum* OgiE1) sont plus importantes pour les High DM. Peu de différences sont mises en évidence lors de la fermentation de la banane plantain, du fruit à pain et de la patate douce pour *Lb fermentum* OgiE1 quelle que soit la teneur en matière sèche. A l'opposé pour *Lb plantarum* A6 les concentrations en lactate pour les SNG à forte teneur en matière sèche varient ainsi : banane plantain > patate douce > fruit à pain, alors que peu de différences sont observées pour les SNG à plus faible teneur en matière sèche.

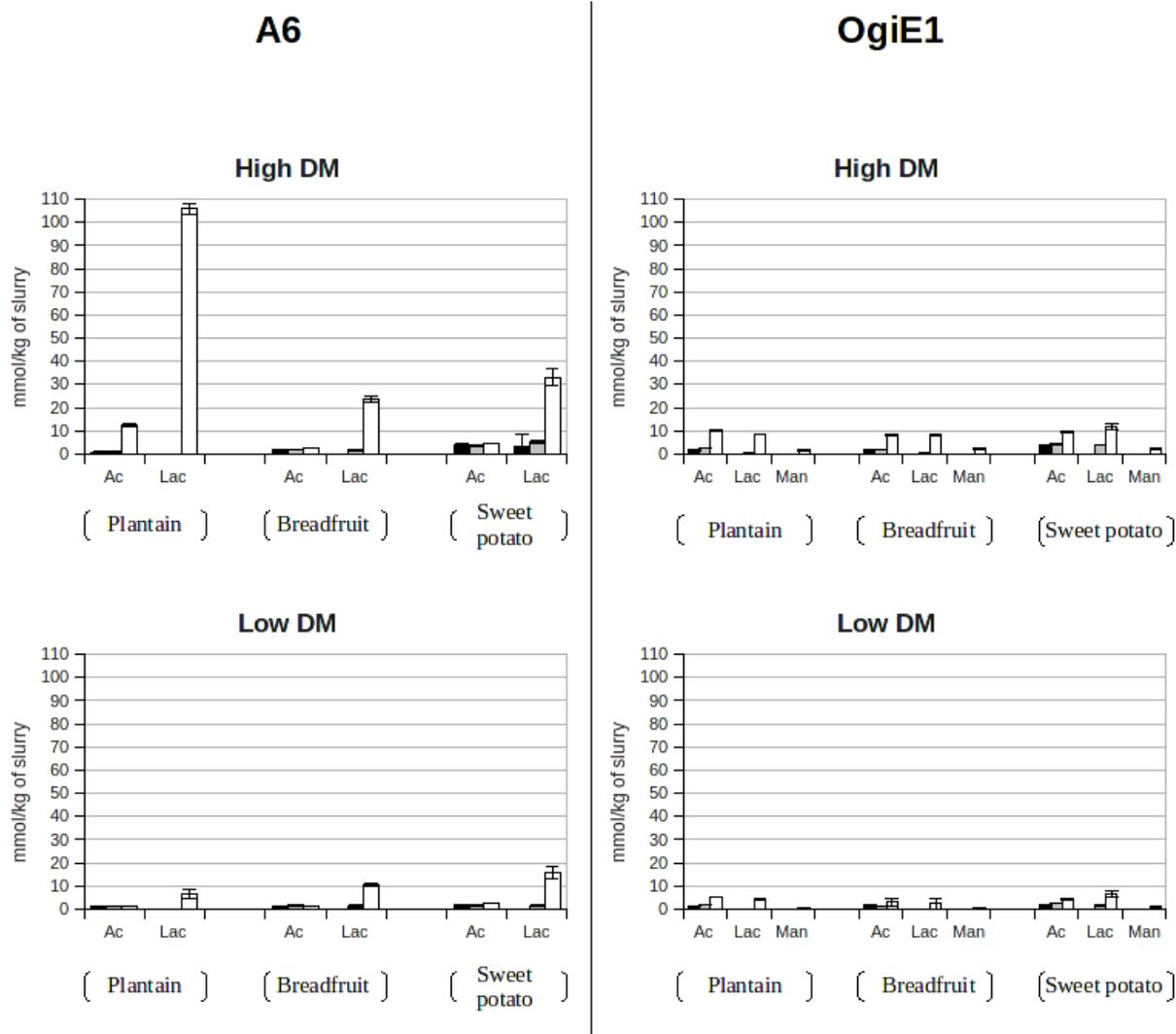


Figure 3.3: Production d'acétate, de lactate et de mannitol pendant la fermentation de suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 à 0 (■), 8 (▒) et 24 h (□)

3 Dosage des sucres

Avant fermentation, les concentrations en glucose et fructose sont équivalentes pour la banane plantain, le fruit à pain et la patate douce (Figure 3.4). Le maltose n'est détecté que pour la patate douce, mais en faible quantité. Le saccharose est présent en quantité plus importantes dans les farines de patate douce que dans les autres farines.

Pendant la fermentation de la banane plantain par *Lb plantarum* A6, on observe une production de glucose et de fructose pour les bouillies à valeur élevée de matière sèche (High DM), alors qu'à faible valeur de matière sèche (Low DM). Pour *Lb fermentum* OgiE1, seule une légère diminution du glucose est observée. Cependant, hormis lors de la fermentation de

la suspension de plantain à forte teneur en matière sèche, les variations en oses, dont les concentrations initiales sont très faibles à l'exception du saccharose pour la patate douce, sont minimes et généralement non significatives.

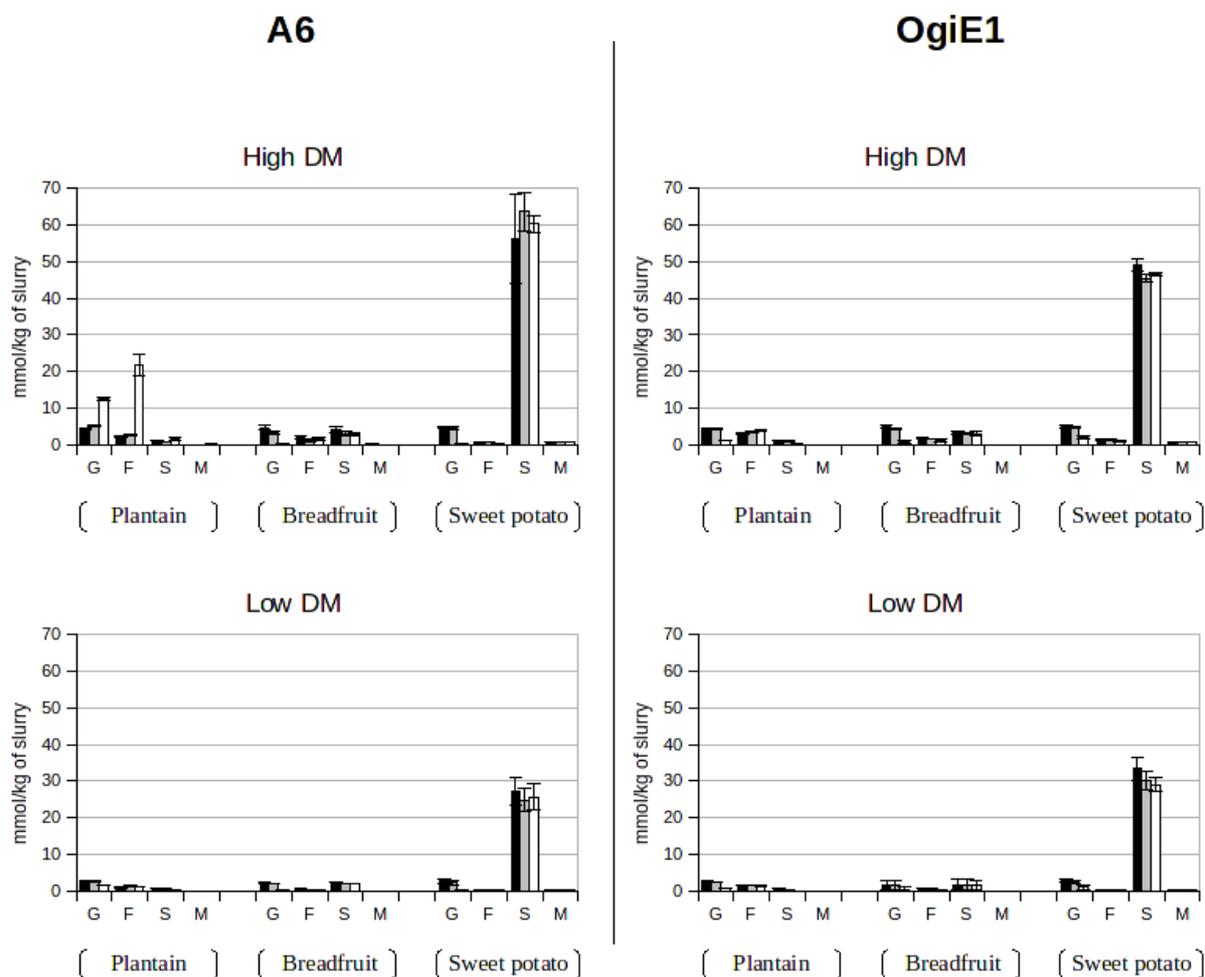


Figure 3.4: Evolution des mono (G : Glucose; F : Fructose) et des disaccharides (S : Saccharose; M : Maltose) après 0 (■), 8 (▒) et 24 h(□) de fermentation par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 de suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce

Lors de la fermentation des SNG par *Lb plantarum* A6, une production de maltotriose (G3), de maltotétraose (G4) sont observées. Pour *Lb fermentum* OgiE1, seule une production de maltotriose (G3) est observée pour le fruit à pain et la patate douce uniquement (Figure 3.5).

