

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
FACULTE DES SCIENCES DE NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIE



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de
MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par : CHAKOU Rima

BESSEDIK Khadidja

Thème

Etude de quelques caractères technologiques des souches de *Leuconostoc* isolées à partir du lait de chèvre et de chamelle.

Devant le jury :

- M^{me}. BEN AISSA Atika M.C.A Présidente UKM Ouargla
- M^{lle}.DJELLOUL DAOUADJI Soumia M.A.A Examinatrice UKM Ouargla
- Mr .BOURICHA M'hamed M.A.A Encadreur UKM Ouargla

Année universitaire : 2017/2018

Remerciement

Au début et avant tout, le remerciement et louange à allah tout puissant, qui nous a guidés sur le chemin droit tout au long de notre travail et nous a inspiré aux justes réflexes car sans lui rien n'est possible et ce travail n'aurait pas abouti.

*Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudee et toutes nos reconnaissances à monsieur **BOURICHA M'hamed**, directeur de ce mémoire pour son aide précieuse, nous le remercions vivement pour ses conseils, sa disponibilité, sa contribution efficace et ses encouragements et surtout sa patience et son soutien qui ont grandement contribué à mener à terme ce mémoire.*

*Nous remercions également Madame **BEN AISSA Atika** d'avoir acceptée la présidence du jury de notre travail, C'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous.*

*Nous tenons à remercier Mademoiselle **DJELLOUL DAOUADJI Soumia** d'avoir acceptée d'examiner notre mémoire.*

Nous remercions aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire du département de Biologie. Nos remerciements vont également à nos enseignants qui nous ont accompagnés pendant notre cursus universitaire.

Nous tenons à remercier tous le personnel de l'Université de Kasdi Merbah-Ouargla de nous avoir aidés à réaliser ce projet. Merci infiniment pour les efforts fournis.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

À mes chers parents qui ont fait preuve de beaucoup de patience et de sacrifice qu'ils trouvent ici un modeste témoignage de mon indéfini tendresse... il y a tant d'amour et de générosité dans vos âmes.

Chère mère j'avoue vraiment que tu été pour moi la lumière qui me guide mes routes et qui m'emmène aux chemins de la réussite.

Cher père je me rappelle toujours de tous les moments où tu m'à poussé à travailler et à réussir.

À mes frères, Oussama, Hamza, Zakaria et Mohamed.

Pour chacune de la famille Bessedik, Belmahdi.

À mes amies, Soulef, Kenza, Imane, Wafa.

Et mes proches.

Khadija

Dédicace

*Il m'est très difficile de dédier ce travail tant sont nombreux les proches,
amies ou famille.*

*Cependant, je tiens à commencer par les êtres les plus chères
au monde :*

A ma chère et adorable pour son amour et ses sacrifices ma mère

A mon père qui m'a beaucoup soutenu, et qui m'a donné le meilleur

*A ma chère sœur Meriem et les chères frères Mounir, Abd albari, Mossaab
et Akram, je leur souhaite tout le bonheur durant leur vie.*

A mes très chères grandes mères et mon grand père

A mes oncles et mes tantes

*A toute la famille de **CHAKOU***

*A mes très chères amies : Meriem, Dounia, Oum koulthoum, Chahinez,
Sara, Soumia, Asma, Hala, Maimona, Houda, Salma, Afaf, Karima.*

A tous mes collègues

A tous ceux que je porte dans mon cœur

Je dédie ce modeste travail

A tous, je dis merci

Rima

Sommaire

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Introduction

Chapitre I

Généralité

1. Généralité sur le lait	1
2. Composition du lait	1
3. Microorganismes du lait	1
3.1. Microorganismes indigènes	2
3.2. Microorganismes de contamination	2
3.3 Levures et moisissures	2
3.4 Virus	3
3.5 Parasites	3
4. Bactéries lactiques	3
4.1. Définition	3
4.2. Habitat	4
4.3. Classification des bactéries lactiques	4
4.4. Intérêt biotechnologique des bactéries lactique	5

Généralité sur le genre Leuconostoc

I. Historique	6
II. Définition	6
III. Classification	8
V. Caractères des Leuconostoc	9
V.1. Caractères bactériologiques	10
V.2. Caractères métaboliques	10
IV. Intérêt technologique des Leuconostoc	10

Chapitre II

Matériel et méthode

1. Lieu de l'étude	12
2. Provenance des échantillons	12

3. Milieux de culture utilisés	12
4. Préparation des dilutions	13
5. Isolement et purification	13
5.1. Isolement	13
5.2. Purification	13
6. Pré-identification des isolats	13
6.1. Coloration de Gram	13
6.2. Test de recherche de la catalase	14
7. Conservation des isolats	14
8. Tests physiologiques	15
8.1. Croissance à différentes températures	15
8.2. Résistance à la salinité	15
8.3. Croissance à différents pH	15
9. Tests biochimiques	15
9.1. Recherche de type fermentaire	15
9.2. Hydrolyse de l'arginine	16
9.3. Test de dégradation des sucres	16
10. Tests technologiques	17
10.1. Production des exopolysaccharides	17
10.2. Mis en évidence de l'activité protéolytique	17
10.3. Mis en évidence de l'activité lipolytique	17
10.4. Production des substances aromatiques	18
Résultats et discussion	
1. Isolement et purification	19
1.1. Isolement	19
1.2. Purification	19
2. Pré-identification	20
2.1. Coloration de Gram	20
2.2. Test de recherche de la catalase	21
3. Tests physiologiques	21
3.1. Croissance à différentes températures	22
3.2. Résistance à la salinité	22
3.3. Croissance à différents pH	22
4. Tests biochimiques	23

4.1. Recherche de type fermentaire	23
4.2. Hydrolyse de l'arginine	23
4.3. Test de dégradation des sucres	24
5. Tests technologiques	25
5.1. Production des exopolysaccharides	25
5.2. Mis en évidence de l'activité protéolytique	26
5.3. Mis en évidence de l'activité lipolytique	27
5.4. Production des substances aromatiques	28
Conclusion	29
Annexe	30
Références bibliographiques	34

