

La biopréservation des fruits et légumes de 4^e gamme

Charlène Leneveu-Jenvrin, Fabienne Remize, UMR QualiSud, Université de La Réunion, 97490 Sainte-Clotilde

La biopréservation fait l'objet de recherches au niveau des laboratoires pour des applications sur les fruits et légumes transformés.

Résumé

Les fruits et légumes de 4^e gamme sont des produits frais, préparés par des opérations simples de lavage, épluchage et découpe. Ils sont prêts à l'emploi et ne contiennent aucun conservateur. La réfrigération, associée à un emballage sous vide ou sous atmosphère modifiée, est le levier principal pour assurer leur conservation. Ainsi, il s'agit d'aliments très périssables, dont la durée de conservation est courte, généralement de quelques jours.

La biopréservation est une technologie qui vise à allonger la durée de vie microbologique des aliments. Son principe est basé sur la modification de l'écosystème microbien naturellement présent de façon à limiter le développement de flores indésirables, pathogènes ou microorganismes d'altération. Appliquée avec succès sur les produits carnés et de la mer, cette technologie fait aujourd'hui l'objet de recherches au niveau des laboratoires pour des applications sur les fruits et légumes transformés.

Mots clés : biopréservation, microbiote, durée de vie, DLC, danger microbologique, qualité.

Abstract

Fresh-cut fruits and vegetables are minimally processed foods, thanks to washing, peeling and cutting. They are ready-to-use and not contain any preservative. As such, refrigerated storage, combined to vacuum or modified atmosphere packaging, is the main lever to ensure their shelf-life. Therefore, these foods are highly perishable and their shelf-life is of only a few days.

Biopreservation is a technology aiming to increase food shelf-life. It is based on changes of natural microbial ecosystem of foods, in order to inhibit the development of foodborne pathogens and spoilage microorganisms. It was successfully applied to meat and sea products. Nowadays, biopreservation research is developed at laboratory scale to increase the shelf-life of processed fruits and vegetables.

Keywords: biopreservation, microbiota, shelf life, expiry date, microbiological risk, quality.

Introduction

Les aliments de 4^e gamme comprennent les fruits, les légumes, les champignons et les herbes aromatiques. Ils sont définis comme des produits frais et crus, simplement préparés par des opérations de triage, lavage, épluchage et découpe. Lors des opérations de lavage, l'ajout d'hypochlorite de sodium est autorisé et le rinçage est obligatoire (Arrêté du 13 janvier 2011 modifiant l'Arrêté du 19 octobre 2006 relatif à l'emploi

d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires). Ils sont conditionnés sous vide ou sous atmosphère modifiée, dans des matériaux d'emballage possédant des propriétés particulières de perméabilité aux gaz et à l'eau.

Du fait de leur praticité d'utilisation, les produits de 4^e gamme connaissent une forte dynamique de marché. Pour les salades, qui représentent 80 % des produits de 4^e gamme, le marché est arrivé

au stade de maturité avec près de 220 millions de sachets vendus en France en 2014, ce qui représente 2,3 kg de produits achetés par foyer (données CTIFL, Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes). Cette dynamique est soutenue par l'innovation, qui vise à élargir la gamme des produits : smoothie mix, sachets de fruits ou de légumes prêts à l'emploi pour préparer des smoothies ; légumes préparés pour barbecue ; sandwich sans pain, rem-



placé par une feuille de salade ; sachets d'herbes aromatiques prêtes pour réaliser des infusions...

Les aliments de 4^e gamme sont des produits vivants, c'est-à-dire que ces fruits ou légumes conservent une activité métabolique, de respiration notamment. De ce fait, les lésions liées à la découpe et les réactions endogènes provoquent rapidement une perte des propriétés organoleptiques et nutritionnelles. Il s'agit principalement d'une augmentation de la respiration, de la perte de contenu cellulaire, de dégradations des parois végétales et de réactions d'oxydation. Ces réactions conduisent à des modifications de texture, de couleur et de goût (figure 1). La température de conservation (0 - 4 °C) permet de ralentir les réactions enzymatiques de même que des teneurs en oxygène réduites pendant la préparation et dans l'emballage [1].