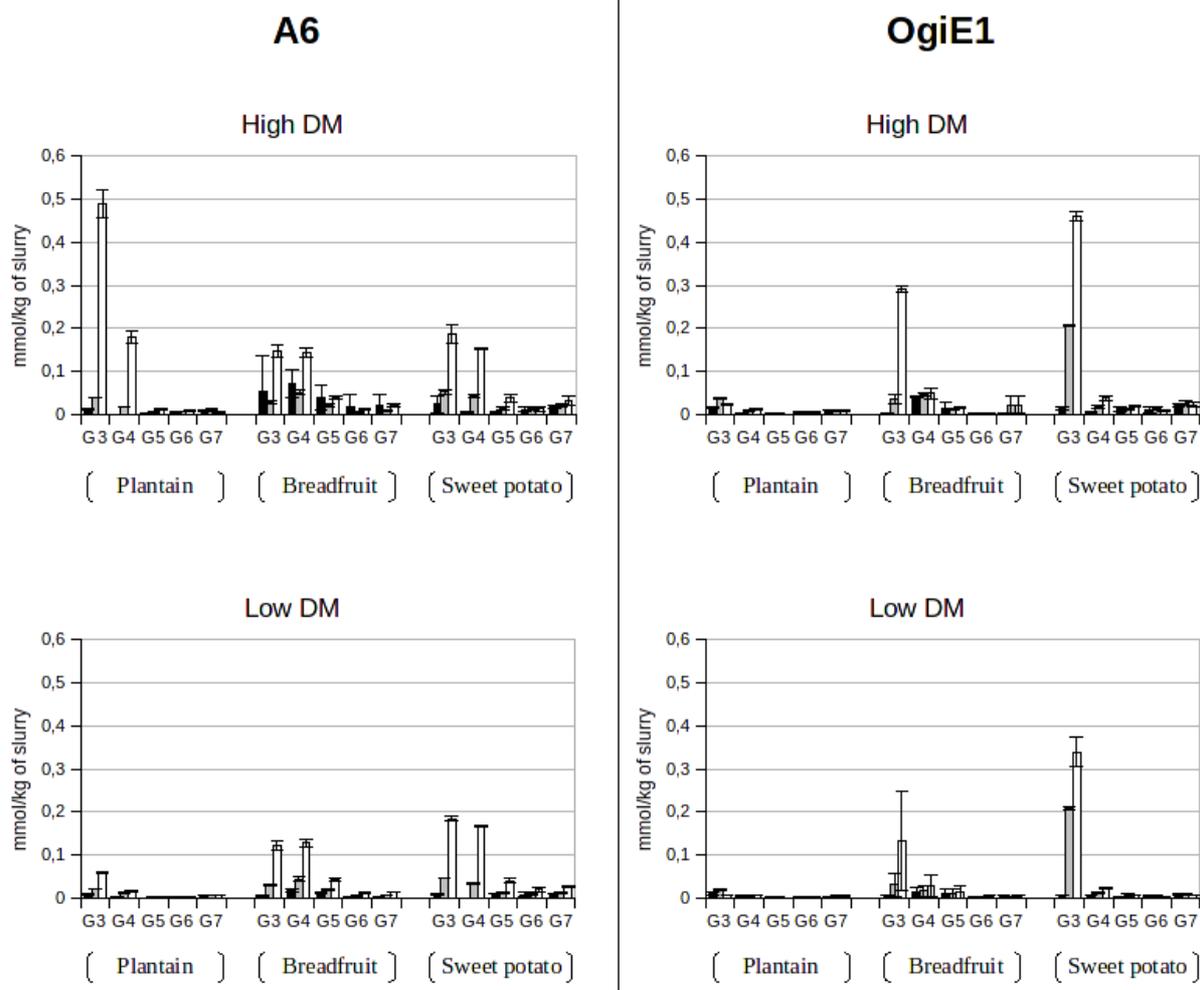


Figure 3.5: Production de maltodextrines (G3 : Maltotriose; G4 : Maltotétraose; G5 : Maltopentaose; G6 : Maltohexaose; G7 : Maltoheptaose) pendant la fermentation de suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 après 0 (■), 8 (◐) et 24 h (◑) de fermentation

4 Mesures rhéologiques

Les mesures rhéologiques et de consistance ont été réalisées après cuisson de suspensions crues prélevées en début et en fin de fermentation.

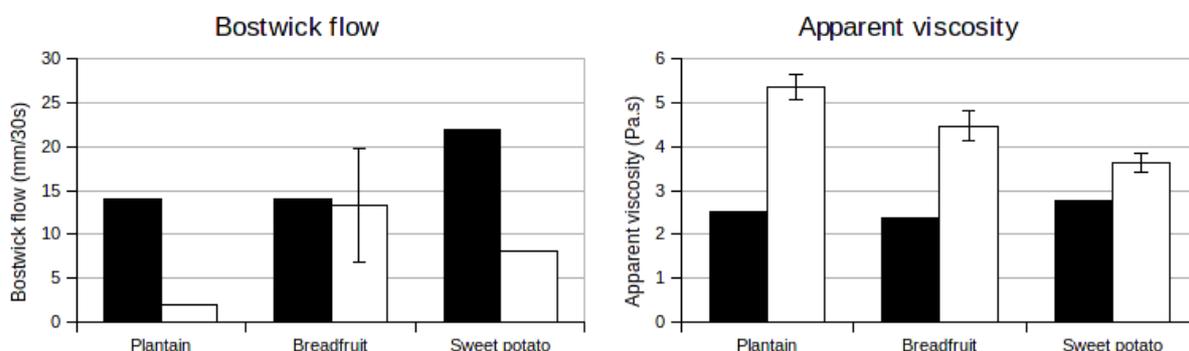
4.1 *Lactobacillus plantarum* A6

Pour toutes les suspensions à faible teneur en matière sèche, on observe une augmentation de la viscosité apparente et une diminution de l'écoulement Bostwick à l'exception du fruit à pain pour lequel aucune diminution n'est observée (Figure 3.6).

A teneur élevée en matière sèche, une légère diminution de la consistance se produit pour le banane plantain et le fruit à pain uniquement, alors que pour la patate douce aucune différence significative n'est observée. La viscosité avant et après fermentation n'a pu être mesurée, les suspensions fermentées ou non puis gélatinées étaient très compactes et collantes.

A6

Low DM



High DM

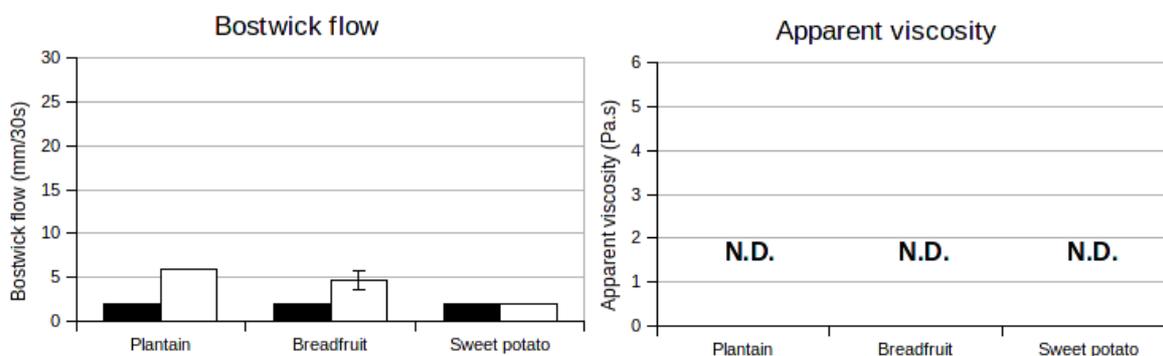


Figure 3.6: Propriétés rhéologiques avant (■) et après 24 h(□) de fermentation des suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce par *Lb plantarum* A6

