

Le levain : une cohabitation acidulée

Autor(en): **Maillot Rodriguez, Xulia**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **101 (2022)**

PDF erstellt am: **14.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-1003700>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Le levain : une cohabitation acidulée

Xulia MAILLOT RODRIGUEZ¹

MAILLOT RODRIGUEZ X., 2022. Le levain : une cohabitation acidulée. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 101 : 157-163.

Résumé

L'unicité d'un levain est soumise à de nombreux paramètres, comme l'environnement ou le climat. On retrouve généralement dans le levain des levures, ainsi que des bactéries lactiques et acétiques. L'objectif de ce travail était d'identifier les micro-organismes présents dans un levain et de déterminer leur influence sur le taux d'acidité du pain et donc, sa sapidité. La singularité de ce travail repose sur le lieu d'origine du levain, qui a été fabriqué dans la région de Belmont-sur-Lausanne. J'ai développé une série d'expériences pour déterminer les différents micro-organismes cohabitant dans le levain et ainsi être en mesure d'analyser leurs caractéristiques. Les levures se sont révélées être *Pichia kudriavzevii*, une espèce ayant déjà été décelée dans des levains auparavant. Quant aux bactéries lactiques et acétiques, elles se sont avérées être respectivement *Lactiplantibacillus plantarum* et *Gluconobacter oxydans*. Ensuite, le taux de production d'acide dans le levain a été mesuré. Sa causticité était comprise dans la marge pH standard de 3,5-4,5. En outre, la densité en bactéries lactiques était prépondérante au regard des deux autres types de micro-organismes, qui quant à eux, s'équivalaient en nombre. Ceci explique la délicatesse de l'acidité d'un pain fait d'un levain au pH aussi bas, car l'acide lactique est malgré son odeur forte, moins aigre que l'acide acétique dont le puissant arôme s'apparente grandement au vinaigre.

Mots-clés : pain, fermentation, acidité, levure, bactéries acétiques, bactéries lactiques.

MAILLOT RODRIGUEZ X., 2022. Sourdough: a tangy cohabitation. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 101 : 157-163.

Abstract

The uniqueness of a sourdough is subject to many parameters, such as the environment or the climate. Yeast, lactic and acetic bacteria are generally found in sourdough. The objective of this work was to identify the micro-organisms present in a sourdough and to determine their influence on the acidity level of the bread and therefore its palatability. The singularity of this work lies in the place of origin of the sourdough, which was made in the region of Belmont-sur-Lausanne. I developed a series of experiments to determine the different micro-organisms cohabiting in the sourdough and thus be able to analyze their characteristics. The yeasts turned out to be *Pichia kudriavzevii*, a species that had already been detected in sourdoughs before. The lactic acid and acetic acid bacteria were found to be *Lactiplantibacillus plantarum* and *Gluconobacter oxydans* respectively. Next, the rate of acid production in the sourdough was measured. Its causticity was within the standard pH range of 3.5-4.5. In addition, the density of lactic acid bacteria was higher than that of the other two types of micro-organisms, which were equal in number. This explains the delicate acidity of a bread made with a sourdough at such a low pH, because lactic acid, despite its strong odor, is less sour than acetic acid, whose powerful aroma is very similar to vinegar.

Keywords : bread, fermentation, acidity, yeast, acetic bacteria, lactic bacteria.

¹Gymnase de la Cité, Pl. de la Cathédrale 1, 1014, Lausanne, Suisse. Xulia.MaillotRodriguez@unil.ch