Ces aliments contiennent aussi naturellement un écosystème microbien, qui contribue à la dégradation de la qualité des produits [2]. Cet écosystème a pour origine l'environnement de croissance du végétal et est soumis à des fortes variations, en fonction par exemple des pratiques culturales, des conditions climatiques, selon que le végétal est proche du sol ou aérien, et du niveau de maturité du fruit. L'écosystème microbien des fruits et des légumes est très diversifié, avec 17 à 161 fa-

milles bactériennes selon les types de végétaux échantillonnés. Si le lavage permet d'éliminer une partie de cette flore [3], il conduit aussi à des contaminations croisées. Les lésions des tissus végétaux lors de l'épluchage et de la découpe libèrent de grandes quantités de substrats, utilisables pour la croissance microbienne. Ainsi, la microflore des produits de 4^e gamme est très variée. Parmi celle-ci, des dangers biologiques, notamment *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ou certains *Escherichia coli* pathogènes, ont été identifiés dans des cas de toxoinfections causées par la consommation de fruits ou de légumes. La maîtrise de ces dangers est assurée par les bonnes pratiques d'hygiène à tous les stades de la production jusqu'au consommateur. Le bas pH de nombreux fruits joue en défaveur des bactéries pathogènes. Au stade de la production, la population microbienne sur les produits de 4^e gamme varie généralement entre 10^3 et 10^8 ufc.g⁻¹. Elle est composée de bactéries, de levures et de moisissures. Les bactéries psychrotrophes disposent d'un avantage du fait des conditions de conservation réfrigérées et les familles le plus souvent retrouvées sont les *Pseudomonaceae*, les *Enterobacteriaceae* et les bactéries lactiques [1]. Les levures et moisissures sont aussi responsables d'altérations, observées par des mo-

difications de texture, d'odeur et de couleur. Pour ces flores, la conservation réfrigérée reste un moyen efficace de ralentir leur développement. La gestion de l'atmosphère pour limiter les altérations d'origine microbienne apparaît plus complexe car les comportements microbiens vis-à-vis de l'oxygène sont très divers. Il est important de noter que, s'il existe des traits communs entre les écosystèmes microbiens des différents végétaux, la singularité est la norme, en relation avec les particularités de chaque environnement et l'historique du produit.

Attentes et objectifs de l'allongement de la durée de conservation

Les pertes de fruits et légumes sont décrites comme élevées, jusqu'à 60 % pour les salades, et en moyenne 45 % pour les fruits et légumes [4]. L'étude du cas des salades de 4^e gamme a montré des pertes d'environ 35 % lors des opérations de préparation du produit [5]. Les pertes se produisent à toutes les étapes, de la production primaire jusqu'au consommateur (tableau 1). Une possibilité envisagée pour réduire les pertes est d'allonger la DLC. Cette approche permettrait aussi d'atténuer l'impact de la saisonnalité pour certains fruits (mangues, litchis) et d'augmen-

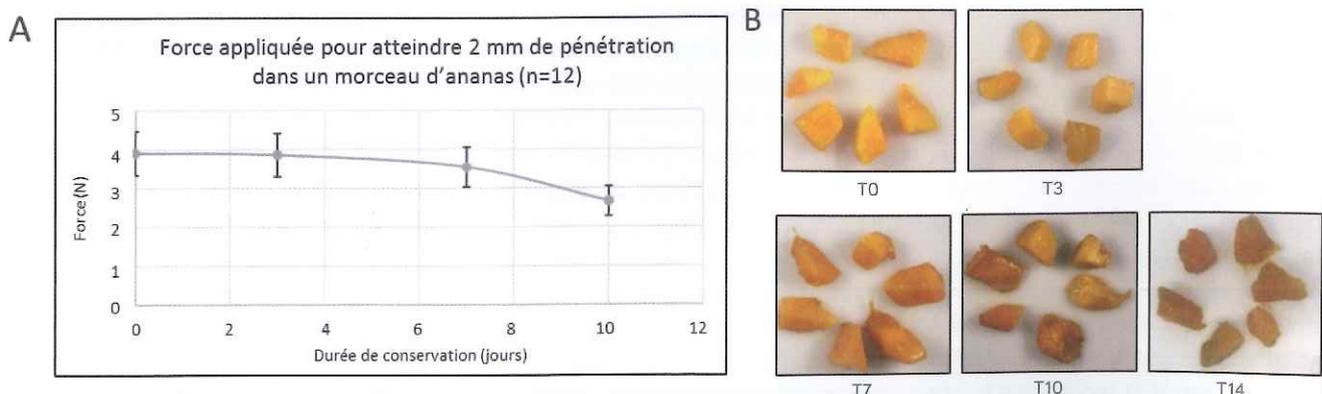


Figure 1 : évolution de la texture d'un morceau d'ananas (A) ou de la couleur de la mangue (B) au cours de la conservation réfrigérée.