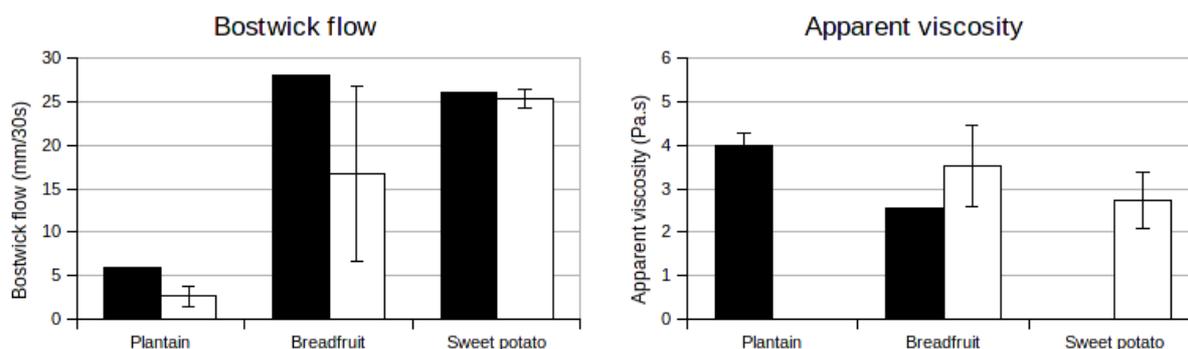
4.2 *Lactobacillus fermentum* OgiE1

Après fermentation des suspensions à faible teneur en matière sèche, une augmentation de la consistance et la viscosité sont observées pour la banane plantain et le fruit à pain. Pour la patate douce, il n'y a pas de différence significative de consistance bien qu'une diminution de la viscosité soit observée (Figure 3.7).

A teneur élevée en matière sèche, aucune variation significative de la consistance n'a été révélée pour les trois matières premières, et les viscosités avant et après fermentation n'ont pu être mesurées du fait de la grande compacité des suspensions après cuisson.

OgiE1

Low DM



High DM

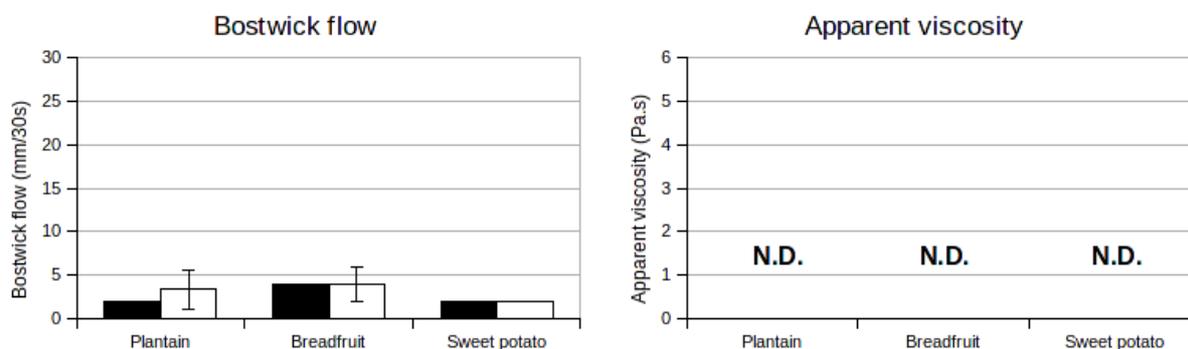


Figure 3.7: Propriétés rhéologiques avant (■) et après 24 h (□) de fermentation des suspensions de farine de banane plantain, fruit à pain et patate douce par *Lb fermentum* OgiE1

Discussion¹

Lb plantarum A6 et *Lb fermentum* OgiE1 ont montré une aptitude à se développer dans des suspensions de farine de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce. Les valeurs de pH observées lors de la fermentation de suspensions non gélatinisées de farines de fruit à pain ou de patate douce par *Lb plantarum* sont similaires à celles obtenues avec les suspensions

¹ Nous signalons que cette discussion s'appuie aussi sur les résultats obtenus sur la fermentation des suspensions gélatinisées ayant fait l'objet des deux articles présentés dans ce mémoire

gélatinisées avant fermentation, c'est-à-dire inférieures ou égales à 4,5, qui est une valeur limitant le développement des bactéries pathogènes (Nout et al., 1989), alors que la diminution de pH observée avec la souche *Lb fermentum* OgiE1 est moindre.

Les acidifications des suspensions sont principalement dues au lactate pour la souche *Lb plantarum* A6, et à l'acétate et au lactate pour *Lb fermentum* OgiE1 qui ne produit pas d'éthanol dans ces conditions. A l'instar de ce qui a été observé avec les suspensions gélatinisées avant fermentation, l'absence de consommation apparente des mono- et diholosides et la production des métabolites attendues témoignent de l'utilisation d'un autre substrat, en l'occurrence l'amidon. Cette hydrolyse de l'amidon est corroborée par la production de maltodextrines au cours de la fermentation des différentes matières premières, exception faite de la fermentation de la banane plantain par *Lb fermentum* OgiE1. Toutefois, de manière surprenante et contrairement aux observations réalisées avec les suspensions gélatinisées avant fermentation, ces observations ne sont pas confirmées par les résultats de rhéologie. En effet, alors qu'une diminution de la viscosité et de la consistance sont attendus en raison de l'hydrolyse de l'amidon, il se produit au contraire soit une stagnation soit une augmentation de ces deux paramètres. Une explication possible serait liée à la production d'exopolysaccharides par certaines bactéries lactiques, mais cela reste fort peu probable car il faut en général des conditions particulières pour observer une telle production (e.g. forte teneur en saccharose). Une autre explication reposerait sur les conditions de gélatinisation qui, bien qu'étant réalisées dans des conditions très strictes, auraient pu ne pas respecter les couples temps/température nécessaires, à une teneur élevée et dans un état donné de l'amidon (non partiellement hydrolysé), pour réaliser une gélatinisation complète après fermentation.

Conclusion

La fermentation de suspensions non gélatinisées de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 est possible. Cependant elle n'aboutit pas à des produits qui après cuisson présenteraient une consistance moins compacte, contrairement à ce que nous observons avec des suspensions fermentées après gélatinisation. Ceci témoigne d'une hydrolyse peu poussée de l'amidon sous sa forme granulaire, mais toutefois suffisante pour permettre une croissance et une acidification notables. La cuisson de ces suspensions étant de toute façon nécessaire pour rendre consommable ces produits, il est donc souhaitable que la fermentation ait lieu sur des suspensions préalablement gélatinisées, comme nous le montrons dans les deux articles soumis pour publication.

Discussion générale

Les croissances bactériennes sont identiques pour les SNG (suspensions non gélatinisées) et les SG (suspensions gélatinisées) quelque soit la matière première et les concentrations bactériennes atteignent des niveaux élevés. Les valeurs de pH les plus basses ont été obtenues lors de la fermentation de la patate douce, et les plus élevées pour la banane plantain. Dans le cas des SG une telle croissance associée à une diminution de pH n'est à première vue pas surprenante en raison de l'accessibilité des enzymes amylolytiques à l'amidon améliorée par la gélatinisation. En revanche, dans le cas des SNG il est intéressant d'observer qu'en dépit d'une faible accessibilité de l'amidon et d'une quasi absence (ou très faible) de consommation des mono- et diholosides disponibles, cette croissance ce soit effectuée à un niveau équivalent à celle des SG, suggérant que la croissance n'est pas limitée par la disponibilité en substrat (SG vs SNG), donc par l'hydrolyse de l'amidon. Par contre, les effets de l'hydrolyse de l'amidon sur la consistance des produits seront différents selon que les suspensions seront gélatinisées ou non. D'un point de vue d'écologie microbienne, il convient de remarquer que fort souvent les produits fermentés traditionnels à base d'amylacées, que ce soit des céréales ou des racines et tubercules pour les fermentations les plus courantes, se réalisent à partir de pâtes ou de suspensions plus ou moins diluées non gélatinisées, et qu'en dépit de ceci les niveaux de croissance atteignent des seuils compris entre 7 et 10 log UFC/ml ou (par g) avec une grande diversité microbienne. Le fait d'avoir observé une croissance bactérienne importante sur nos matières premières non gélatinisées supporte tout à fait l'hypothèse que les amidons natifs dans ces matrices, fort souvent limitées en substrats aisément fermentescibles (mono-, diholosides), permettent l'élaboration d'un microbiote constitué d'une grande diversité de bactéries lactiques et de levures et qui dépendrait de la capacité de certains microorganismes à mobiliser la fraction amylacée. Conformément à cette hypothèse, il n'est pas non plus surprenant que pour l'ensemble des aliments fermentés amylacés tropicaux étudiés jusqu'à présent, et à chaque fois qu'elles ont été recherchées, des bactéries lactiques amylolytiques soient présentes à des taux de l'ordre de 10 à 14% par rapport à la population totale. Par ailleurs, en règle générale, les concentrations en mono et diholosides sont très faibles et il n'est donc pas surprenant que la fraction amidon soit mobilisée, cependant dans le cas de la patate douce la concentration en saccharose peut varier de 5 à 11g /kg de suspension avec une consommation faible à presque nulle en fin de fermentation. Il convient d'une part de s'interroger sur les causes qui limitent ou inhibent cette consommation de saccharose, alors que les souches employées sont capables d'utiliser ce substrat et, d'autre part, de s'interroger sur le mécanisme qui conduit à l'expression du gène codant pour l' α -amylase chez *Lb plantarum* A6, alors qu'il est connu que la synthèse de cette enzyme par la souche A6 est