Liste des tableaux

Tableau 1: compositions moyennes du lait de différentes espèces	1
Tableau 2: flore indigènes du lait	2
Tableau 3: Classéfication des bactéries lactiques selon le type fermentaire	5
Tableau 4: Classéfication des Leuconostoc selon le type de sucre à fermenter	9
Tableau 5: Tableau représentant les résultats des tests physiologiques.	21
Tableau 6: Les caractères biochimiques et morphologiques des isolats.	24
Tableau 7: Le profil de dégradation des sucres par les souches de Leuconostoc.....	25

Listes des figures

Figure 1: Schéma représentant l'arbre phylogénique des bactéries lactiques y compris des genres apparentés.....	4
Figure 2: Image de Leuconostoc: (A) Observation de Leuconostoc sur microscope optique, (B) Observation de Leuconostoc sur microscope électronique.	7
Figure 3: Arbre montrant les relations phylogénétiques entre les espèces de Leuconostoc selon leur séquence de l'ARNr 16s.....	8
Figure 4: Aspect macroscopique des cultures bactériennes des souches de Leuconostoc ensemencées en profondeur sur MRS.V	19
Figure 5: Aspect des souches pures des Leuconostoc sur bouillon MRS.....	19
Figure 6: Aspect macroscopique des souches pures des Leuconostoc sur gélose MRS	20
Figure 7: Observations microscopiques des souches isolées après une coloration de Gram à grossissement x100.	20
Figure 8: Résultat du test de catalase (test négatif)	21
Figure 9: Type fermentaire des souches isolées (Leuconostoc) sur bouillon MRS.	23
Figure 10: Résultat de test ADH (Hydrolyse de l'arginine).....	24
Figure 11: L'aspect des colonies productrices de dextrane sur gélose MSE.	26
Figure 12: Test de la recherche de l'activité protéolytique sur gélose M17 additionné au lait qui a révélé à un résultat négatif	27
Figure 13: Test de la recherche de l'activité lipolytique sur gélose MRS additionné au tween 80 et tween 20 qui a révélé à un résultat négatif.	28
Figure 14: La production des substances aromatiques révèle par l'apparition des colonies de couleur bleu sue gélose KMK.....	28

Résumé

Les bactéries lactiques sont connues par leur capacité de produire des composés actifs lors de leur croissance à savoir les acides organiques qui acidifient le milieu. Leur utilisation pour une application industrielle donnée est déterminée par leurs propriétés fonctionnelles et technologiques.

Le présent travail est une contribution d'étudier les *Leuconostoc* du lait cru de chèvre et de chamelle. Après un isolement de cinquante souches par l'utilisation d'un milieu sélectif, les isolats ont subi une purification qui a conduit à obtenir quatorze souches, des tests physiologiques et biochimiques différents ont été réalisés par la suite pour identifier ces bactéries et évaluer leur potentiel technologique pour l'usage dans l'industrie laitière. Cette étude nous a permis de révéler la capacité de production de dextrane chez les *Leuconostoc mesenteroïde* sub.sp qui va donner aux aliments une meilleure texturation. Les résultats de l'évaluation des aptitudes technologiques indiquent que l'ensemble des souches ne présentent pas un bon pouvoir protéolytique qui a un effet négatif lors de la fermentation du lait, ni un pouvoir lipolytique, ceci rend ces bactéries très exigeantes, L'ensemble de ces résultats souligne l'importance de l'utilisation de ce genre dans l'industrie Agro-Alimentaire pour améliorer le domaine de fabrication laitière.

Mots clés: *Leuconostoc*, bactéries lactiques, agro-alimentaire, industrie laitière, test technologique.

ملخص

تعرف البكتيريا المصنعة لحمض اللاكتيك بقدرتها على إنتاج مركبات نشطة أثناء نموها كالأحماض العضوية التي تعمل على جعل الوسط حامضي.

هذا العمل هو عبارة عن دراسة أحد أنواع هذه البكتيريا والذي يسمى *Leuconostoc* حيث تم عزله من الحليب الخام للماعز والإبل، بعد عزل خمسين سلالة عن طريق استخدام أوساط زراعة انتقائية، بعد ذلك خضعت هذه السلالات لعملية تنقية أدت للحصول على أربع عشر سلالة نقية، كما أجريت فيما بعد اختبارات فسيولوجية وبيوكيميائية مختلفة لتحديد ومعرفة إمكانات هذه البكتيريا المعزولة حتى يتم استعمالها في صناعة الألبان والأجبان. سمحت لنا هذه الدراسة بالكشف عن قدرة إنتاج الديكستران (متعدد السكر) من طرف

Leuconostoc mesenteroïde sub.sp والذي سيعطي للأغذية المصنوعة تركيبة أفضل.

تشير نتائج تقييم القدرات التكنولوجية لهذه السلالات المعزولة إلى عدم قدرتها على هدم واستعمال البروتينات ولكنها خاصة مرغوبة لأن هدمها له تأثير سلبي إذ يؤدي إلى ظهور طعم مر غير مرغوب فيه أثناء عملية تخمر الحليب، كما أنها لا تملك أيضا القدرة على هدم واستعمال الدهون، كل هذا يجعلها بكتيريا متطلبة.

الكلمات المفتاحية: *Leuconostoc*، بكتيريا حمض اللاكتيك، الصناعة الغذائية الزراعية، الصناعة اللبنية، الاختبارات التكنولوجية.

Abstract

Lactic bacteria are known for their ability to produce active compounds during their growth depend on the organic acids which acidify the medium. Their use for some given industrial application is determined by their functional and technological properties.

The present work is a contribution to study the *Leuconostoc* of goat's and Camel's raw milk. After the isolation of fifty strains by the use of a selective medium, the isolates underwent a purification which led to fourteen strains, different physiological and biochemical tests were subsequently carried out to identify these bacteria and evaluate their technological potential to be used in the dairy industry.

This study has allowed us to reveal the dextran production capacity in *Leuconostoc mesenteroid* sub.sp that will give food a better texturing. The results of the assessment of the technological abilities indicate that all the strains do not have a good proteolytic power which has a negative effect during the fermentation of the milk, or a lipolytic power, this makes these bacteria very demanding.

These results highlight the importance of using this genus in the food industry to improve the dairy manufacturing field.

Keyword: *Leuconostoc*, Lactic bacteria, technological test, dairy industry, food industry.