Étapes	Origines des pertes	Leviers proposés
Production primaire (Producteurs)	Dégâts mécaniques Défaut – Tri – Ecartés - Non vendus Conditions environnementales Contamination (air ou sol) Stockage et Transport	Température contrôlée Technologies de décontamination : bains ou gaz désinfectants, décontamination physique
Transformation (Industriels)	Opérations : lavage, épluchage, découpe, cuisson... Conditionnement Dégâts mécaniques Stockage et Transport	Procédés optimisés Emballages sous atmosphère modifiée et/ou enrobage Atmosphère ou température contrôlée
Vente (Distributeurs)	Stockage et Transport	Atmosphère ou température contrôlée
Consommateurs	Stockage DLC dépassée	Température contrôlée

Tableau 1 : pertes alimentaires en fruits et légumes 4^e gamme en fonction des acteurs concernés et leviers pour y remédier.

ter la durée de conservation avant consommation. L'augmentation de la durée de vie peut se faire de différentes façons. Par exemple, diversifier l'offre de produits permet de mettre sur le marché des produits moins périssables (produits pasteurisés ou lacto-fermentés), mais elle n'est pas toujours applicable. C'est dans cet objectif d'augmenter la durée de vie que des traitements complémentaires à la réfrigération et aux atmosphères modifiées se développent pour les produits de 4^e gamme.

L'allongement de la durée de vie ne peut être envisagé que dans la mesure où le traitement choisi permet la conservation des qualités senso-

rielles et nutritionnelles du produit. Les alternatives aujourd'hui envisagées sont multiples (tableau 2). Les traitements physiques par UV-C ou par lumière pulsée sont apparus prometteurs dès l'origine et sont déjà utilisés [6]. Les enrobages comestibles à base de polysaccharides, de protéines ou de lipides, éventuellement enrichis en antimicrobiens naturels tels que le chitosane, sont étudiés [7]. Enfin, le relargage progressif d'huiles essentielles par les emballages semble intéressant pour certains produits, compatibles avec les propriétés organoleptiques des huiles essentielles choisies. Dans ce panel de technologies, la biopréservation, une déclinaison du

biocontrôle, a été beaucoup étudiée pour les fruits et légumes frais [8-10], mais relativement peu d'études sur les produits de 4^e gamme ont été publiées [6,7,11].

La biopréservation aujourd'hui

Parmi les bactéries inoffensives qui sont envisagées pour la biopréservation, les bactéries lactiques ont une place de choix. Le statut GRAS (*Generally Regarded As Safe*) ou, en Europe, QPS (*Qualified Presumption of Safety*) de nombreuses espèces de cette famille permet de supposer que leur acceptation au plan réglementaire mais aussi par les consom-



Technologies de conservation	Exemple de fruits ou légumes ciblés	Bénéfices	Limites
Haute pression	Ananas, pommes, carottes	Ralentit le métabolisme végétal et le développement microbien	Coût d'investissement
Emballages actifs/ intelligents	Chou, carottes, pommes, ananas	Ralentit le métabolisme végétal et le développement microbien	Petits volumes
Enrobages	Pommes, poires, carottes, framboises	Limite le brunissement et/ou le développement microbien	Coût
Molécules antimicrobiennes ou anti brunissement	Pommes, melon tomates, orange	Limite le brunissement et/ou le développement microbien	Effet santé
Irradiation	Mangues, framboises	Limite le brunissement et/ou le développement microbien	Réticence des consommateurs
Biopréservation	Pommes, pêches ou melon	Limite le développement microbien	Ne ralentit pas le métabolisme végétal
UV-C	Pastèques, melons, mangues	Maintient les qualités nutritionnelles et limite le développement microbien	Investissement
Lumière pulsée	Mangues, champignons	Maintient les qualités nutritionnelles	Investissement

Tableau 2 : technologies de conservation des fruits et légumes de 4^e gamme.

mateurs sera plus aisée que pour d'autres bactéries. De plus, ces bactéries sont thermosensibles (donc faciles à éliminer), souvent capables de se développer à basse température, résistantes à l'acidité et capables de produire des bactériocines. Enfin, certaines de ces bactéries peuvent avoir un effet probiotique.