réprimée à ces concentrations en saccharose (ce qui n'est pas le cas pour *Lb fermentum* OgiE1). Nous pourrions chercher à imaginer des mécanismes pouvant être moléculaires mais sans entrer dans des hypothèses élaborées, d'une manière plus simple, nous pourrions aussi imaginer une localisation ou une répartition physique non homogène du saccharose au sein de la matrice, permettant à la bactérie, dans certaines zones moins abondantes en ce substrat, de synthétiser son enzyme.

L'hydrolyse de l'amidon est corroborée par l'observation de la production de maltodextrines, en particulier pour les SG dont l'accumulation en maltodextrines est généralement plus importante que pour les SNG dans le cas de la souche OgiE1, alors que pour la souche A6 elle est faible et équivalente entre les SG et SNG. *Lb plantarum* A6 produit majoritairement du maltotriose et du maltotétraose. Cette formation de G3 et G4 par la souche A6 semble être un caractère propre à son α -amylase quelle que soit la matière première et a été précédemment rapportée pour des fermentations de mélanges de mil avec de l'arachide ou du soja. Pour *Lb fermentum* OgiE1, on observe essentiellement une production de maltotriose qui est au moins dix fois supérieure à celles observée avec *Lb plantarum* A6, ce qui suggère un mécanisme d'hydrolyse de l'amidon différent entre les deux souches.

Quant à la formation de produit de fermentation, pour la souche A6 elle est conforme à ce qui était attendu pour une souche dont le métabolisme est de type homolactique en présence des substrats disponibles. Pour la souche OgiE1, hétérolactique, la co-production d'acides lactique et acétique traduit le fait qu'un autre accepteur d'électron ait dévié de la formation d'éthanol le flux d'électrons (via la réoxydation des NADH, H⁺) en faveur de la formation d'acide acétique : schéma tout à fait classique et déjà rapporté par divers auteurs et qui se vérifie par la présence de mannitol issu de la réduction du fructose (libre ou provenant du saccharose). Cependant, étant donné que nous n'observons une quasi absence ou une très faible consommation de fructose et de saccharose libres dans la suspension, on peut s'interroger sur d'autres sources, et se pose ainsi la question de l'utilisation d'autres composés qui pourraient contenir cette molécule, comme des fructo-oligosaccharides, piste qui demanderait à être explorée. Hormis cette interrogation, la production conjointe d'acides lactique et acétique confère potentiellement aux produits un bénéfice en termes de préservation contre les microorganismes pathogènes, sachant l'effet synergétique de ces deux composés sur l'inhibition à pH inférieur ou égal à 4,5 de bactéries pathogènes. La production de mannitol, agent édulcorant naturel, est un avantage additionnel qui pourrait vraisemblablement être favorisé par l'ajout de fructose au milieu. A la vue de ces deux

aspects, l'utilisation de la souche OgiE1 présenterait un certain avantage sur celle de la souche A6.

Pour résumer l'ensemble de ces résultats, ces observations montrent que ces matières premières peuvent être fermentées via l'hydrolyse de l'amidon. Plus particulièrement, en ce qui concerne la banane plantain, une hydrolyse des amidons de banane plantain, crus et gélatinisés, après fermentation par les deux bactéries lactiques amylolytiques est donc possible, alors que de précédents travaux avaient montré la grande résistance de ces amidons aux actions enzymatiques (Zhang et al., 2005). Ces constatations peuvent également être faites pour le fruit à pain et la patate douce.

Une augmentation de l'écoulement Bostwick est observée pour toutes les SG à faible teneur en matière sèche (à l'exception de la patate douce après fermentation par *Lb fermentum* OgiE1) après fermentation par les deux souches, la consistance des produits étant proche de celle d'un yaourt brassé alors que pour les SNG l'hydrolyse de l'amidon par les deux souches n'a pas produit de diminution de la vitesse d'écoulement, le produit restant très compact.

Pour la viscosité apparente, alors qu'une diminution se produit pour toutes les SG, une augmentation est observée pour toutes les SNG à faible teneur en matière sèche à l'exception de la patate douce après fermentation par *Lb fermentum* OgiE1. Pour les SNG à haute teneur en matière sèche, les valeurs de viscosité n'ont pu être obtenues car, après la gélatinisation, celles-ci étaient très collantes et très compactes.

Les résultats de digestibilité indiquent que les fermentations de SG de fruit à pain et de patate douce par les deux souches pourraient servir de base pour la mise au point de nouveaux aliments fermentés aux propriétés prébiotiques en raison de l'accroissement de la teneur en amidon résistant à l'issue de la fermentation. Toutefois, les mesures de digestibilité des SNG fermentés puis cuits comparées aux SNG non fermentés cuits et aux SG fermentées seraient intéressantes de manière à mieux comprendre l'incidence de ces fermentations sur les différentes fractions d'amidon quand celui-ci est attaqué sous sa forme native. Toutes les données recueillies au cours de ce travail de recherche montrent que l'utilisation de la fermentation lactique de farines de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce afin d'élaborer de nouveaux produits fermentés est possible. Les deux souches employées se distinguent essentiellement par leurs métabolites et cela ne serait pas sans incidence sur les caractéristiques sensorielles des produits. Le choix se déterminera essentiellement en fonction de la matière première et des caractéristiques finales recherchées. Par exemple la patate douce se distinguera des autres matières premières par une forte concentration en saccharose maintenue après la fermentation, alors que la SG fermentée à base de fruit à pain présentera

une consistance plus fluide (à faible teneur en matière sèche) que les autres suspensions, et que celle-ci ainsi que celle à base de patate douce présenteront une meilleure teneur en amidon résistant et une moindre digestibilité que la SG fermentée de banane plantain. Il restera aussi à définir la « typologie » du consommateur que ces produits pourraient prétendre atteindre, soit des populations présentant des besoins nutritionnels particuliers (par exemple, personnes âgées, lacto-intolérants, etc), soit des usages plus larges : boisson fermentée agréable au goût pour, par exemple le goûter des enfants, à conditions que les dangers potentiels présentés par ce genre de produit soient bien évalués en terme d'apport énergétique pour des populations qui pourraient souffrir de déséquilibre nutritionnels ou de syndromes particuliers (diabète, obésité, etc).

Outre ces aspects, nous avons conscience que de nombreux travaux restent à réaliser.

Tout d'abord des études sensorielles sur l'acceptabilité de ces produits fermentés par la population locale seraient intéressantes, en particulier sur le type de produits préférés (boisson, yaourt-like...) et l'acceptabilité sensorielle. Un élargissement général à la population métropolitaine serait également à rechercher, afin d'augmenter les débouchés possibles.

Une étude de la survie bactérienne au cours de la digestion, ainsi que d'une éventuelle implantation au sein du microbiote intestinal, serait intéressante. L'utilisation d'un appareil digestif humain artificiel comme celui développé par l'équipe ERT CIDAM de la faculté de pharmacie de Clermont-Ferrand pourrait être envisagée afin d'étudier le devenir des amidons résistants après fermentation des SG et des SNG.

Les farines de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce étant pauvres en protéines et en lipides, un ajout de ces éléments, ainsi qu'une fortification en vitamines et en sels minéraux seraient envisageable, de même que l'ajout d'arômes.

Une autre étude qui pourrait être intéressante à réaliser serait la fermentation des différentes matières premières par les deux souches associées, la production de mannitol par *Lb fermentum* OgiE1 et la capacité de *Lb plantarum* A6 à modifier les propriétés rhéologiques pouvant être très intéressantes (en plus des productions d'acide acétique et d'acide lactique). En complément, il est possible d'envisager une fermentation d'une combinaison de ces amyliacées (banane + fruit à pain, par exemple) avec une ou les deux souches.