Introduction

Le lait est un produit indispensable à l'équilibre de l'alimentation humaine. Il contient de nombreux nutriments qui fortifient notre organisme : protéines, glucides, lipides, sels minéraux, vitamines et oligo-éléments. Le lait fut de tous temps un symbole de fertilité, de richesse et d'abondance. Il représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (Huyghebaert, 2006).

Les aliments, les micro-organismes et l'être humain ont vécu une longue et intéressante association, qui s'est développée bien avant l'histoire écrite. Depuis les années 1900, la production d'aliments fermentés et par conséquent la demande de cultures starter de bactéries lactiques (BL) a été largement accrue.

Pourtant, les additifs alimentaires sont nécessaires pour la conservation des produits alimentaires et l'amélioration des propriétés organoleptiques, leurs utilisation présente un certains danger. Ceci a conduit à l'utilisation des BL capables de produire des substances antimicrobiennes, des polymères de sucre, des édulcorants, des composés aromatiques, des enzymes utiles, ou nutraceutiques, où des BL avec des propriétés favorisant la santé appelées souches probiotiques afin de remplacer les additifs chimiques par des composés naturels, en même temps, fournir au consommateur de nouveaux produits alimentaires (Leroy, 2004).

Parmi les bactéries lactiques utilisées dans les industries laitières, on peut citer le genre de *Leuconostoc* qui est très utilisé en technologie fromagère pour son aptitude à produire le CO₂; certaines espèces de *Leuconostoc* ont été proposées pour la bioconservation des produits alimentaires contre les flores pathogènes et/ou d'altération (Hansal, 2015).

L'objectif de notre travail est d'isoler des bactéries lactiques indigènes dans le lait de chèvre et le lait de chamelle, et effectuer une étude technologique de ces souches afin de pouvoir les utiliser ultérieurement pour améliorer la fabrication des produits laitiers tels que les fromages.

1. Généralité sur le lait

Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères tels que la chèvre, la vache et la chamelle (Carole et *al.*, 2002).

Il est le résultat de transformation des protéines végétales en protéines animales, de couleur blanc et opaque et de composition complexe (Hansal, 2015), caractérisée par une richesse en substances nutritives (Bekhouche, 2006) fournissant à l'homme et aux jeunes animaux naissants une alimentation presque complet (Belarbi, 2011).

2. Composition du lait

Depuis longtemps, le lait a été reconnu par ses nombreux avantages pour la santé, il représente un milieu nutritionnel assez important et équilibré et ceci grâce à sa richesse en éléments nutritifs (calcium, protéines, glucides, vitamines...) et en eau (Ghaoues, 2011), (Chethouna, 2011).

Les composants du lait varient d'une espèce à l'autre, ils peuvent être classés dans le tableau suivant:

Tableau 01: compositions moyennes du lait de différentes espèces: (Belarbi, 2015).

Animaux	Eau (%)	Matière grasse%	Protéines (%)	Glucide (%)	Minéraux (%)
Chèvre	87,0	3,8	2,9	4,4	0,9
Chamelle	87,6	5,4	3,0	3,3	0,7
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8

3. Microorganismes du lait

Le lait forme un milieu biologique favorable pour la croissance des différents microorganismes à cause de sa forte teneur en eau, de son pH voisin, de sa neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (Djoughri, Madani, 2015).

3.1. Microorganismes indigènes

Se sont les microorganismes qui peuvent être présentés dans le lait au cours de leur sortie du pis d'un animal sain, leur pourcentage ne devrait pas dépasser 5000UFC (unités formant colonies). Cette flore originale joue un rôle important en ce qui concerne les caractéristiques organoleptiques du lait (Belarbi, 2015).

Tableau 02: flore indigènes du lait (Carole et *al.*, 2002).

<i>Microorganismes</i>	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>Lactococcus</i>	<10
Bactéries à gram négatif	<10

3.2. Microorganismes de contamination

Divers microorganismes de notre environnement (entérobactéries, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebactéries*, coliformes, *Clostridium*, ...) pouvant contaminés le lait, et ceci est causé soit par une flore d'altération qui provoque des défauts sensoriels ou contribuer à réduire le temps de conservation de lait, soit par une flore pathogène qui conduit à l'apparition des maladies après la consommation de lait (Carole et *al.*, 2002), (Mami, 2013).

3.3. Levures et moisissures

Se sont des cellules eucaryotes appartenant à la flore fongique, elles peuvent présentés dans le lait cru ou en poudre et même dans les autres produits laitiers (Chethouna, 2011).

- Levures

Ils ont une taille de 10 à 40 fois plus grosses que celle de bactéries, ils sont présentés sous une forme arrondie ou ovale (Carole et *al.*, 2002), aérobies facultatives et forment un mycélium au cours de leur développement (Djoughri et *al.*, 2015). Il y a des levures qui sont utiles en industrie laitière car ils peuvent contribuer à la formation d'arômes dans le lait. Par contre, il existe d'autres levures nuisibles (*Kluyveromyces*

lactis, *Kluveromyces fragilis*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces lactis*) qui peuvent provoqués des altérations des produits (Chethouna, 2011).

- Moisissures

Les moisissures se diffèrent à celles des levures par leur taille qui est 10 fois plus grosse. Il peut avoir des moisissures utilisables dans le domaine industriel (fabrication de fromage) tels que le *Penicillium camemberti* et *Penicillium roqueforti*, en revanche il y a d'autres qui sont pathogènes dont la plus part sont toxigènes tels que *Aspergillus flavus* (Chethouna, 2011), (Djoughri et al., 2015).

3.4. Virus

Le lait cru joue un rôle essentiel dans la transmission ou la dissémination des virus tels que *Entérovirus*, *Adénovirus* ..., ils peuvent résistés au traitement thermique et donc ils ont sans doute la capacité de provoquer une contamination massive du lait (Baaziz et al., 2009).

3.5. Parasites

Ils peuvent être excrétés dans le lait puis véhiculés et transmis à l'homme ce qui conduit à l'apparition des affections parasitaires. Parmi les parasites qui peuvent être présentés dans le lait il y a *Toxoplasma gondii*, Kystes amibiens ... (Baaziz et al., 2009).