Ainsi, de multiples études ont évalué le potentiel de bactéries lactiques des espèces *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei*, *Pediococcus parvulus* ou encore *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc citreum* pour inhiber le développement de bactéries pathogènes inoculées sur des salades, des pommes, des pousses de soja [7,11]. Souvent efficaces au niveau de l'inhibition des pathogènes, ces travaux ont démontré l'importance de sélectionner les bactéries de biopréservation à partir du même matériel végétal que celui à conserver afin d'augmenter les chances d'implantation dans l'aliment en présence du microbiote naturel [12]. Toutefois, les premières études ont souvent négligé l'impact sensoriel de la flore envisagée pour la biopréservation.

Une autre bactérie, *Pseudomonas graminis* CPA⁷, a été sélectionnée de la surface de pomme pour sa capacité à inhiber *Salmonella enterica*, *E. coli* O157:H7 et *L. monocytogenes* [13]. Cette souche a été testée pour la biopréservation de découpes de pommes, de pêches ou de melon [14-16]. L'efficacité d'inhibition du pathogène dépendait de la population en pathogène et de la température de stockage. Selon le fruit et la température de stockage, des effets sur la couleur ou la texture ont cependant pu être observés.

L'idée de combiner les avantages de la biopréservation et l'effet probiotique via la mise en œuvre d'une unique souche est relativement récente. Les premiers essais ont montré une diminution de la viabi-

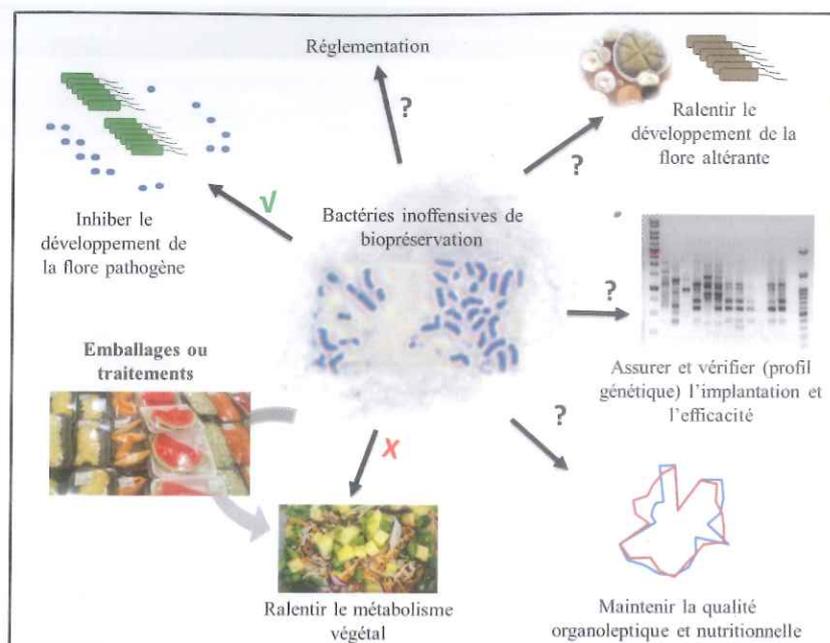


Figure 2 : limites pour l'application de la biopréservation sur les fruits et légumes 4^e gamme et actions pour les lever.

lité des souches probiotiques inoculées dans le produit au cours de sa conservation, mais l'efficacité pour inhiber les pathogènes a été mise en évidence de même que l'absence de dégradation de la qualité causée par les probiotiques [17,18]. L'addition de *Lactobacillus rhamnosus* GG sur de la poire 4^e gamme a montré une augmentation de la teneur de certains composés volatils au cours de la conservation réfrigérée [19]. Ces composés présentent majoritairement des notes fruitées, mais l'évaluation sensorielle du produit biopréservé reste le juge de paix dans ce type d'études. L'ajout de la même souche à des découpes de pommes n'a pas conduit à des modifications significatives de la couleur ou de la fermeté par rapport au témoin non biopréservé [20].