Conclusion générale

La fermentation lactique des suspensions gélatinisées ou non de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce par *Lactobacillus plantarum* A6 et *Lactobacillus fermentum* OgiE1 est réalisable. Toutefois, les fermentations des suspensions gélatinisées semblent plus prometteuses dans l'optique de développer de nouveaux produits fermentés avec des propriétés prébiotiques, en particulier dans le cas du fruit à pain et de la patate douce.

La capacité des deux souches à modifier les propriétés rhéologiques des suspensions gélatinisées en les rendant « buvables » est intéressante dans l'optique de la mise au point de produits fermentés buvables ou de yaourt-like.

Des études plus approfondies des effets des différents produits de fermentation, en particulier du mannitol, et du devenir des différentes fractions d'amidon au cours de la digestion seraient intéressantes, en utilisant un système digestif humain artificiel par exemple.

Les farines de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce étant pauvres en protéines et en lipides, il serait envisageable d'enrichir les suspensions gélatinisées avec des compléments, en début ou en fin de fermentation. Dans le cas d'un ajout en début de fermentation, il serait intéressant d'étudier les différents paramètres rhéologiques et métaboliques observés lors de notre étude, et de les comparer aux résultats présentés ici.

Une étude sensorielle serait à envisager afin de déterminer le niveau d'acceptabilité de ces suspensions gélatinisées, ou des nouveaux produits fermentés qui peuvent en résulter.

Cette fermentation lactique amylolytique pourrait s'appliquer à d'autres amylacées comme l'igname, par exemple. De plus, si nous avons utilisé *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1, il serait pertinent de comparer nos résultats à ceux que l'on obtiendrait avec une souche comme *Lb manihotivorans*. Une fermentation par combinaison de différentes souches de bactéries lactiques amylolytiques pourrait être envisagée, ainsi qu'une combinaison avec une souche non amylolytique.

La fermentation lactique de plantes amylacées s'avère être un procédé très prometteur afin de développer de nouveaux produits fermentés de meilleure valeur ajoutée, pouvant être fabriqués à faible coût. Nos travaux peuvent constituer un point de départ pour approfondir ce sujet qui n'en est qu'à ses balbutiements.

Références bibliographiques

Aarathi A., Urooj A., Puttaraj S., 2003. *In vitro* Starch Digestibility and Nutritionally Important Starch Fractions in Cereals and Their Mixtures. *Starch - Starke* 55, 94-99.

Adebayo S.A., Brown-Myrie E., Itiola O.A., 2008. Comparative disintegrant activities of breadfruit starch and official corn starch. *Powder Technology* 181, 98-103.

Adebowale K.O., Olu-Owolabi B.I., Olawumi E.K., Lawal O.S., 2005. Functional properties of native, physically and chemically modified breadfruit (*Artocarpus artilis*) starch. *Industrial Crops and Products* 21, 343-351.

Agati V., Guyot J.P., Morlon-Guyot J., Talamond P., Hounhouigan D., 1998. Isolation and Characterization of New Amylolytic Strains of *Lactobacillus Fermentum* from Fermented Maize Doughs (mawe and Ogi) from Benin. *Journal of Applied Microbiology* 85, 512-520.

Aguilar G., Morlon-Guyot J., Trejo-Aguilar B., Guyot J.P., 2000. Purification and characterization of an extracellular [alpha]-amylase produced by *Lactobacillus manihotivorans* LMG 18010T, an amylolytic lactic acid bacterium. *Enzyme and Microbial Technology* 27, 406-413.

Ahmed F., Urooj A., 2008. *In vitro* Starch Digestibility and Nutritionally Important Starch Fractions in Processed Roots and Tubers. *Starch - Starke* 60, 493-499.

Aina A.J., Falade K.O., Akingbala J.O., Titus P., 2009. Physicochemical properties of twenty-one Caribbean sweet potato cultivars. *International Journal of Food Science & Technology* 44, 1696-1704.

Akanbi T., Nazamid S., Adebowale A., 2009. Functional and pasting properties of a tropical breadfruit (*Artocarpus altilis*) starch from Ile-Ife, Osun state, Nigeria. *Int. Food Res. J.* 16, 151-157.

Akubor P.I., 2005. Production and quality evaluation of a nonfermented beverage prepared from dehydrated plantain pulp. *European Food Research and Technology* 220, 152-155.

Akubor P.I., Obio S.O., Nwodomere K.A., Obiomah E., 2003. Production and quality evaluation of banana wine. *Plant Foods for Human Nutrition* 58, 1-6.

Akubor P., Adejo E., 2000. Physicochemical, microbiological and sensory changes in stored plantain chips. *Plant Foods for Human Nutrition* 55, 139-146.

Ampe F., Sirvent A., Zakhia N., 2001. Dynamics of the microbial community responsible for traditional sour cassava starch fermentation studied by denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative rRNA hybridization. *International Journal of Food Microbiology* 65, 45-54.

Ampe F., Miambi E., 2000. Cluster analysis, richness and biodiversity indexes derived from denaturing gradient gel electrophoresis fingerprints of bacterial communities demonstrate that traditional maize fermentations are driven by the transformation process. *International Journal of Food Microbiology* 60, 91-97.

Aparicio-Saguilan A., Flores-Huicochea E., Tovar J., Garcia-Suarez F., Gutierrez-Meraz F., Bello-Perez L.A., 2005. Resistant Starch-rich Powders Prepared by Autoclaving of Native and Lintnerized Banana Starch: Partial Characterization. *Starch - Starke* 57, 405-412.

Atchley J., Cox P.A., 1985. Breadfruit Fermentation in Micronesia. *Economic Botany* 39, 326-335.

Aurore G., Parfait B., Fahrasmane L., 2009. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Science & Technology* 20, 78-91.

Bello-Perez L.A., Leon Y.P.D., Agama-Acevedo E., Paredes-Lopez O., 1998. Isolation and Partial Characterization of Amaranth and Banana Starches. *Starch - Starke* 50, 409-413.

Bello-Perez L.A., Agama-Acevedo E., Sanchez-Hernandez L., Paredes-Lopez O., 1999. Isolation and Partial Characterization of Banana Starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 854-857.

Bello-Pérez L.A., Sayago-Ayerdi S.G., Méndez-Montealvo, Tovar J., 2004. In Vitro Digestibility of Banana Starch Cookies. *Plant Foods for Human Nutrition* 59, 79-83.

Bello-Perez L.A., Agama-Acevedo E., Sayago-Ayerdi S.G., Moreno-Damian E., Figueroa J.D.C., 2000. Some Structural, Physicochemical and Functional Studies of Banana Starches Isolated from two Varieties Growing in Guerrero, Mexico. *Starch - Starke* 52, 68-73.

Blandino A., Al-Aseeri M.E., Pandiella S.S., Cantero D., Webb C., 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International* 36, 527-543.

Bravo L., N. Englyst H., J. Hudson G., 1998. Nutritional evaluation of carbohydrates in the Spanish diet: Non-starch polysaccharides and in vitro starch digestibility of breads and breakfast products. *Food Research International* 31, 129-135.

Bressani R., Navarrete D.A., Elias L.G., 1984. The nutritional value of diets based on starchy foods and common beans. *Plant Foods for Human Nutrition* 34, 109-115.

Brouns F., Kettlitz B., Arrigoni E., 2002. Resistant starch and "the butyrate revolution". *Trends in Food Science & Technology* 13, 251-261.

Calderon M., Loiseau G., Guyot J.P., 2003. Fermentation by *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 of different combinations of carbohydrates occurring naturally in cereals: consequences on growth energetics and [alpha]-amylase production. *International Journal of Food Microbiology* 80, 161-169.

Calderon M., Loiseau G., Guyot J., 2001. Nutritional requirements and simplified cultivation medium to study growth and energetics of a sourdough lactic acid bacterium *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 during heterolactic fermentation of starch. *Journal of Applied Microbiology* 90, 508-516.

Calderon Santoyo M., Loiseau G., Rodriguez Sanoja R., Guyot J.P., 2003. Study of starch fermentation at low pH by *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 reveals uncoupling between growth and [alpha]-amylase production at pH 4.0. *International Journal of Food Microbiology* 80, 77-87.

Caplice E., Fitzgerald G.F., 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology* 50, 131-149.

Collado L., Mabesa R., Corke H., 1999. Genetic Variation in the Physical Properties of Sweet Potato Starch. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4195-4201.

Coulibaly S., Nemlin J.G., Amani G.N., 2006. Isolation and Partial Characterisation of Native Starches of new Banana and Plantain Hybrids (*Musa* spp.) in Comparison with that of Plantain Variety Orishele. *Starch - Starke* 58, 360-370.

Cummings J., Englyst H., 1995. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. *American Journal of Clinical Nutrition* 61, 938S-945.