INTRODUCTION

« Les nations ont besoin de héros et de saints comme la pâte a besoin de levain », Gustave Thibon n'aurait pas pu mieux définir l'importance du levain dans l'histoire de la panification. En effet, avant que « naisse » le levain, les humains se sustentaient avec un mélange de farine et d'eau non-fermenté qui était cuit par la suite. Le résultat obtenu s'apparentait plus à une crêpe épaisse qu'au pain que l'on connaît aujourd'hui. Il est difficile de dater précisément la découverte du levain ainsi que l'entrée du pain dans l'alimentation de l'être humain. Cependant, il existe une légende relativement connue qui raconte que le levain, tout comme la fermentation, auraient été découverts par un boulanger égyptien qui aurait, par mégarde, laissé la pâte à pain crue dans une pièce une nuit entière. Le lendemain, il aurait retrouvé une pâte plus spongieuse et après enfournement, aurait obtenu un pain à la mie infiniment plus aérienne et digeste. Nonobstant, grâce à des fouilles archéologiques, il est possible d'affirmer que les premiers pains remontent à plus de 7800 ans (ÉCOLE PROFESSIONNELLE DE RICHEMONT 1983).

La procédure de fabrication d'un pain au levain est plus longue que celle d'un pain à la levure boulangère fraîche, car la composition micro-organique de ces deux agents levants est différente. Tandis qu'un cube de levure boulangère fraîche du commerce ne se compose que de levures *Saccharomyces cerevisiae*, les micro-organismes d'un levain peuvent se classer assez généralement en trois catégories distinctes : les bactéries acétiques, les bactéries lactiques et les levures sauvages. Il est à souligner que non seulement les micro-organismes du levain fermentent la pâte, mais que ses bactéries ont une influence sur le goût du pain. Il existe même en Belgique, à Saint-Vith, une bibliothèque dédiée aux levains nommée « Centre dédié à la Saveur du Pain de Puratos », où sont répertoriés pas moins de 85 levains du monde entier.

D'un point de vue gustatif, il est important de souligner que la caractéristique principale qui distingue le pain au levain d'un pain à la levure *Saccharomyces cerevisiae* est son acidité. En effet, les bactéries lactiques et acétiques du levain produisent respectivement de l'acide lactique et acétique. La proportion des deux acides dans la pâte est appelée « quotient fermentaire » et, au travers de diverses études, on a pu constater que la proportion d'acide lactique était généralement plus importante que celle de l'acide acétique (LE BLANC 2007-2008). Comme l'acide acétique détient un pH plus bas que l'acide lactique, plus l'acide acétique est présent dans la pâte, plus le pain a une saveur vinaigrée. Le quotient fermentaire joue donc un rôle crucial sur la saveur du pain, car l'acidité du pain va évoluer en fonction du type de bactérie qui s'est le plus développé dans la pâte.

Pour mieux comprendre les propriétés du levain, j'ai créé en 2021 mon propre ferment à Belmont-sur-Lausanne. Il était composé uniquement de farine et d'eau, ainsi que de micro-organismes « cancoirains » (dérivé du mot Cancoires, qui qualifie les habitants de Belmont-sur-Lausanne). Je me suis donc intéressée aux micro-organismes qui composaient ce levain, par isolation sur gel d'Agar et identification par séquençage d'ADN, et aux effets qu'ils pouvaient avoir sur le goût et la fermentation du pain comparativement à un pain à la fermentation exclusivement faite grâce à *Saccharomyces cerevisiae*.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Préparation du levain

La première étape a été la préparation d'un levain à base de farine complète (TerraSuisse) et d'eau du robinet (Belmont-sur-Lausanne, Suisse). Il a été réalisé dans une cuisine à température ambiante et a reposé, durant ses cycles de fermentation, dans une pièce variant entre 25 et 30 °C. Pour éviter une croissance exponentielle, il a été conservé dans un réfrigérateur entre 5 et 6 °C et nourri chaque semaine.

Observation microscopique du levain

J'ai observé un échantillon de levain préalablement délayé dans de l'eau distillée à l'aide d'un microscope (Olympus IX81 inverted wide-field epifluorescence microscope) équipé d'objectifs à phase 60 x/1.25 et relié à un appareil photo numérique Orca-ER CCD (Hamamatsu). La configuration du microscope IX81 était contrôlée par Metamorph 7.5 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA).