4. Bactéries lactiques

4.1. Définition

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène des microorganismes (Labioui et al., 2005), ce sont des cellule vivantes, autonome et procaryotes (Doleyres, 2002), sont des bactéries à Gram+, anaérobies partiellement tolérantes à l'oxygène, ne produisant pas en générales des spores, se présentant sous formes de coques ou de bâtonnets (Larpen,1989) et ayant pour principale fonction de fermenter les sucres en acide lactique(transformant les hydrates de carbone en acide lactique) (Ait Belghanaoui, 2006).

Elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase. En plus de ça ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent pas d'indole ni d'hydrogène sulfureux (Delaglio et *al.*, 1994).

4.2. Habitat

Les bactéries lactiques sont des ubiquistes, elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme le lait et les produits laitiers, la viande, les végétaux et les poissons, les bactéries lactiques sont normalement présentes dans la peau, et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale où elles accomplissent de nombreuses fonctions et créent un environnement hostile (milieu acide grâce à la production d'acide lactique) (Douault et Corthier, 2000), (Benadi, 2012).

4.3. Classification des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques représentent un groupe hétérogène et ceci non seulement de côté métabolique mais aussi de côté morphologique, d'habitat ..., cette propriété d'hétérogénéité confère à ce genre de bactéries une diversité permettant de dresser une taxonomie (Hansal, 2015). La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen qui est basée sur plusieurs caractères (morphologiques, physiologiques et biochimiques) (Belarbi, 2011).

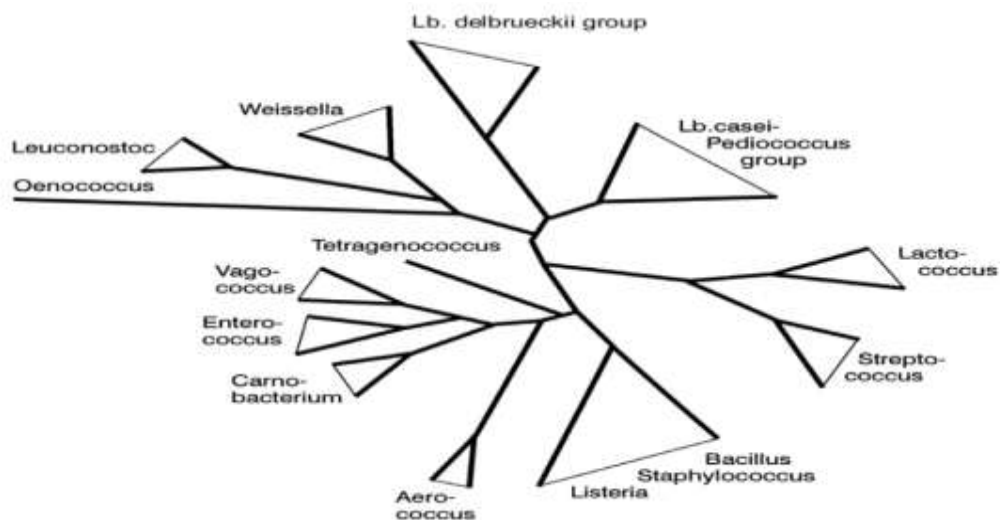


Figure 01: Schéma représentant l'arbre phylogénétique des bactéries lactiques y compris des genres apparentés (Axelsson, 2004)

Trois groupes des bactéries lactiques ont été apparus en se basant sur les différents modèles de fermentation du glucose résumé dans le tableau suivant (McLeod et al., 1995).

Tableau 03: classification des bactéries lactiques selon le type fermentaire.(McLeod et al., 1995):

- Le groupe I	Homofermentaire	<i>Lactobacillus</i>
- Le groupe II	Hétérofermentaire	<i>Leuconostoc, Oenococcus, Weissella</i> et quelques espèces du genre <i>Lactobacillus</i>
- Le groupe III	Intermédiaire entre le groupe I et II (pouvant réaliser les deux types de fermentation)	<i>Enterococcus, Lactococcus, Streptococcus</i> et quelques espèces du genre <i>Lactobacillus</i>

4.4. Intérêt biotechnologique des bactéries lactique

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans le domaine agro-alimentaire, essentiellement dans les procédés de fermentations afin de répondre aux exigences de croissantes des consommateurs en produits alimentaires moins traités et exempts de préservatifs chimiques (Berguiga, Khemis, 2014). Leur utilisation par l'homme a été depuis long temps, elles interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires: saumurage des légumes, boulangerie, saurissage des poissons, des viandes et des salaisons. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et é la production de composés aromatiques (Labioui et al., 2005).

Elles contribuent à l'amélioration de la qualité des produits fermentés en y développant certaines caractéristiques organoleptiques, sans provoquer des altérations sur le goût ni l'odeur, et en augmentant la durée de conservation de ces aliments. Cette conservation est conférée par la production de plusieurs métabolites ayant une activité antimicrobienne tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutérine, le diacétyle et les bactériocines (Berguiga, Khemis, 2014).

I. Historique

Leuconostoc est un genre de bactéries lactiques. Leur première description a été proposée en 1878, par Van Tieghem. Les Espèces De Ce Genre possèdent une forme d'une chaîne avec un aspect gommeux et dépourvus des pigments. L'isolement des premières souches de *Leuconostoc* -produisant du dextrane à partir de saccharose présenté dans le milieu- provient des accidents apparus dans les sucreries (Brahimi, 2015).

En 1912, BEIJERINC a isolé des microorganismes rassemblant à celles des *Leuconostoc* à partir du beurre et d'autres produits laitiers. Ces microorganismes ont la capacité de produire la gomme à partir du saccharose et ils ont pris le nom de *Leuconostoc dextranicus*. En 1918, EVAN trouva que les *Leuconostoc* ont le caractère hétérofermentaire, donc ils sont capables de produire de CO₂ à partir du glucose, et celui-ci a été confirmé par HUCKER en 1928 (Devoyod, Poullain, 1988).