Cummings J.H., Beatty E.R., Kingman S.M., Bingham S.A., Englyst H.N., 1996. Digestion and Physiological Properties of Resistant Starch in the Human Large Bowel. *British Journal of Nutrition* 75, 733-747.

Dan Ramdath D., Isaacs R.L.C., Teelucksingh S., Wolever T.M.S., 2004. Glycaemic Index of Selected Staples Commonly Eaten in the Caribbean and the Effects of Boiling V. Crushing. *British Journal of Nutrition* 91, 971-977.

Davidson P., 1997. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. *Food Microbiology* In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.).

Diaz-Ruiz G., Guyot J.P., Ruiz-Teran F., Morlon-Guyot J., Wachter C., 2003. Microbial and Physiological Characterization of Weakly Amylolytic but Fast-Growing Lactic Acid Bacteria: a Functional Role in Supporting Microbial Diversity in Pozol, a Mexican Fermented Maize Beverage. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 4367-4374.

Eggleston G., Swennen R., Akoni S., 1992. Physicochemical Studies on Starches Isolated from Plantain Cultivars, Plantain Hybrids and Cooking Bananas. *Starch - Stärke* 44, 121-128.

Englyst H.N., Veenstra J., Hudson G.J., 1996. Measurement of Rapidly Available Glucose (RAG) in Plant Foods: A Potential in Vitro Predictor of the Glycaemic Response. *British Journal of Nutrition* 75, 327-337.

Englyst H.N., Hudson G.J., 1996. The classification and measurement of dietary carbohydrates. *Food Chemistry* 57, 15-21.

Englyst H., Cummings J., 1986. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *American Journal of Clinical Nutrition* 44, 42-50.

Englyst K.N., Englyst H.N., Hudson G.J., Cole T.J., Cummings J.H., 1999. Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. *American Journal of Clinical Nutrition* 69, 448-454.

Espinosa-Solis V., Jane J., Bello-Perez L.A., 2009. Physicochemical Characteristics of Starches from Unripe Fruits of Mango and Banana. *Starch - Starke* 61, 291-299.

Faisant N., Buleon A., Colonna P., Molis C., Lartigue S., Galmiche J., Champ M., 1995. Digestion of Raw Banana Starch in the Small Intestine of Healthy Humans: Structural Features of Resistant Starch. *British Journal of Nutrition* 73, 111-123.

Fitzsimons A., Hols P., Jore J., Leer R.J., O'Connell M., Delcour J., 1994. Development of an amylolytic *Lactobacillus plantarum* silage strain expressing the *Lactobacillus amylovorus* alpha-amylase gene. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 3529-3535.

Florêncio, Eiras-Stofella, Soccol, Raimbault, Guyot, Fontana, 2000. *Lactobacillus plantarum* amylase acting on crude starch granules. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 84-86, 721-730.

Gallant D.J., Bouchet B., Baldwin P.M., 1997. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers* 32, 177-191.

Giraud E., Gosselin L., Marin B., Parada J., Raimbault M., 1993. Purification and characterization of an extracellular amylase from *Lactobacillus plantarum* strain A6. *Journal of Applied Microbiology* 75, 276-282.

Giraud E., Brauman A., Keleke S., Lelong B., Raimbault M., 1991. Isolation and physiological study of an amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 36, 379-383.

Giraud E., Champailier A., Raimbault M., 1994. Degradation of Raw Starch by a Wild Amylolytic Strain of *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 4319-4323.

Giraud E., Cuny G., 1997. Molecular characterization of the [alpha]-amylase genes of *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus amylovorus* reveals an unusual 3' end structure with direct tandem repeats and suggests a common evolutionary origin. *Gene* 198, 149-157.

Guyot J.P., Morlon-Guyot J., 2001. Effect of different cultivation conditions on *Lactobacillus manihotivorans* OND32T, an amylolytic *lactobacillus* isolated from sour starch cassava fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 67, 217-225.

Hernandez O., Emaldi U., Tovar J., 2008. *In vitro* digestibility of edible films from various starch sources. Carbohydrate Polymers 71, 648-655.

Hoover R., 2001. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. Carbohydrate Polymers 45, 253-267.

Huang C., 2009. Physicochemical, pasting and thermal properties of tuber starches as modified by guar gum and locust bean gum. International Journal of Food Science & Technology 44, 50-57.

Huang C., Lai P., Chen I., Liu Y., Wang C., 2010. Effects of mucilage on the thermal and pasting properties of yam, taro, and sweet potato starches. LWT - Food Science and Technology 43, 849-855.

Icard-Vernière C., Mouquet-Rivier C., Rablat D., Moreau C., 2010. Occurrence of a 'very slowly digestible' starch fraction in different whole or dehulled cereal foods, dans: Dietary fibre: new frontiers for food and health Wageningen Academic Publishers. The Netherlands: Van der Kamp J, Jones J, McCleary B, Topping D Ed. pp. 351-362.

Ihaka R., Gentleman R., 1996. R: A Language for Data Analysis and Graphics. Journal of Computational and Graphical Statistics 5, 299-314.

Ishida H., Suzuno H., Sugiyama N., Innami S., Tadokoro T., Maekawa A., 2000. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks and stems of sweet potatoes (*Ipomoea batatas* *poir*). Food Chemistry 68, 359-367.

Iwe M., 1998. Effects of extrusion cooking on functional properties of mixtures of full-fat soy and sweet potato. Plant Foods for Human Nutrition 53, 37-46.

Jangchud K., Phimolsiripol Y., Haruthaithanasan V., 2003. Physicochemical Properties of Sweet Potato Flour and Starch as Affected by Blanching and Processing. Starch - Starke 55, 258-264.

Johansson M., Sanni A., Lonner C., Molin G., 1995. Phenotypically based taxonomy using API 50CH of *lactobacilli* from Nigerian ogi, and the occurrence of starch fermenting strains. International Journal of Food Microbiology 25, 159-168.

- Jyothi A.N., Wilson B., Moorthy S.N., George M., 2005.** Physicochemical properties of the starchy flour extracted from sweet potato tubers through lactic acid fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, 1558-1563.
- Lawal O.S., Ogundiran O.O., Awokoya K., Ogunkunle A., 2008.** The low-substituted propylene oxide etherified plantain (*Musa paradisiaca normalis*) starch: Characterization and functional parameters. *Carbohydrate Polymers* 74, 717-724.
- Lockwood, S., King, J., Labonte, D., 2008.** Altering Pasting Characteristics of Sweet Potato Starches through Amino Acid Additives. *Journal of Food Science* 73, C373-C377.
- Lu G., Huang H., Zhang D., 2006.** Prediction of sweetpotato starch physiochemical quality and pasting properties using near-infrared reflectance spectroscopy. *Food Chemistry* 94, 632-639.
- McCleary B.V., Charnock S.J., Rossiter P.C., O'Shea M.F., Power A.P., Lloyd R.M., 2006.** Measurement of carbohydrates in grain, feed and food. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 1648-1661.
- Millan-Testa C., Mendez-Montevalvo M., Ottenhof M., Farhat I., Bello-Perez L.A., 2005.** Determination of the Molecular and Structural Characteristics of Okenia, Mango, and Banana Starches. *J. Agric. Food Chem.* 53, 495-501.
- Moorthy S.N., 2002.** Physicochemical and Functional Properties of Tropical Tuber Starches: A Review. *Starch - Starke* 54, 559-592.
- Morishita Y., Shiromizu K., 1986.** Characterization of *lactobacilli* isolated from meats and meat products. *International Journal of Food Microbiology* 3, 19-29.
- Morlon-Guyot J., Mucciolo-Roux F., Rodriguez Sanoja R., Guyot, J.P., 2001.** Characterization of the *L. manihotivorans* alpha-amylase gene. *DNA Seq* 12, 27-37.
- Mota R.V.D., Lajolo F.M., Cordenunsi B.R., Ciacco C., 2000.** Composition and Functional Properties of Banana Flour from Different Varieties. *Starch - Starke* 52, 63-68.
- Mouquet C., Greffeuille V., Treche S., 2006.** Characterization of the consistency of gruels consumed by infants in developing countries: assessment of the Bostwick consistometer and

comparison with viscosity measurements and sensory perception. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 57, 459 - 469.

Mouquet C., Trèche S., 2001. Viscosity of gruels for infants: a comparison of measurement procedures. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 52, 389 - 400.

Newilah G.N., Tchango J.T., Fokou É., Etoa F., 2005. Processing and food uses of bananas and plantains in Cameroon. *Fruits* 60, 9.

Nguyen T.T.T., Guyot J.P., Icard-Verniere C., Rochette I., Loiseau G., 2007a. Effect of high pressure homogenisation on the capacity of *Lactobacillus plantarum* A6 to ferment rice/soybean slurries to prepare high energy density complementary food. *Food Chemistry* 102, 1288-1295.