Un point commun à toutes ces études est qu'elles se focalisent sur l'inhibition des bactéries pathogènes, et non sur la flore d'altération. Or comme présenté précédemment, la DLC courte est imposée surtout par les microorganismes d'altération et les dégradations par le métabolisme végétal endogène.

Les limites de la biopréservation

À ce stade, plusieurs limites ou verrous à l'application de la biopréservation sur les fruits et légumes de 4^e gamme sont identifiés (figure 2).

En premier lieu, la biopréservation n'est efficace que pour limiter le développement des flores indésirables et pas pour ralentir les réactions endogènes des végétaux. Ainsi, la biopréservation ne peut être envisagée qu'en combinaison avec d'autres traitements ou emballages qui agissent sur le métabolisme végétal.

Comme mentionné précédemment, la flore de biopréservation aura de meilleures chances de s'implanter dans le produit qui contient sa propre flore endogène si l'agent de biopréservation provient de la même matrice alimentaire. La quantité d'agent de biopréservation et les modalités d'ajout seront à ajuster selon le produit cible. Ceci implique aussi, et les études sur les produits carnés et de la mer vont dans le même sens, que la technologie de biopréservation est probablement une technologie « sur-mesure », c'est-à-dire que la flore adaptée à

un fruit le serait beaucoup moins pour un autre ou pour une origine géographique différente. Cependant, les conditions d'efficacité de la biopréservation nécessitent des études complémentaires.

Le projet FLOR4G - la biopréservation des fruits et légumes réunionnais - initié en 2017 pour une durée de 3 ans vise à caractériser les altérations, à analyser la dynamique de l'écosystème microbien au cours de la conservation réfrigérée et à identifier des bactéries pour la biopréservation des mangues, ananas et carottes, utilisables en combinaison avec d'autres traitements. Il ressort des études précédentes que les causes d'altération sont multiples et leurs conséquences sur les qualités des produits alimentaires dépendent du produit et de son environnement. Cela implique que les causes de la dégradation de la qualité des produits doivent être bien caractérisées et comprises pour pouvoir choisir la méthode ou les combinaisons de méthodes les plus adaptées. Enfin, la dernière limite est aujourd'hui d'ordre réglementaire puisqu'aucune réglementation n'existe encore en Europe pour la technologie de biopréservation. Les travaux du RMT (Réseau mixte technologique) FLO-REPRO (Mise en œuvre des procédés de biopréservation pour une meilleure qualité des aliments, http://www.actia-asso.eu/fiche/rmt-86-florepro_2.html) composé d'instituts techniques agroalimentaires, d'unités de recherche et de structures de formation et fédéré par l'ACTIA (Association de coordination technique pour l'industrie agroalimentaire) a dans ses objectifs celui de contribuer à une réglementation appropriée.

Conclusion

Les premiers travaux sur la biopréservation appliquée aux fruits et légumes de 4^e gamme sont menés au niveau des laboratoires de recherche

depuis quelques années. Les verrous en vue de l'application de cette technologie sont encore nombreux et nécessitent un effort soutenu pour acquérir des connaissances complémentaires. Les attentes ou les freins des consommateurs par rapport à cette approche devront faire l'objet d'une prise en compte la plus précoce possible, par des enquêtes et une communication appropriée, afin d'évaluer les chances de succès de ces développements ■