L'échantillon a ensuite été dilué en série, de 10^{-1} à 10^{-10} , puis ensemencé sur des géloses nutritives à base d'extraits de levures, afin d'examiner la croissance des micro-organismes. Cela a permis d'estimer les concentrations en micro-organismes et de relever des caractéristiques macroscopiques, entre autres la morphologie des colonies, ainsi que leurs interactions entre elles et avec le milieu, qui pouvaient être intéressantes (CAPRETTE 2017).

Isolements sur une gélose d'Agar bleu de Chine-lactose

Pour identifier les colonies produisant de l'acide, puis quantifier leur production, un isolement de colonies sur des géloses d'Agar bleu de Chine-lactose a été effectué. Cette méthode permet d'observer la capacité des bactéries à dégrader le lactose en acide grâce à un changement de couleur de l'indicateur de pH.

Identification des espèces par séquençage d'ADN

Pour les bactéries, une PCR a été réalisée avec la Q5 High Fidelity DNA Polymerase (M0491) et les couples d'amorces XB1/ PSR et PSL/XB4, qui ciblent respectivement des régions de 762 et 598 paires de bases dans la séquence 16SrDNA (Xu *et al.* 2004). Les deux paires s'utilisent de manière complémentaire afin de valider les résultats des séquences. Une fois les échantillons purifiés avec un kit de PCR clean-up (Macherey-Nagel, Rev. 04) ils ont été envoyés au laboratoire suisse *Microsynth* AG pour séquençage de la région 16SrDNA. Pour les levures, des amorces utilisées par le laboratoire de Marko Kaksonen (UNIGE) ont été utilisées pour amplifier des régions dans la séquence 18SrDNA (non décrites dans ce travail).

Afin de pouvoir déterminer à quels micro-organismes appartenaient les séquences, ces dernières ont été comparées avec les entrées de la base de données NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Mesure du pH

Finalement, j'ai mené une expérience pour mettre en relation les recherches du projet sur les micro-organismes identifiés dans le levain avec la mesure du pH de ce dernier, qui avait été préalablement rafraîchi environ 4 h auparavant. Pour réaliser cette mesure, j'ai utilisé deux papiers tournesols différents: *Spezialindikator* (2,5–4,5) et *pH-BOX* (0,5–5,0 / 5,5–9,0 / 9,5–13,0).

RÉSULTATS

Observation microscopique du levain

L'observation microscopique des échantillons a révélé la présence de différents types de bactéries variant en taille, forme et coloration, ainsi que des levures sauvages (figure 1). Sur la base de leur taille et de leur forme, les petits points noirs ont été identifiés comme étant des bactéries, classées en deux catégories selon leur morphologie. Les cocci possèdent une forme arrondie et ressemblent à des points noirs, les bacilles se caractérisent par leur forme allongée comme des bâtonnets (figure 1). Quant aux ronds blancs, il pourrait s'agir de levures mais ce n'est qu'une supposition. En effet, leur apparence au microscope diffère de la représentation courante que l'on a d'elles et il aurait fallu utiliser un colorant secondaire, tel qu'un colorant nucléaire, pour s'en assurer. Il pourrait par exemple s'agir de granules d'amidon présents dans la farine du levain.

Observation macroscopique du levain

La prolifération des colonies sur les géloses nutritives avait pour but de tester si le milieu nutritif était bénéfique pour les micro-organismes. Trois types de colonies sont apparus, avec des tailles différentes: grande (G), moyenne (M) et petite (P). Les colonies de type G étaient moins présentes que les P sur toutes les plaques. Il a parfois fallu au moins deux jours avant de parvenir à différencier les colonies P des colonies M.