En 1919, une étude sur les bactéries lactiques a été réalisée par ORLA-JENSEN dans laquelle le genre *Betacoccus* a été séparé du genre *Streptococcus* et leur nom vient des betteraves (*Beta communis*) d'où ils ont été trouvés. Puis, ORLA-JENSEN a trouvé pour la première fois et à partir de leurs résultats qu'il y a une relation entre les *Leuconostoc* produisant du dextrane (*Betacoccus*) et certains streptocoques producteurs de l'acide lactique trouvé dans les produits laitiers. Ce genre a été séparé ensuite en deux espèces par ORLA-JENSEN, il y aura *B. arabinosaceus* et *B. bovis* (Devoyod, Poullain, 1988).

II. Définition

L'origine du terme scientifique *Leuconostoc* est tirée du mot grec "*Leuco*" qui signifie "blanc" et "*nostoc*" veut dire "algue" (Brahimi, 2015).

Se sont des bactéries lactiques qui prend la forme de cocci et se trouvent en paire ou en chaînette (Devoyod et al., 1988), ils sont hétérofermentaire qui produisent de l'acide lactique, de l'éthanol et du CO₂ (Mechai, 2009).

Les *Leuconostoc* sont des Gram+, aéroanaérobies facultatives, asporulées, immobiles, chimioorganotrophes qui ne se multiplient pas que dans un milieu

additionné à des facteurs de croissances et des acides aminés avec la présence d'un sucre fermentescible (Brahimi, 2015).

La croissance des *Leuconostoc* est toujours lente conduit à l'apparition des colonies lenticulaires et mise en évidence par la formation d'une viscosité sur la surface du milieu. Ce genre des bactéries ne peuvent pas se développés que sous une température entre 25°C et 30°C (Maghnia, 2011).

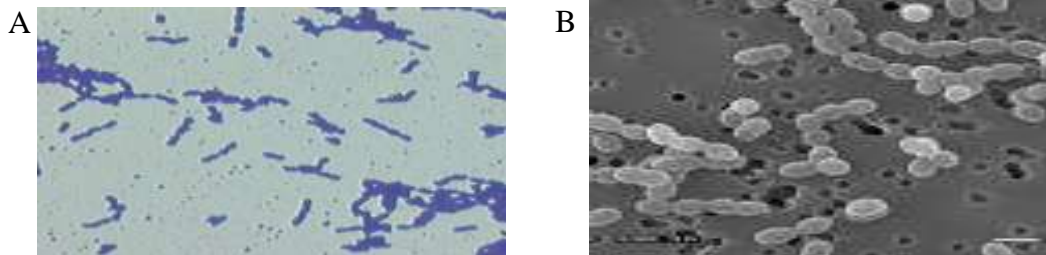


Figure 02: Image de *Leuconostoc*: (A) Observation de *Leuconostoc* par microscope optique, (B) Observation de *Leuconostoc* par microscope électronique.

Les *Leuconostoc* peuvent être isolés à partir plusieurs denrées alimentaire tels que le lait et leurs produits, les légumes et essentiellement la betterave, les fruits et d'autres aliments fermentés (Boumediene, 2013). Pour une sélection facile de ces bactéries il est préférable d'utiliser la vancomycine dans le milieu de croissance, car ce genre des bactéries lactiques ont une résistance au vancomycine (Idder, 2014).

III. Classification

Les *Leuconostoc* représentent un groupe de bactéries lactiques, ils regroupent 15 espèces (Hansal, 2015):