Nguyen T.T.T., Loiseau G., Icard-Verniere C., Rochette I., Treche S., Guyot J.P., 2007b. Effect of fermentation by amylolytic lactic acid bacteria, in process combinations, on characteristics of rice/soybean slurries: A new method for preparing high energy density complementary foods for young children. *Food Chemistry* 100, 623-631.

Nnam N., Nwokocha M., 2003. Chemical and organoleptic evaluation of biscuits made from mixtures of hungry rice, acha (*Digitaria exilis*) sesame; (*Sesamum indicum*); and breadfruit (*Artocarpus atilis*) flours. *Plant Foods for Human Nutrition* 58, 1-11.

Noda T., Takigawa S., Matsuura-Endo C., Suzuki T., Hashimoto N., Kottearachchi N., Yamauchi H., Zaidul I., 2008. Factors affecting the digestibility of raw and gelatinized potato starches. *Food Chemistry* 110, 465-470.

Nout M.J.R., Rombouts F.M., Havelaar A., 1989. Effect of accelerated natural lactic fermentation of infant good ingredients on some pathogenic microorganisms. *International Journal of Food Microbiology* 8, 351-361.

Nunez-Santiago M.C., Bello-Perez L.A., Tecante A., 2004. Swelling-solubility characteristics, granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca*) starch. *Carbohydrate Polymers* 56, 65-75.

Nwokocha L.M., Williams P.A., 2009. Some properties of white and yellow plantain (*Musa paradisiaca*, *Normalis*) starches. *Carbohydrate Polymers* 76, 133-138.

Oladebeye A., Oshodi A., Oladebeye A., 2009. Physicochemical Properties of Starches of Sweet Potato (*Ipomea batatas*) and Red Cocoyam (*Colocasia esculenta*) Cormels. Pakistan J. of Nutrition 8, 313-315.

Olympia M., Fukuda H., Ono H., Kaneko Y., Takano M., 1995. Characterization of starch-hydrolyzing lactic acid bacteria isolated from a fermented fish and rice food, "burong isda", and its amylolytic enzyme. Journal of Fermentation and Bioengineering 80, 124-130.

Omobuwajo T.O., 2003. Compositional characteristics and sensory quality of biscuits, prawn crackers and fried chips produced from beadfruit. Innovative Food Science & Emerging Technologies 4, 219-225.

Oshodi A.A., Ipinmoroti K.O., Fagbemi T.N., 1999. Chemical composition, amino acid analysis and functional properties of breadnut (*Artocarpus altilis*) flour. Nahrung/Food 43, 402-405.

Osundahunsi O., Fagbemi T.N., Kesselman E., Shimoni E., 2003. Comparison of the Physicochemical Properties and Pasting Characteristics of Flour and Starch from Red and White Sweet Potato Cultivars. J. Agric. Food Chem. 51, 2232-2236.

Ovando-Martinez M., Sayago-Ayerdi S.G., Agama-Acevedo E., Goni I., Bello-Perez L.A., 2009. Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. Food Chemistry 113, 121-126.

Oyewole O.B., 1997. Lactic fermented foods in Africa and their benefits. Food Control 8, 289-297.

Panda S., Ray R., 2007. Lactic Acid Fermentation of β -Carotene Rich Sweet Potato (*Ipomoea batatas L.*) into Lacto-juice. Plant Foods for Human Nutrition 62, 65-70.

Panda S.H., Parmanick M., Ray R.C., 2007. Lactic Acid Fermentation of Sweet Potato (*Ipomoea Batatas L.*) into Pickles. Journal of Food Processing and Preservation 31, 83-101.

Peroni F.H., Rocha T.S., Franco C.M., 2006. Some Structural and Physicochemical Characteristics of Tuber and Root Starches. Food Science and Technology International 12, 505-513.

- Pompeyo C.C., Gómez M.S., Gasparian S., Morlon-Guyot J., 1993.** Comparison of amylolytic properties of *Lactobacillus amylovorus* and of *Lactobacillus amylophilus*. Applied Microbiology and Biotechnology 40, 266-269.
- Qi B., Moore K., Orchard J., 2000.** Effect of Cooking on Banana and Plantain Texture. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48, 4221-4226.
- Ramesh Yadav A., Guha M., Tharanathan R., Ramteke R., 2006.** Changes in characteristics of sweet potato flour prepared by different drying techniques. LWT - Food Science and Technology 39, 20-26.
- Ramesh Yadav A., Mahadevamma S., Tharanathan R., Ramteke R., 2007.** Characteristics of acetylated and enzyme-modified potato and sweet potato flours. Food Chemistry 103, 1119-1126.
- Ray R.C., Sivakumar P.S., 2009.** Traditional and novel fermented foods and beverages from tropical root and tuber crops: review. International Journal of Food Science & Technology 44, 1073-1087.
- Reddy G., Altaf M., Naveena B., Venkateshwar M., Kumar E.V., 2008.** Amylolytic bacterial lactic acid fermentation -- A review. Biotechnology Advances 26, 22-34.
- Rincón A., Padilla F., 2004.** Physicochemical properties of Venezuelan breadfruit (*Artocarpus altilis*) starch. Archivos Latinoamericanos de Nutricion 54, 449-456.
- Roberts-Nkrumah L.B., Badrie N., 2005.** Breadfruit consumption, cooking methods and cultivar preference among consumers in Trinidad, West Indies. Food Quality and Preference 16, 267-274.
- Rodriguez-Sanoja R., Morlon-Guyot J., Jore J., Pintado J., Juge N., Guyot J.P., 2000.** Comparative Characterization of Complete and Truncated Forms of *Lactobacillus amylovorus* alpha -Amylase and Role of the C-Terminal Direct Repeats in Raw-Starch Binding. Appl. Environ. Microbiol. 66, 3350-3356.
- Rodriguez-Sanoja R., Ruiz B., Guyot J.P., Sanchez S., 2005.** Starch-Binding Domain Affects Catalysis in Two *Lactobacillus* α -Amylases. Applied and Environmental

Microbiology 71. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=15640201>.

Rosin P.M., Lajolo F.M., Menezes E.W., 2002. Measurement and Characterization of Dietary Starches. *Journal of Food Composition and Analysis* 15, 367-377.

Ryan S.M., Fitzgerald G.F., Van Sinderen D., 2006. Screening for and Identification of Starch-, Amylopectin-, and Pullulan-Degrading Activities in Bifidobacterial Strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 5289-5296.

Sharavathy M.K., Urooj A., Puttaraj S., 2001. Nutritionally important starch fractions in cereal based Indian food preparations. *Food Chemistry* 75, 241-247.

Shariffa Y., Karim A., Fazilah A., Zaidul I., 2009. Enzymatic hydrolysis of granular native and mildly heat-treated tapioca and sweet potato starches at sub-gelatinization temperature. *Food Hydrocolloids* 23, 434-440.

Songré-Ouattara L., Mouquet-Rivier C., Icard-Vernière C., Rochette I., Diawara B., Guyot J.P., 2009. Potential of amyolytic lactic acid bacteria to replace the use of malt for partial starch hydrolysis to produce African fermented pearl millet gruel fortified with groundnut. *International Journal of Food Microbiology* 130, 258-264.

Sorimachi K., Gal-Coëffet M.L., Williamson G., Archer D.B., Williamson M.P., 1997. Solution structure of the granular starch binding domain of *Aspergillus niger* glucoamylase bound to [β]-cyclodextrin. *Structure* 5, 647-661.

Southall S.M., Simpson P.J., Gilbert H.J., Williamson G., Williamson M.P., 1999. The starch-binding domain from glucoamylase disrupts the structure of starch. *FEBS Letters* 447, 58-60.

Spary E., White P., 2004. Food of paradise: Tahitian breadfruit and the autocritique of European consumption. *Endeavour* 28, 75-80.

Talamond P., Desseaux V., Moreau Y., Santimone M., Marchis-Mouren G., 2002. Isolation, characterization and inhibition by acarbose of the [α]-amylase from *Lactobacillus fermentum*: comparison with *Lb. manihotivorans* and *Lb. plantarum* amylases.

Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 133, 351-360.

Tan H., Gu W., Zhou J., Wu W., Xie Y., 2006. Comparative Study on the Starch Noodle Structure of Sweet Potato and Mung Bean. *Journal of Food Science* 71, C447-C455.

Topping D., 2007. Cereal complex carbohydrates and their contribution to human health. *Journal of Cereal Science* 46, 220-229.

Tou E., Guyot J.P., Mouquet-Rivier C., Rochette I., Counil E., Traoré A., Trèche S., 2006. Study through surveys and fermentation kinetics of the traditional processing of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) into ben-saalga, a fermented gruel from Burkina Faso. *International Journal of Food Microbiology* 106, 52-60.