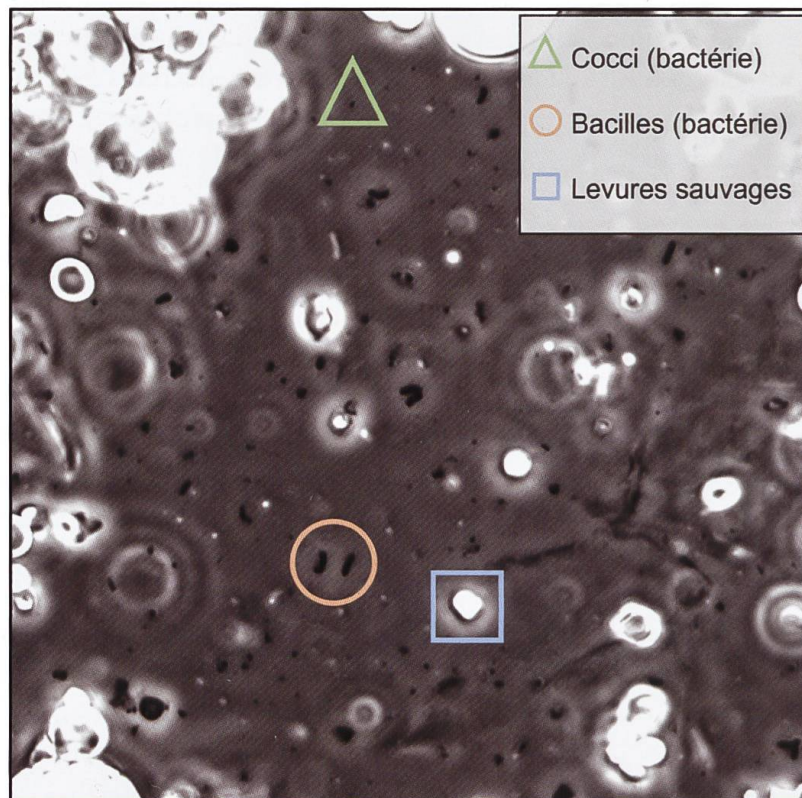


Figure 1. Photographie du levain au microscope (grossissement 600 x). On distingue différents micro-organismes, des bactéries représentées par des points (cocci) et des bâtonnets noirs (bacilles), et des levures en blanc. L'identification de ces dernières étant incertaine, l'indication fournie ici est à titre d'information.

Isolements sur une gélose d'Agar bleu de Chine-lactose

Pour les colonies G, aucune trace ou tache bleu foncé n'est apparue sur la plaque de Pétri, qui est elle-même restée incolore (figure 2A). Pour les colonies M, la gélose a pris une légère teinte bleutée et quelques petits points bleu foncé de diamètre d'environ 1 mm se sont manifestés, en particulier sur les bords de la plaque (figure 2B). Quant à la gélose de la boîte de Pétri contenant l'échantillon isolé des colonies P (figure 2C), elle est devenue de couleur bleu barbeau avec davantage de colonies que sur la boîte des colonies M. D'un diamètre de 1 à 3 mm, les colonies P sont devenues d'un bleu criard avec une tache dégradée bleu saphir s'étalant autour d'elles (figure 2C).

Identification des espèces par séquençage d'ADN

Les séquences des grandes colonies étaient des levures présentant une probabilité entre 74 % et 99 % d'appartenir à l'espèce *Pichia kudriavzevii*. Ensuite, les séquences des moyennes colonies présentaient une probabilité entre 99 % et 100 % d'appartenir au genre *Gluconobacter*, probablement à l'espèce *Gluconobacter oxydans*. Finalement, les séquences des petites colonies présentaient une probabilité de 99 % d'appartenir à l'espèce *Lactiplantibacillus plantarum*.

DISCUSSION

En combinant l'observation macroscopique et microscopique du levain à la technique très prisée du séquençage de l'ADN, j'ai pu identifier l'espèce des trois types de colonies qui s'étaient développées sur les géloses nutritives.