Références

- [1] P. Ragaert, F. Devlieghere et J. Debevere, « Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables », *Postharvest Biol Technol*, Vol. 44, pp. 185-194, 2007.
- [2] J. W. Leff et N. Fierer, « Bacterial communities associated with the surfaces of fresh fruits and vegetables », *PLoS One*, Vol. 8(3), e56310, 2013.
- [3] L. Durand, S. Planchon, M.-H. Guinebretière, S. Andre, F. Carlin et F. Remize, « Contamination pathways of spore-forming bacteria in a vegetable cannery », *Int J Food Microbiol*, Vol. 202, pp. 10-19, 2015.
- [4] L. Kitinoja et A. A. Kader, « Measuring postharvest losses of fresh fruits and vegetables in developing countries », *The Postharvest Education Foundation (PEF White Paper 15-02)*, 2015.
- [5] S. Plazzotta, L. Manzocco et M.C. Nicoli, « Fruit and vegetable waste management and the challenge of fresh-cut salad », *Trends Food Sci Technol*, Vol. 63, pp. 51-59, 2017.
- [6] L. Ma, M. Zhang, B. Bhandari et Z. Gao, « Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables », *Trends Food Sci Technol*, Vol. 64, pp. 23-38, 2017.
- [7] M. Corbo, D. Campaniello, B. Speranza, A. Bevilacqua et M. Sinigaglia, « Non-conventional tools to preserve and prolong the quality of minimally-processed fruits and vegetables », *Coatings*, Vol. 5(4), pp. 931-961, 2015.
- [8] D. Spadaro et S. Droby, « Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists », *Trends Food Sci Technol*, Vol. 47, pp. 39-49, 2016.
- [9] S. Droby, M. Wisniewski, D. Macarasin et C. Wilson, « Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? », *Postharvest Biol Technol*, Vol. 52(2), pp. 137-145, 2009.
- [10] W. J. Janisiewicz, « Biological control of postharvest diseases: Hurdles, successes and prospects », In : *II International Organic Fruit Symposium, Acta Horti*, Vol. 1001, pp. 273-284, 2013.
- [11] L. Siroli, F. Patrignani, D. I. Serrazanetti, F. Gardini et R. Lanciotti, « Innovative strategies based on the use of bio-control agents to improve the safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables », *Trends Food Sci Technol*, Vol. 46(2), pp. 302-310, 2015.
- [12] B. Leverentz, W. S. Conway, W. Janisiewicz, M. Abadias, C. P. Kurtzman et M. J. Camp, « Biocontrol of the food-borne pathogens *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* Serovar Poona on fresh-cut apples with naturally occurring bacterial and yeast antagonists », *Appl Environ Microbiol*, Vol. 72(2), pp. 1135-1140, 2006.
- [13] I. Alegre, I. Viñas I, J. Usall, M. Anguera, R. Altisent et M. Abadias, « Antagonistic effect of *Pseudomonas graminis* CPA-7 against foodborne pathogens in fresh-cut apples under simulated commercial conditions », *Food Microbiol*, Vol. 33(2), pp. 139-148, 2013.
- [14] I. Alegre, I. Viñas I, J. Usall, N. Teixidó, M. J. Figge et M. Abadias, « Control of foodborne pathogens on fresh-cut fruit by a novel strain of *Pseudomonas graminis* », *Food Microbiol*, Vol. 34(2), pp. 390-399, 2013.
- [15] L. Plaza, R. Altisent, I. Alegre, I. Viñas et M. Abadias, « Changes in the quality and antioxidant properties of fresh-cut melon treated with the biopreservative culture *Pseudomonas graminis* CPA-7 during refrigerated storage », *Postharvest Biol Technol*, Vol. 111, pp. 25-30, 2016.
- [16] M. Abadias, R. Altisent, J. Usall, R. Torres, M. Oliveira et I. Viñas, « Biopreservation of fresh-cut melon using the strain *Pseudomonas graminis* CPA-7 », *Postharvest Biol Technol*, Vol. 96, pp. 69-77, 2014.
- [17] P. Russo, M. L. V. de Chiara, A. Vernile, M. L. Amodio, M. P. Arena, V. Capozzi, S. Massa and G. Spano, « Fresh-cut pineapple as a new carrier of probiotic lactic acid bacteria », *Biomed Res Int*, Vol. 2014, e309183, 2014.
- [18] P. Russo, N. Peña, M. L. V. de Chiara, M. L. Amodio, G. Colelli et G. Spano, « Probiotic lactic acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe », *Food Res Int*, Vol. 77, pp. 762-772, 2015.
- [19] M. B. Iglesias, G. Echeverría, I. Vinas, M. L. Lopez et M. Abadias, « Biopreservation of fresh-cut pear using *Lactobacillus rhamnosus* GG and effect on quality and volatile compounds », *LWT - Food Sci Technol*, Vol. 87, pp. 581-588, 2018.
- [20] I. Alegre, I. Viñas, J. Usall, M. Anguera et M. Abadias, « Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG », *Food Microbiol*, Vol. 28(1), pp. 59-66, 2011.

Remerciements

Les travaux sur la biopréservation à l'Université de La Réunion, UMR QualiSud, sont réalisés grâce au projet FLOR4G, cofinancé par l'Union européenne et la Région Réunion.