Tou E., Mouquet-Rivier C., Picq C., Traoré A., Trèche S., Guyot J.P., 2007a. Improving the nutritional quality of ben-saalga, a traditional fermented millet-based gruel, by co-fermenting millet with groundnut and modifying the processing method. *LWT - Food Science and Technology* 40, 1561-1569.

Tou E., Mouquet-Rivier C., Rochette I., Traore A., Treche S., Guyot J.P., 2007b. Effect of different process combinations on the fermentation kinetics, microflora and energy density of ben-saalga, a fermented gruel from Burkina Faso. *Food Chemistry* 100, 935-943.

Trèche S., Massamba J., 1995. Traditional methods of cassava processing in the Congo, dans: *Cassava Food Processing* ORSTOM, Paris. Agbor Egbe T., Brauman A., Griffon D. and Trèche S. (ed.).

Vihinen M., Mantsiila P., 1989. Microbial Amylolytic Enzyme. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 24, 329-418.

Vishnu C., Naveena B., Altaf M., Venkateshwar M., Reddy G., 2006. Amylopullulanase-- A novel enzyme of *L. amylophilus* GV6 in direct fermentation of starch to L(+) lactic acid. *Enzyme and Microbial Technology* 38, 545-550.

Vrancken G., Rimaux T., De Vuyst L., Leroy F., 2008. Kinetic analysis of growth and sugar consumption by *Lactobacillus fermentum* IMDO 130101 reveals adaptation to the acidic sourdough ecosystem. *International Journal of Food Microbiology* 128, 58-66.

- Wacher C., Canas A., Barzana E., Lappe P., Ulloa M., Owens J.D., 2000.** Microbiology of Indian and Mestizo pozol fermentations. *Food Microbiology* 17, 251-256.
- Wickramasinghe H.A.M., Takigawa S., Matsuura-Endo C., Yamauchi H., Noda T., 2009.** Comparative analysis of starch properties of different root and tuber crops of Sri Lanka. *Food Chemistry* 112, 98-103.
- Wisselink H.W., Weusthuis R.A., Eggink G., Hugenholtz J., Grobben G.J., 2002.** Mannitol production by lactic acid bacteria: a review. *International Dairy Journal* 12, 151-161.
- Wong J.M.W., Jenkins D.J.A., 2007.** Carbohydrate Digestibility and Metabolic Effects. *J. Nutr.* 137, 2539S-2546.
- Worrell D.B., Sean Carrington C.M., Huber D.J., 1998.** Growth, maturation and ripening of breadfruit, *Artocarpus altilis* (Park.) Fosb. *Scientia Horticulturae* 76, 17-28.
- Yadav A., Guha M., Reddy S., Tharanathan R., Ramteke R., 2007.** Physical Properties of Acetylated and Enzyme-Modified Potato and Sweet Potato Flours. *Journal of Food Science* 72, E249-E253.
- Zaidul I., Absar N., Kim S., Suzuki T., Karim A., Yamauchi H., Noda T., 2008.** DSC study of mixtures of wheat flour and potato, sweet potato, cassava, and yam starches. *Journal of Food Engineering* 86, 68-73.
- Zaidul I., Norulaini N.N., Omar A.M., Yamauchi H., Noda T., 2007.** RVA analysis of mixtures of wheat flour and potato, sweet potato, yam, and cassava starches. *Carbohydrate Polymers* 69, 784-791.
- Zerega N.J.C., Ragone D., Motley T.J., 2004.** Complex origins of breadfruit (*Artocarpus altilis*, *Moraceae*): implications for human migrations in Oceania. *American Journal of Botanic* 91, 760-766.
- Zhang, P., Whistler, R.L., BeMiller, J.N., Hamaker, B.R., 2005.** Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility--a review. *Carbohydrate Polymers* 59, 443-458.

Zuleta A., Sarchi M., Rio M., Sambucetti M., Mora M., De Fabrizio S., Parada J., 2004.
Fermented Milk–Starch and Milk–Inulin Products as Vehicles for Lactic Acid Bacteria. *Plant Foods for Human Nutrition* 59, 155-160.

Résumé

L'objectif de ce travail est de déterminer quelles sont les potentialités d'utilisation de la fermentation lactique amylolytique, pour valoriser la biodiversité des plantes amyloacées tropicales et créer de nouveaux produits alimentaires à forte valeur nutritionnelle, de type boisson et yaourt destinés à l'alimentation humaine dans les Antilles. En se basant sur des travaux précédents de fermentation sur un mélange de riz-soja, nos travaux ont tenté de montrer quelle était la potentialité d'utilisation de *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1 pour fermenter des suspensions et des bouillies réalisées à partir de farines de banane plantain, fruit à pain et patate douce.

Lors de la fermentation de la banane plantain, du fruit à pain et de la patate douce par *Lb plantarum* A6 et *Lb fermentum* OgiE1, une diminution du pH (jusqu'à des valeurs proches de 4.5), ainsi qu'une croissance bactérienne (9.5 log UFC/g) se produisent. Les plus basses valeurs de pH ont été obtenues pour la fermentation de la patate douce par *Lb plantarum* A6. Les résultats de rhéologie montrent une diminution de la consistance et de la viscosité des bouillies après fermentation, qui sont une conséquence de l'hydrolyse des amidons, jusqu'à des valeurs correspondant à des produits « buvables ». L'étude de la digestibilité des bouillies de banane plantain, de fruit à pain et de patate douce avant et après fermentation par les deux souches montre une modification des différentes fractions d'amidon, avec notamment une diminution de la fraction d'amidons rapidement digestibles pour le fruit à pain (après fermentation par A6) et la patate douce, ainsi qu'une augmentation du contenu en amidons résistants qui, potentiellement, peuvent être fermentés dans le colon en acide propionique, en acide acétique et en acide butyrique qui limitent la survenue du cancer colo-rectal. Un possible effet prébiotique de la fraction amidon résistant de ces produits mériterait d'être étudiée par le futur. La production de nouveaux produits (yaourt-like, boissons) à partir de la fermentation lactique de bouillies de banane plantain par des BLA, de fruit à pain et de patate douce est apparue réalisable au cours de ces travaux.

Mots-clés : Fermentation lactique amylolytique, Banane plantain, Fruit à pain, Patate douce, Amidon, Digestibilité, Rhéologie.

Title : Study of lactic acid fermentation of tropical amyloseous plants : Potential of amyolytic lactic acid bacteria

Abstract

The objective of this work is to determine the potential of use of amyolytic lactic acid fermentation to enhance the biodiversity of tropical starchy crops and to create new food products with high nutritional value, as drink-like and yoghurt-like for human nutrition in the West Indies. Based on previous works on fermentation of a mixture of rice/soybeans, our study attempt to show the potential use of *Lb plantarum* A6 and *Lb fermentum* OgiE1 to ferment suspensions and slurries made from flours of plantain, breadfruit and sweet potato.

During the fermentation of plantain, breadfruit and sweet potato by *Lb plantarum* A6 and *Lb fermentum* OgiE1 fermentum, a decrease in pH (up to values close to 4.5) and a bacterial growth (9.5 log CFU / g) occurred. The lowest pH values were obtained for the fermentation of sweet potato by *Lb plantarum* A6. In addition, the rheological results show a decrease of the consistency and viscosity of fermented gruel, which are a consequence of the hydrolysis of starch, up to values corresponding to « drinkable » products. The study of digestibility of slurries of plantain, breadfruit and sweet potatoes before and after fermentation by both strains showed a modification of the different fractions of starch, including a decline in the fraction of rapidly digestible starches for breadfruit (fermented with A6) and sweet potatoes, and an increase in resistant starch content that potentially can be fermented in the colon to propionic acid, acetic acid and butyric acid, which limit the occurrence of colorectal cancer. Possible prebiotic resistant starch fraction of these products should be studied in the future. The production of new products (yoghurt-like drinks) from the lactic acid fermentation by BLA of plantain, breadfruit and sweet potato appeared feasible during this work.

Keywords : Amyolytic lactic acid bacteria, Plantain, Breadfruit, Sweet potato, Starch, Digestibility, Rheology

Discipline : Sciences des Aliments

Intitulé et adresse du laboratoire :

- Unité Dynamique des protéines et modélisation, Université Antilles-Guyane, Campus de Fouillole, BP 250, 97157 Pointe à Pitre Cedex, France
- UR Aliment-Consommateur-Santé-Management de VetAgroSup, Campus Agronomique de Clermont, 89 Avenue de l'Europe, BP 35, 63370 Lempdes, France
- IRD UMR 204 « Prévention des Malnutritions et des Pathologies associées » (Nutripass), IRD/Montpellier2/Montpellier1/SupAgro, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France