L'identification par séquençage d'ADN a révélé que les grandes colonies étaient des levures de l'espèce *Pichia kudriavzevii*. Elles sont incapables de dégrader le lactose, car la gélose est restée incolore (figure 2), et sont par conséquent lactose-négatives. Les levures n'appartiennent généralement pas à la catégorie des micro-organismes ayant un impact sur l'acidité du levain, puisqu'elles ont plutôt tendance à jouer un rôle dans l'équilibre du pH en l'abaissant, empêchant ainsi la croissance d'agents pathogènes d'origine alimentaire (DEES 2020). *Pichia kudriavzevi* est une espèce de levure ayant déjà été plusieurs fois identifiée dans des levains et qui se retrouve le plus souvent sur la peau des fruits ou les boissons fermentées comme le vin ou la bière (DOUGLASS *et al.* 2018).

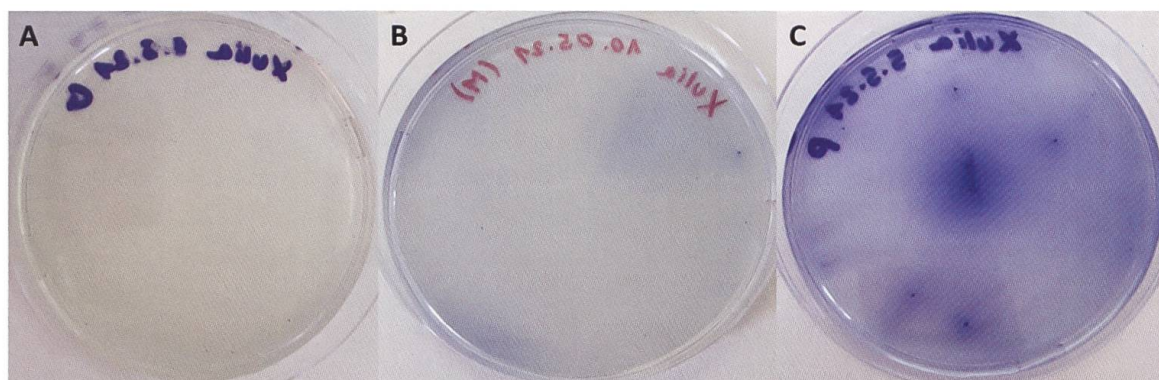


Figure 2. Isolement des colonies sur gélose d'Agar bleu de Chine-lactose. Représentation des grandes colonies (A), moyennes colonies (B) et petites colonies (C).

Le séquençage a également permis d'identifier deux espèces de bactéries. Les colonies de taille moyenne étaient composées de bactéries *Gluconobacter oxydans*. Appartenant à la famille des Acetobacteraceae, il s'agit d'une bactérie acétique, ce qui est confirmé dans les expériences par la faible intensité du bleu qu'a pris l'Agar-agar et l'apathie de la croissance bactérienne. Au contraire, vu la facilité avec laquelle se sont multipliées les petites colonies et compte tenu de la teinte bleu que la gélose a prise, ainsi que des halos bleus qui se sont formés autour des bactéries, nous pouvons en déduire que l'espèce *Lactiplantibacillus plantarum* est une bactérie lactose-positif et appartient donc aux bactéries lactiques. L'acide lactique formé suite à la réaction enzymatique détient aussi des propriétés organoleptiques agissant sur la saveur du pain. Dans l'industrie agroalimentaire, l'acide lactique est souvent utilisé comme un acidifiant ou un exhausteur de goût. En tant qu'acidifiant, il augmente l'acidité d'une denrée ou sert à améliorer la qualité organoleptique d'une denrée en lui donnant une saveur acide, et, lorsqu'il agit comme exhausteur de goût, il permet de renforcer le goût des aliments ou encore d'augmenter la perception gustative du produit (CHAUDIER 2021).

Bien que le séquençage ait permis d'identifier ces trois micro-organismes, il n'est pas possible d'affirmer avoir identifié tous les micro-organismes du levain. En effet, même si le milieu nutritif était un milieu non-sélectif, ce dernier restait tout de même plus favorable à la croissance et au développement des levures et ne garantissait donc ni la croissance ni l'identification de tous les micro-organismes.