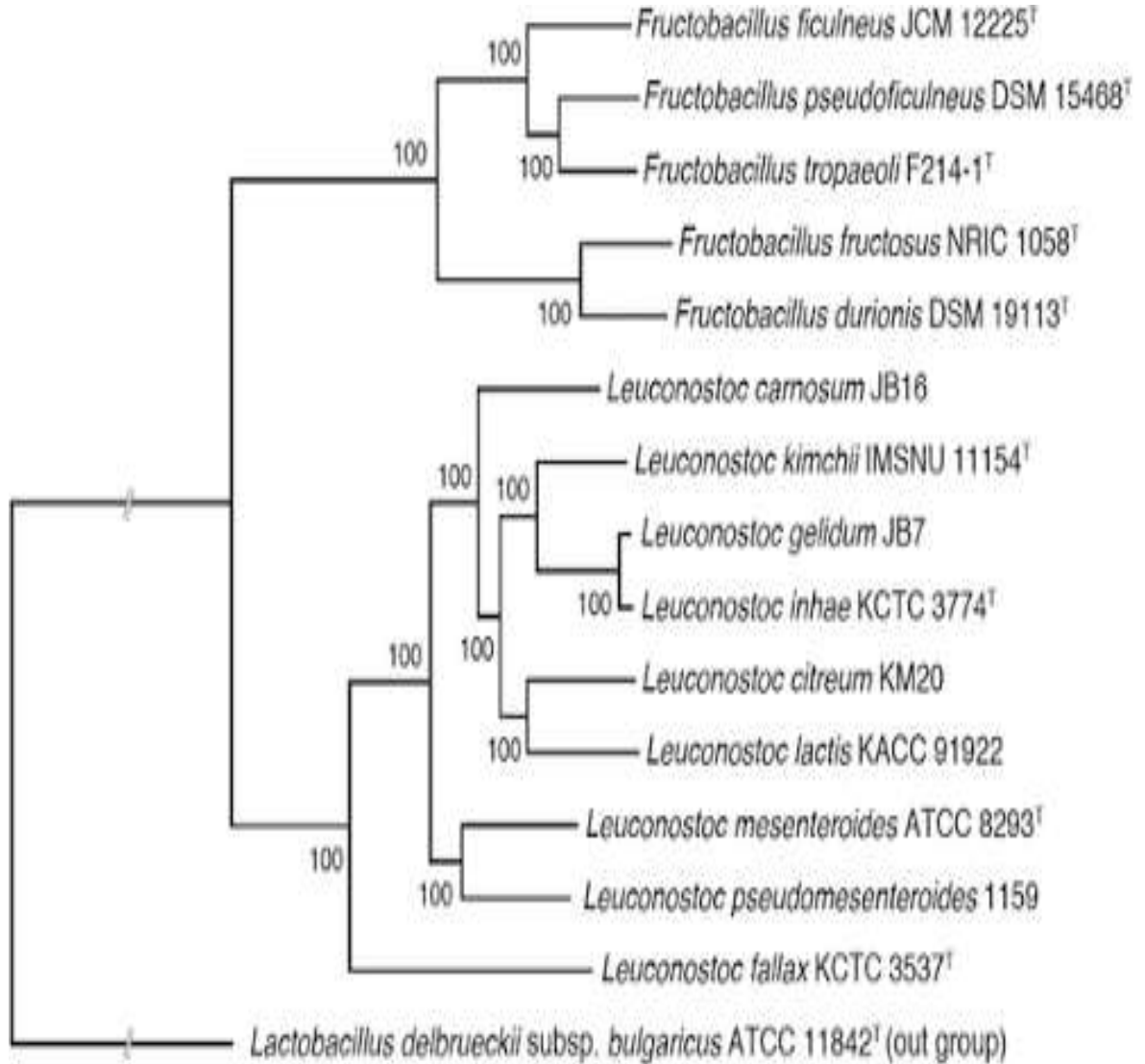


Figure 03: Arbre montrant les relations phylogénétiques entre les espèces de *Leuconostoc* selon leur séquence de l'ARN_r 16s (Hansal, 2015).

Hucker et Pederson (1931) ont étudiés 80 souches d'origines très diverses et ils ont classés le genre *Leuconostoc* en trois groupes selon le tableau suivant (Devoyod, Poullain, 1988).

Tableau 04: classification des *Leuconostoc* selon le sucre fermenté (Devoyod, Poullain, 1988):

-Le groupe I ne fermentant pas le saccharose	<i>Leuconostoc citrovorus</i>
- Le groupe II fermentant le saccharose et les pentoses	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
- Le groupe III fermentant le saccharose mais non les pentoses	<i>Leuconostoc dextranicus</i>

Au cours des dernières années et en 1984, plusieurs espèces ont été reclassées à l'intérieur de ce genre où les trois espèces de *Leuconostoc mesenteroides* (*Ln. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Ln. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris*) ont été reclassées en sous-espèces de *Leuconostoc mesenteroides*, aussi de nouvelles espèces y ont été incluses (Brahimi, 2015).

En 1993, le groupe *Leuc. Paramesenteroides* et certains lactobacilles hétérofermentaire atypique ont été reclassé en un nouveau genre appelé *Weisella*.

En 1995, *Leuc. oenos* a été reclassé dans le genre *Oenococcus* tels que *O. oneni*.

En 2006, *Leuc. Argentinim* a été reclassé comme étant le synonyme de *Leuc. lactis*.

En 2008, quatre espèce de *Leuconostoc* (*Leuc. durionis*, *Leuc. ficulneum*, *Leuc. pseudoficulneum*, *Leuc. fructosum*) ont été affectés à un nouveau genre appelé *Fructobacillus* (Brahimi, 2015).

V. Caractères des *Leuconostoc*

L'identification des caractéristiques spécifiques aux bactéries lactiques y compris les *Leuconostoc* a été basée sur des caractères phénotypiques et ceci est pour isoler ces bactéries, ainsi pour établir une distinction entre les espèces ou les sous-espèces (Hannachi, 2008).

Parmi ces caractères il existe: la tolérance à l'oxygène, la résistance à la salinité dans des différentes concentrations, la capacité de produire du CO₂ et des substances aromatiques, le pouvoir fermentatif et la production des exopolysaccharides (Gurtler, Mayall, 2001).

V.1. Caractères bactériologiques

La croissance des *Leuconostoc* laitiers ne se fait que à un pH voisin au celui du lait et ne se développent plus à un pH acide (MC Donald et *al.*, 1990), sous une température optimale située entre 25°C et 30°C et elles sont mésophiles, elles sont hétérofermentaire en produisant en plus de l'acide lactique avec l'éthanol et CO₂ (Thompson et *al.*, 1994),(Garvie, 1984).

Elles n'ont plus des cytochromes, ni catalase et ne dégradent pas de l'arginine, elles n'ont pas la capacité de réduire le nitrate. Aussi, elles sont non hémolytiques et ne présentent pas un risque pathogène (Brahimi, 2015).

V.2. Caractères métaboliques

Les *Leuconostoc* peuvent fermentés le glucose en donnant de l'éthanol (Lees et *al.*, 1976) et n'ont pas la capacité de métaboliser le citrate comme seule source de d'énergie, elles ont besoin d'un sucre fermentescible (Kempler et *al.*,1980).

Elles ont le pouvoir de produire des exopolysaccharides tel que le dextrane qui est un homopolysaccharide produits par les *Leuconostoc* en utilisant le saccharose comme substrat spécifique et en absence de ce sucre ces bactéries continuent de croître mais perdent leur capacité à fabriquer des polysaccharides (Robyt et *al.*, 1978).

Cette propriété de production de dextrane à partir du saccharose est un caractère spécifique pour différencier l'espèce de *Leuconostoc* (Garvie , 1984).

IV. Intérêt technologique des *Leuconostoc*

Les *Leuconostoc* représentent le troisième groupe important de bactéries lactiques puisqu'ils ont une grande importance et jouent un rôle essentiel dans plusieurs fermentations industrielles (Ogier et *al.*, 2008) comme celui des saucisses fermentées, des légumes et des produits fermentés à base de céréales et des produits laitiers (tels que le beurre, crème, lait frais et crus, fromages) (Guiraud, 2003).

Se sont des hétérofermentaire, qui produisent de l'acide lactique, de l'acétate ou l'éthanol et du dioxyde de carbone à partir la dégradation du lactose. Ces bactéries sont considérées comme des ingrédients technologiques essentiels dans la formation des ouvertures dans le fromage bleu à pâte persillée comme le Roquefort par la production de CO₂. Ces ouvertures facilitent le développement, la croissance et l'installation correcte de *Penicillium roqueforti* (Devoyod et *al.*, 1988).

Il est possible d'obtenir une saveur caractéristique grâce à l'utilisation de ce genre des bactéries lactiques, aussi la texture et la saveur d'une grande variété des produits fermentés sont améliorés (Hannachi, 2008) en particulier par l'intervention de *Ln.mesenteroides* et *Ln. lactis* qui métabolisent le citrate et produisent des composés aromatiques qui contribuent à la texture de fromage tel que diacétyl et acétoïne (Vedamuthu, 1994).

