

Dorrit WOUTERS

Wereldwijd worden diverse groenten en fruit onderworpen aan fermentatie omdat fermentatie niet alleen hun houdbaarheid verlengt, maar ook eindproducten oplevert die algemeen gewaardeerd worden voor hun typische sensorische eigenschappen. Bovendien kan de ontwikkeling van nieuwe gefermenteerde groenten en fruit bijdragen tot productdiversificatie en -innovatie, wat zou kunnen helpen om hun marktposities te versterken. Het merendeel van alle groenten- en fruitfermentatieprocessen berust nog steeds op spontane fermentaties. Toch is de interesse voor het toepassen van starterculturen aan het toenemen, om zo de controleerbaarheid over het proces en de eindproducten te verbeteren en ook om nutritionele, sensorische, technologische en/of gezondheidsvoordelen te introduceren. Voor zuurkool, kimchi, pickles en olijven, alle geproduceerd op industriële schaal, bestaan gedetailleerde inzichten in de fermentatiemicrobiologie, terwijl slechts een gering aantal studies zich richt op het uitgebreide gamma aan gefermenteerde groenten en fruit dat geproduceerd wordt op kleine schaal of op huishoudniveau.

Deze studie had in de eerste plaats als doel te bepalen of dezelfde micro-organismen overheersen tijdens verschillende groentenfermentaties, of of specifieke micro-organismen in verband kunnen gebracht worden met bepaalde groenten. Hiervoor werd een grondige studie van traditionele, Roemeense groentenfermentaties en Belgische preifermentaties uitgevoerd. De fermentatie van prei was van bijzonder belang aangezien prei de op een na belangrijkste vollegrondsgroente is in België. De fermentatie hiervan werd onderzocht als een innovatieve benadering voor de valorisatie van prei, in het bijzonder van de groene bladeren die doorgaans beschouwd worden als afvalmateriaal als gevolg van hun beperkte toepassingsmogelijkheden in vergelijking met de witte preischachten. De multifasische analyse van deze fermentaties, die microbiologische en gerichte metabolietanalyses omvatte, onthulde dat de melkzuurbacteriesoorten (MZB-soorten) *Lactobacillus (para)brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei* en *Leuconostoc mesenteroides* de frequentst voorkomende micro-organismen waren, onafhankelijk van de gebruikte rauwe grondstoffen. Daarnaast vertoonden deze groentenfermentaties een driestapsfermentatiepatroon, waarvan de beginfase gekarakteriseerd werd door de aanwezigheid van *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, gisten en een brede MZB-soortdiversiteit, gevolgd door een tweede fase met een beperktere MZB-soortdiversiteit en dan een finale fase, vaak overheerst door *Lb. (para)brevis* en *Lb. plantarum*.

Het tweede deel van deze studie behandelde de ontwikkeling van een startercultuur voor het uitvoeren van gecontroleerde preifermentaties. Als de heersende MZB-soorten tijdens diverse groenten- en fruitfermentaties waren *Lb. plantarum*-, *Lb. sakei*- en *L. mesenteroides*-stammen veelbelovende kandidaatstarterculturen. Van verschillende stammen behorende tot deze drie species en subclusters binnen de (GTG)<sub>5</sub>-PCR-fingerprints van genomisch DNA van alle beschikbare isolaten vertegenwoordigend, werd een stam van elk species geselecteerd door middel van laboratoriumfermentaties in een nieuw ontwikkeld preisapmedium op basis van groeisnelheid, verzuringscapaciteit, koolhydraatconsumptie en eindmetaboliet- en aromaproductie. Bijkomende laboratoriumfermentaties met de drie geselecteerde stammen (de diacetylproducerende *Lb. plantarum* IMDO 788 en de snelgroeïende en sterkverzurende *Lb. sakei* IMDO 1358 en *L. mesenteroides* IMDO 1347), zowel tijdens mono- als cocultuurfermentaties, verschaftte een nauwgezette karakterisering van hun kinetisch gedrag en hun onderlinge interacties. De daaropvolgende toepassing van *Lb. plantarum* IMDO 788 alleen, *Lb. sakei* IMDO 1358 alleen en de combinatie van *Lb. plantarum* IMDO 788 en *L. mesenteroides* IMDO 1347 als starterculturen voor eigenlijke preifermentaties onthulde dat de gemengde startercultuur het meest succesvol was, vermits met deze startercultuur gefermenteerde prei van goede microbiële en sensorische kwaliteit

verkregen werd. Daarnaast werd *Lb. plantarum* IMDO 788 gebruikt als startercultuur voor traditionele, Roemeense groentenfermentaties, wat resulteerde in de overheersing van de toegevoegde startercultuur en een versnelling van het fermentatieproces. Om secundaire fermentatie door gisten, als gevolg van hoge restconcentraties aan koolhydraten, te vermijden, zou het nuttig kunnen zijn om een heterofermentatieve MZB-soort, zoals *Lb. brevis*, toe te voegen aan de startercultuurformuleringen.