Le pH du levain cancoirain était, alors que son activité microbienne était sur le point de baisser, compris entre 3,8 et 4,2. Ce résultat approximatif aurait pu être affiné en réalisant les mesures avec du matériel plus spécifique comme l'utilisation d'un pH-mètre électronique, mais en comparaison avec le pH d'autres levains, le résultat est compris dans la marge standard. La moyenne des deux pH obtenus étant de 4,0, celui-ci se situe à mi-distance entre le levain peu acide (4,5) et le levain extrêmement acide (3,5), témoignant du fait que ce levain cancoirain est d'une acidité idoine.

Finalement, l'acide lactique qui est engendré par les deux types de bactéries est plus odorifique que l'acide acétique. Cependant, un pain avec un levain au pH aussi bas reste agréable en bouche, car l'acide lactique, malgré sa supériorité odorante, est plus doux que l'acide acétique dont la saveur aigrelette est proche de celle du vinaigre. Les bactéries lactiques produisent aussi des molécules qui jouent un rôle dans la flaveur de l'aliment (RAY 2021). Cette conjoncture aromatique est le fondement du pain au levain.

REMERCIEMENTS

Je remercie Christos Dörries de m'avoir montré plein d'expériences intéressantes. Je remercie Jean-Denis Borel, passionné de boulangerie, de m'avoir transmis une partie de son savoir-faire. Je remercie Vanessa Vaudaux (Responsable Pôle Conseil Hygiène - AMICOLAB), la Professeure Sophie Martin (Director of the Department of Fundamental Microbiology - UNIL) ainsi que Microsynth, Bactolab et Agrovin d'avoir répondu à mes questions. Et je remercie tout particulièrement Christopher Toret (Post Doc Biochemistry Département – UNIGE) qui m'a permis de découvrir la biologie sous un tout autre angle, tant au niveau pratique que théorique.

BIBLIOGRAPHIE

- LE BLANC A., 2007-2008. La fermentation panaiere. Condensé de cours. La Main à la pâte – ENSMIC – Alimentation humaine. Accessed 10 October 2021. https://lamainalapate.asso-web.com/uploaded/Cours3_La%20fermentation.pdf
- CAPRETTE D. R., 2017. Describing Colony Morphology. Cours de microbiologie universitaire. Rice University – Laboratory Studies in Applied Microbiology – BIOC 318. Accessed 9 October 2021. <https://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/BIOC318/morphology.asp>
- CHAUDIER A., 2021. Acide lactique: ce qu'il faut savoir sur l'E270. Document d'informations. Passeport santé – Additifs alimentaires. Accessed 10 October 2021. <https://www.passeportsante.net/nutrition/additifs-alimentaires?doc=acide-lactique-faut-savoir-sur-e270>
- DEES J., 2020. The Sourdough Microbiome. American Society for Microbiology – ASM. Accessed 19 October 2021. <https://asm.org/Articles/2020/June/The-Sourdough-Microbiome>
- DOUGLASS A. P., OFFEI B., BRAUN-GALLEANI S., COUGHLAN A. Y., MARTOS A. A. R., ORTIZ-MERINO R. A., BYRNE K. P. & WOLFE K. H., 2018. Population genomics shows no distinction between pathogenic *Candida krusei* and environmental *Pichia kudriavzevii*: One species, four names. PLoS Pathog 14(7): e1007138. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007138>
- ÉCOLE PROFESSIONNELLE DE RICHEMONT, 1983. La Boulangerie Suisse.
- RAY M-C, 2021. Lait: les bactéries lactiques. Documents d'information. Futura Sciences. Accessed 10 October 2021. <https://www.futura-sciences.com/sante/dossiers/gastronomie-lait-cru-pasteurise-tradition-hygiene-1712/page/5/>
- XU J., SMYTH C. L., BUCHANAN J. A., DOLAN A., ROONEY P. J., MILLAR B. C., GOLDSMITH C. E., ELBORN J. S. & MOORE J. E., 2004. Employment of 16 S rDNA gene sequencing techniques to identify culturable environmental eubacteria in a tertiary referral hospital. *Journal of Hospital Infection* 57: 52-58.