Leur métabolisme du citrate et des oses participent à l'aromatisation des produits laitiers fermentés. Leur production d'acide acétique, de diacétyl et de CO₂, en inhibant les bactéries psychrotrophes, permettrait d'augmenter la durée de vie de fromages (Idder, 2014). D'autres espèces de *Leuconostoc* peuvent induire une altération par production de composés indésirables (amines biogènes) dans les aliments, ou dextrane dans les processus de fermentation du sucre (Hemme et *al.*, 2004).

1. Lieu de l'étude

Ce travail a été effectué au niveau des laboratoires de microbiologie appliqué et de biochimie appliquée de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Université de Kasdi Merbah Ouargla). Dans lesquels différentes analyses ont été réalisées à fin d'étudier quelques caractères technologiques des souches *Leuconostoc* isolées à partir du lait de chèvre et de lait de chamelle (Djoughri, Madani, 2015). La dite expérience a été effectuée durant la période allant du 02 Février au 17 Mai 2018.

2. Provenance des échantillons

Pour effectuer l'isolement des bactéries, deux échantillons de lait ont été prélevés, le premier est un lait de chamelle provient de la localité de Hassi ben Abdullah une commune de la wilaya d'Ouargla de sud de l'Algérie. Le deuxième est un lait de chèvre provient de la daïra de Touggourt de la même wilaya.

Avant la collecte des échantillons de lait, les mamelles des deux animaux sont lavées à l'eau savonneuse, rincé avec l'eau de javel puis séché avec un coton hydrophile stérile (Ghozlane, 2012). Il est très important d'éliminer le premier jet de lait pour réduire le nombre des microorganismes dans le canal mamelle (Pierre, 2004), tandis que le deuxième jet de lait a été directement recueillie dans des flacons stériles de 250 ml qui ont été par la suite placés dans une glacière, afin d'assurer une température de 4°C au cours du transport jusqu'au laboratoire.

3. Milieux de culture utilisés

MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960 (MRS solide et liquide)).

M16.BCP: Thomas, 1973.

MSE (Mayeux, Sandine et Elliker, 1962).

KMK (Kempler et Mc Kay, 1980).

M17.

MRS.BCP.

MRS+tween (80, 20).

4. Préparation des dilutions

Agiter pendant dix secondes le flacon contenant l'échantillon du lait ; prélever aseptiquement à l'aide d'une micropipette stérile 1ml de lait et l'introduire dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique, agiter bien, puis transférer 1ml de ce premier tube dans le deuxième, de la même façon des dilution décimales successives sont effectuées (jusqu'à 10^{-3}) (Ghozlane, 2012).

5. Isolement et purification

5.1. Isolement

Les techniques d'isolement sont basées sur l'obtention d'un clone, c'est-à-dire d'une culture issue d'une seule cellule. Nous avons employé dans notre étude un milieu de culture sélectif pour les *Leuconostoc*, afin d'inhiber et ralentir la croissance des autres genres de bactéries Gram positif: Milieu MRS gélosé à pH 6,8 additionné à un antibiotique la vancomycine (2mg/ml). En fin un ensemencement on masse a été réalisé à partir des trois dilutions. Toutes les boites sont incubées à 30°C jusqu'à croissance (Ghozlane, 2012).

5.2. Purification

Elle consiste à effectuer des repiquages successifs sur milieu MRS liquide et MRS solide utilisés alternativement jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes (Kanza et *al.*, 2011), la purification des souches sur milieu gélosé se fait par la méthode des stries (Ghozlane, 2012).

6. Pré-identification des isolats

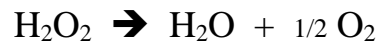
6.1. Coloration de Gram (Larpen, 1990)

La coloration de gram est considérée comme une coloration classique dans le domaine de microbiologie, elle consiste à distinguer entre deux types différents des bactéries par rapport leurs constituants de la paroi bactérienne, plus précisément, par rapport à l'épaisseur du peptidoglycane, parmi ceci il y a des bactéries Gram positif et d'autre bactéries Gram négatif.

Après la purification des bactéries, il est nécessaire de passer premièrement par cette étape de coloration de Gram, elle est effectuée sur des colonies ont des caractères morphologiques des souches recherchées, ceci est pour prendre la première idée sur le type de ces bactéries.

6.2. Test de recherche de la catalase

L'activité catalytique se traduit par l'intervention d'une enzyme respiratoire appelé **catalase** qui permet de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) et oxygène (O₂).



La recherche de la catalase se fait par la mise en contact d'une colonie bien isolée avec une goutte d'eau oxygénée: un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase (Guiraud, 1998). Seules les bactéries à catalase négatif sont retenues.

7. Conservation des isolats

La conservation d'une souche pure a comme but de maintenir ces souches pures à conserver viable, dans cette étude, deux types de conservation ont été réalisés, la première est dite conservation court terme (courte durée) dont laquelle un ensemencement a été effectué sur gélose MRS incliné et incubé à 30°C, après l'appariation des colonies les cultures ont été maintenues sous une température de 4°C. La deuxième conservation est une conservation longue terme (longue durée), elle a été faite à partir des cultures sur milieu liquide et après une centrifugation à 8000 tours pendant 10 min les cellules ont été récupérées, un rinçage par l'eau distillée stérile a été fait avec une autre centrifugation. Le surnageant a été éliminé et un milieu de culture de conservation (03 ml de glycérol avec 06 ml de bouillon MRS) a été ajouté sur le culot, cette conservation a été effectuée en tubes eppendorf à une température de -20°C (Badis *et al.*, 2005).

8. Tests physiologiques

Les souches isolées ont été testées à différentes conditions hostiles pour vitrifier leur résistance à ces conditions qui sont les suivants:

8.1. Croissance à différentes températures

Les souches pures ont étéensemencées sur bouillon MRS et incubées à différentes températures 04°C, 15°C, 30°C, 37°C, 45°C pendant 05 jours, la croissance à 45°C révèle des bactéries thermophiles. (Drici *et al.*, 2009)

8.2. Résistance à la salinité

La croissance des isolats purs en présence de différentes concentrations de NaCl, à savoir (3% NaCl, 6% NaCl, 9% NaCl, 18% NaCl) ont étéensemencé puis incubé à 30C° pendant 2 à 3 jours, la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble. (Ghozlane, 2012).