Het derde deel van deze studie richtte zich op de sensorische eigenschappen en de aanvaardbaarheid door de consument van gefermenteerde prei als een nieuw gefermenteerd groentenproduct, om de mogelijke marktintroductie van dit product te evalueren. Over het algemeen werden de gefermenteerde witte preidelen verkozen boven de gefermenteerde groene preidelen, voornamelijk omwille van de taatheid en droogte van deze laatste. Toch leverde de fermentatie van beide preidelen samen, al dan niet gebruik makend van een startercultuur, aanvaardbare gefermenteerde prei op, waarbij tevens nog steeds een groot deel van de groene preidelen gevaloriseerd werd.

Worldwide, many different vegetables and fruits are subjected to fermentation, as fermentation not only prolongs their shelf-lives, but also delivers end-products that are widely appreciated for their typical sensory properties. Furthermore, the development of new fermented vegetables and fruits could contribute to product diversification and innovation, which may help to strengthen their market positions. The majority of all vegetable and fruit fermentation processes still relies on spontaneous fermentation. However, the application of starter cultures is getting increased interest as to improve the control of these processes and the quality of the end-products, as well as to introduce nutritional, sensorial, technological, and/or health advantages. Detailed insights into the fermentation microbiology are available for sauerkraut, kimchi, pickles, and table olives, which are all produced on industrial scale, whereas only few studies focus on the diversity of fermented vegetables and fruits produced on small scale or at household level.

In the first place, this study set out to determine whether the same microorganisms prevail during different vegetable fermentations or if specific microorganisms can be associated with certain vegetables. Therefore, a thorough study of traditional Romanian vegetable fermentations and Belgian leek fermentations was carried out. The fermentation of leek was of particular interest, as leek is the second most important field crop in Belgium. Its fermentation was investigated as an innovative approach to valorize leek, in particular its green leaves that are mostly considered as waste materials, owing to their restricted applications in comparison with the white leek shafts. The multiphasic analyses, encompassing microbiological and metabolite target analyses, of these fermentations revealed that the lactic acid bacteria (LAB) species *Lactobacillus (para)brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei*, and *Leuconostoc mesenteroides* were the most frequently occurring microorganisms, independent of the raw materials used. Furthermore, these vegetable fermentations showed a three-step fermentation pattern, of which the initial phase was characterized by the presence of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, yeasts, and a wide LAB species diversity, followed by a second phase with a more restricted LAB species diversity, and then a final phase often prevailed by *Lb. (para)brevis* and *Lb. plantarum*.

The second part of this study dealt with the development of a starter culture to perform controlled leek fermentations. As the prevailing LAB species during various vegetable and fruit fermentations, *Lb. plantarum*, *Lb. sakei*, and *L. mesenteroides* strains were promising candidate starter cultures. Out of several strains belonging to these three species and representing subclusters within the (GTG)<sub>5</sub>-PCR banding patterns of genomic DNA of all isolates available, one strain of each of these species was selected on the basis of growth rate, acidification capacity, carbohydrate consumption, and end-metabolite and aroma production via laboratory fermentations in a newly developed leek juice medium. Additional laboratory fermentations with the three selected strains (the diacetyl-producing *Lb. plantarum* IMDO 788 and the fast-growing and deep-acidifying *Lb. sakei* IMDO 1358 and *L. mesenteroides* IMDO 1347), both during mono- and co-culture fermentations, provided a meticulous characterization of their kinetic behavior and mutual interactions. Subsequent application of *Lb. plantarum* IMDO 788 solely, *Lb. sakei* IMDO 1358 solely, and the combination of *Lb. plantarum* IMDO 788 and *L. mesenteroides* IMDO 1347 as starter cultures for actual leek fermentations revealed that the mixed starter culture was the most successful, as with this starter culture fermented leek of good microbiological and sensorial quality was obtained. In addition, *Lb. plantarum* IMDO 788 was used as a starter culture for traditional Romanian vegetable fermentations, which resulted in the prevalence of the added starter culture and an acceleration of the fermentation process. However, to avoid secondary fermentation by yeasts, owing to high residual carbohydrate concentrations, the addition of a

heterofermentative LAB species, such as *Lb. brevis*, to the starter culture formulations could be helpful.

The third part of this study focused on the sensory aspects and the consumers' acceptance of fermented leek as a new fermented vegetable product to evaluate its possible market introduction. In general, the fermented white leek parts were chosen over the fermented green leek parts, mainly owing to the toughness and dryness of the latter. Yet, the fermentation of both leek parts together, whether or not using a starter culture, delivered acceptable fermented leek, at the same time still valorizing a portion of the green leek parts.