

FERMENTATION OF *KIVUGUTO*, A RWANDESE TRADITIONAL MILK: SELECTION OF MICROBES FOR A STARTER CULTURE

Reçu le 25/04/2012 – Accepté le 08/11/2012

E. KARENZI^{1,2*}, R. D. DAUPHIN¹, A. MASHAKU², L. MAJAD³, B. MUNYANGANIZI² AND P. THONART¹

1 University of Liège, Gembloux Agro Bio Tech, Gembloux, Belgium

2 National University of Rwanda, Huye, Rwanda

bioindus.gembloux@ulg.ac.be ; eugene.karenzieg@doct.ulg.ac.be

Résumé

390 souches bactériennes ont été isolées à partir de quatre échantillons du lait *kivuguto*. Les isolats ont été sélectionnés par des méthodes phénotypiques et des techniques moléculaires par la PCR et le séquençage de l'ADNr 16S et / ou de la région intergénique 16S-23S ADNr (ITS). L'acidification du lait et la croissance dans des conditions environnementales extrêmes ont aussi été examinées pour les souches pré-sélectionnées. Des essais de fermentation avec des souches mixtes ont été effectués pour identifier les formulations microbiennes qui produisent du lait similaire au *kivuguto*. Afin de détecter des défauts organoleptiques et plus particulièrement l'apparition d'amertume, chaque lait formulé a été conservé sous réfrigération pendant 24 jours pour évaluer la durée de vie. Au cours de ces analyses, les bactéries identifiées sont les suivantes: *Lactococcus lactis* (souches CWBI-B1466 et CWBI-B1469) et *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (souches CWBI-B1467 et CWBI-B1465) et *Leuconostoc pseudomesenteroides* (souches CWBI-B1468, des CWBI-B1470 et CWBI-B1471). Un *Leuconostoc* sp. a montré sa tolérance à un faible pH 2.5, à une concentration élevée en chlorure de sodium (jusqu'à 6,5%) et était résistante à une température élevée (55°C). Ces expériences ont montré que le *kivuguto* coagule en 8 heures à 30°C. Trois formulations de lait produit en utilisant des souches mixtes ont donné de bons résultats. La meilleure formulation suivant le critère goût et la stabilité sous réfrigération (35 jours) a été réalisée par un mélange de deux *Leuconostoc* spp. et *Lactococcus lactis*. Ces souches donnent au *kivuguto* ses propriétés caractéristiques.

Mots clés: *kivuguto*, séquençage, *Lactococcus*, *Leuconostoc*

Abstract

A total of 390 bacterial strains were isolated from four *kivuguto* samples. Isolates were screened by phenotypic methods and molecular techniques using the PCR and sequencing of 16S rDNA and/or 16S-23S rDNA intergenic transcribed spacer (ITS) region. The rate of milk acidification and ability to grow under extreme environmental conditions were also examined for pre-selected isolates. Fermentation assays with mixed strains were performed to identify microbial formulations that produced milk similar to *kivuguto*. Such formulated milk was stored at 4°C on 24 days for shelf-life analysis to detect any organoleptic defect. Bacteria identified in *kivuguto* included *Lactococcus lactis* (strains CWB-B1466 and CWBI-B1469) and *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (strains CWBI-B1467 and CWBI-B1465) and *Leuconostoc pseudomesenteroides* (T) (NRIC177) (strains CWBI-B1468, CWBI-B1470 and CWBI-B1471). One *Leuconostoc* sp. grew at low pH 2.5, in high sodium chloride concentration (up to 6.5%) and was resistant to heat (55°C). Fermentation experiments showed that *kivuguto* coagulates in 8 hours at 30°C. Three milk formulations produced using mixed strains gave good results. The best-tasting and longest shelf-life (35 days) *kivuguto* was produced by a mixture of two *Leuconostoc* spp. and *Lactococcus lactis*. These strains give *kivuguto* its characteristic properties.

Keywords: *kivuguto*, sequencing, *Lactococcus*, *Leuconostoc*

ملخص

تم عزل 390 سلالة بكتيرية من أربع عينات من حليب *kivuguto*. تم إنتقاء هذه العزلات بواسطة طرق الدراسة المظهرية والتقنيات الجزيئية عن طريق ال PCR وتسلسل rDNA-S16 أو بين الجينات منطقة S23-S16 rDNA (ITS). وبحث أيضا تحمض الحليب والنمو في الظروف البيئية القاسية للسلالات المختارة. أجريت تجارب تخمر مع سلالات مختلطة لتحديد الصيغ الميكروبية التي تنتج حليب مماثل ل *kivuguto*. للكشف عن العيوب الحسية وخصوصا ظهور الحرارة، تم تخزين كل صيغ الحليب تحت التبريد لمدة 24 يوما لتقييم مدة الحياة. في هذه التحليلات، البكتيريا التي تم تحديدها هي: *Lactococcus lactis* (سلالات B1466-CWBI و B1469-CWBI)، *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (سلالة B1467-CWBI و B1465-CWBI) و *Leuconostoc pseudomesenteroides* (سلالة B1468 - CWBI، B1470-CWBI، و B1471-CWBI). واحد من *Leuconostoc* sp. أظهر سماحية لانخفاض الرقم الهيدروجيني (2.5) و نسبة عالية من كلوريد الصوديوم (زيادة تصل إلى 6.5%). وكانت مقاومة لهرجات الحرارة المرتفعة (55 درجة مئوية). أظهرت هذه التجارب أن تخثر *kivuguto* تم في 8 ساعات عند 30 درجة مئوية. ثلاث صيغ من الحليب المنتج باستخدام سلالات مختلطة كانت ناجحة واستنتج أن أفضل صيغة من حيث معيار الذوق والاستقرار تحت التبريد (35 يوما) بواسطة مزيج بين إثنين من *Lactococcus lactis* و *Leuconostoc* spp. هذه السلالات تعطي لحليب *kivuguto* خصائصه المميزة.

الكلمات المفتاحية: *kivuguto*، الطرق المظهرية، PCR، تحديد التسلسل، rDNA-S16، S23-S16، rDNA (ITS)، التخمر، *Lactococcus*، *Leuconostoc*