

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Structure et Instabilité des Génomes

Adresse : CNRS UMR7196 / Muséum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier 75005 Paris

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Bruno David

Responsable de l'encadrement : Jean-Baptiste Boulé

Téléphone : 01 40 79 56 16

E-mail : jean-baptiste.boule@mnhn.fr

Co-encadrant éventuel : Christophe Lavelle

2. Description du stage (2 pages maximum) :

Titre : kéfir et fermentations liquides

Mots clés : kéfir, fermentation, biodiversité microbienne,

Contexte et objectifs généraux :

De nombreuses sociétés utilisent traditionnellement la fermentation comme moyen de production, conservation et/ou optimisation nutritionnelle des aliments. Celle-ci est déclenchée spontanément ou favorisée par l'ajout d'un catalyseur biologique (levures, bactéries).

Nous proposons d'explorer un mode de fermentation particulier, l'utilisation de grains de kéfir, pour la fermentation de jus de fruit, très peu étudié par rapport au kéfir laitier. Le terme kéfir décrit à la fois la boisson fermentée et le ferment, qui se présente comme des grains translucides composés de communautés de microorganismes symbiotiques, i.e. bactéries acidophiles et levures (1). Le kéfir véhicule une image de boisson "saine" riche en probiotiques (2), ce qui explique sans doute en partie l'engouement dont il fait preuve auprès des consommateurs (3). Des études récentes ont commencé à caractériser les consortia microbiens présents dans quelques grains de kéfirs (4,5) mais aucune étude n'a encore abordé le sujet sous l'angle de la biodiversité, et l'on sait très peu de chose sur l'éventuelle hétérogénéité de cette boisson.

Projet de stage :

Le projet vise à mettre en place une collection de grains de kéfir collectés auprès de consommateurs en France et à l'étranger et d'initier une étude comparative de leur biodiversité microbiologique. Les kéfirs récoltés seront séchés et/ou cryogénisés pour conservation et cultivés pour caractérisation dans un bioréacteur en place au laboratoire, permettant de suivre les fermentations dans des conditions de milieu contrôlées et de la cinétique des paramètres métaboliques.

Le stagiaire travaillera notamment sur:

- Le référencement et la cryoconservation des échantillons récoltés (via les contacts établis sur les plateformes de dissémination du kéfir et forums dédiés). Il s'agira de tester la robustesse de différents protocoles de conservation, en testant la stabilité phénotypique et microbiologique de la souche lors d'expériences de fermentations de jus naturels. Cette tâche vise à jeter les bases d'une kéfirothèque

facilitant une mise à disposition de ces échantillons aux chercheurs intéressés par ces symbioses comme modèle fondamental ou comme outil biotechnologique.

- L'enregistrement d'un portrait physiologique de chaque échantillon cultivé en milieu "naturel" ou synthétique. Cet objectif sera réalisé lors de cultures dans un bioréacteur récemment mis en place au sein de l'équipe, qui permet, à une grande résolution temporelle (30 mesures/min), de mesurer les paramètres physiologiques de la culture de microorganismes (pH, RedOx, O₂, T°, nutriments, turbidité), ainsi que de rétroagir sur ces paramètres.
- L'extraction de l'ADN des kéfirs pour analyse métagénomique de leur contenu microbiologique (identification des bactéries et levures en présence).

Les objectifs de ce stage M2 sont :

Nous recherchons un(e) étudiant(e) motivé(e) capable de s'insérer rapidement dans un nouveau projet et de travailler en autonomie. Une bonne maîtrise des techniques de biologie moléculaire (culture bactérienne, extraction d'ADN, électrophorèse, PCR, ...) et des connaissances en microbiologie sont requises.

Bibliographie :

- (1) Laureys D. and De Vuyst L. (2014). Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Appl Environ Microbiol.* 80(8): 2564–2572.
- (2) Lopitz-Otsoa F, Rementeria A, Elguezabal N, Garaizar J. (2006). Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Rev Iberoam Micol.* 23(2):67-74.
- (3) Debailly, R., Lavelle, C. and Schultz, E. (2018). Conserver un aliment vivant. Entretien et circulation d'un ferment : le cas du Kéfir. *Techniques et Culture "Le temps des aliments"* N°69:180-183.
- (4) Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M. A., & Vogel, R. F. (2011). The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology*, 151(3), 284–8.
- (5) Nalbantoglu U, Cakar A, Dogan H, Abaci N, Ustek D, Sayood K and Can H. (2014). Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiol.*;41:42-51.

Ce stage peut-il se poursuivre par une thèse ? :

OUI