8.3. Croissance à différents pH

Après avoir une culture jeune des isolats (culture de 24h à 30C°), ces derniers ont étéensemencées dans un milieu MRS liquide à: pH 3.2, pH 4.2, pH 6.8, pH 9.6 et incubé à 30C° pendant 2 à 3 jours (Guessas et Kihal, 2004).

9. Tests biochimiques

9.1. Recherche de type fermentaire

L'objectif de ce test est de connaître le type de métabolisme (hétérofermentaire ou homofermentaire) par lequel une transformation de substrat carboné est faite, aussi pour savoir la production du gaz à cause d'une dégradation du glucose (Hansal, 2015).

Deux bouillons d'MRS différents ont été préparés, l'un contient le lactose comme sucre et l'autre contient le glucose. Dans des tubes et avec une cloche de Durham, le milieu a été inoculé avec la souche a étudié et incubé à 30°C pendant 24h. L'apparition du gaz dans la cloche montre que le métabolisme est hétérofermentaire (Hariri *et al.*, 2009).

9.2. Hydrolyse de l'arginine

La dégradation d'arginine en ammoniac se fait par l'intervention d'un enzyme appelé **Arginine dihydrolase** (ADH) et l'identification des souches qui ont cet enzyme se fait sur milieu M16.BCP qui est un milieu d'étude des métabolismes protidiques (Thomas, 1973).

Il existe des bactéries lactiques pouvant acidifiées le milieu en utilisant le lactose et elles apparaissent sous forme des colonies jaunâtres et n'ont pas la capacité de dégrader l'arginine, par contre d'autres bactéries lactiques sont capables d'utiliser l'arginine ce qui rend le milieu alcalinisé et la couleur des colonies est blanchâtre, le pH de l'indicateur coloré demeure inchangé (Hansal, 2015).

La réalisation de ce test a été fait par un ensemencement à partir des cultures jeunes sur gélose M16.BCP, puis incubation à 30°C pendant 48h (Hansal, 2015).

9.3. Test de dégradation des sucres

La vérification de la capacité de dégradation des sucres de ces souches isolées a été effectuée sur bouillon MRS.BCP dépourvu d'extrait de viande et sans sucre (Badis et *al.*, 2005).

Les sucres utilisés dans ce test sont les suivants: Mannose, Xylose, Arabinose, Ribose, Lactose, Maltose, Fructose, Saccharose, Galactose, Glucose. Des solutions sucrés ont été préparé de 01g de chaque sucre avec 10 ml de l'eau distillé stérile, le tout a été homogénéisé puis stérilisé à 100°C pendant 15 min au bain marie.

Trois cultures jeunes de chaque souche ont été préparées, puis une centrifugation de chaque culture dans un tube d'ependorf a été effectuée à 8000 tours pendant 10 min. Le culot a été récupéré et additionnée à l'eau distillée stérile puis une autre centrifugation a été réalisée pour éliminer les restes de milieu de culture et obtenir un culot cellulaire pur; ce rinçage est réalisé deux fois consécutives, et après, 01 ml de bouillon MRS.BCP a été ajouté sur le culot récupéré de dernière centrifugation et bien homogénéisé (Hansal, 2015).

L'ensemencement a été réalisé dans des microplaquettes contenant des puits, chaque ligne verticale comporte un sucre qui sera utilisé par différentes souches, chaque

puits contient 200 µl de MRS.BCP avec 100µl de solution sucré et 100µl de suspension bactérienne, le tout a été recouvrir par une couche de huile de paraffine.

Les microplaquettes ont été incubées à 30°C pendant 72h et vérifié chaque 24h (Guessas, 2006).

10. Tests technologiques

10.1. Production des exopolysaccharides

Les exopolysaccharides (Dextrane) sont des substances d'intérêt technologique et pharmaceutique joue un rôle très important en industrie Agroalimentaire (Mayeux *et al.*, 1962)

Leur production est mise en évidence sur milieu MSE gélosé contenant une concentration adéquate de saccharose et une source d'azote (peptone), du phosphate des olégo-minéraux et des facteurs de croissance. Les souches de culture jeune à testé ont étéensemencées en stries sur la gélose qui est déjà coulée et solidifier. Après incubation à 30C° pendant 48h, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition de colonies larges, visqueuse et gluantes (Leveau *et al.*, 1991).

10.2. Mise en évidence de l'activité protéolytique

Les bactéries lactiques peuvent acquérir tout les besoins en acides aminés par l'hydrolyse des protéines présentant dans le lait et ceci grâce à une fermentation reposant sur un système protéolytique. Le métabolisme d'hydrolyse des protéines affecte la croissance des cellules et également fait endommager la saveur des fromages qui vont être fabriqué par la suite conduisant à une accumulation de peptides qui peut causer l'émergence d'un goût amer (Zergoune, 2015).

Ce test a été réalisé sur milieu M17 additionnée au lait écrémé (20 ml du lait pour 100 ml de milieu liquéfié), l'ensemencement se fait par touche sur la surface de milieu gélosé, l'incubation est pendant 24-48h à 30°C.

10.3. Mis en évidence de l'activité lipolytique

Pour détecter la production des enzymes lipolytiques, l'activité lipolytique a été étudiée sur milieu MRS additionnée au Tween 80 et Tween 20 à part comme substrat lipidique (Sierra, 1957).

Une stérilisation de Tween est nécessaire pendant 30 min à 100°C au bain marie, ensuite, dans un flacon 02 ml de Tween 80 a été additionnée au 100 ml du milieu liquéfié et dans un autre flacon 02 ml de Tween 20 a été ajouté sur 100 ml du milieu, les souches isolées ont été ensemencées par la suite sur la surface de gélose et ceci se fait par touche, l'incubation est pendant 24-48h à 30°C (Hansal, 2015).

10.4. Production des substances aromatiques

La production des substances aromatiques est une propriété spécifique aux bactéries lactiques dont laquelle le lactose, le citrate, les acides aminés ou les matières grasses sont utilisés comme substrat. Cette capacité de produire l'arome est très importante lors de la fermentation des laits ou l'élaboration des fromages frais, crèmes et beurre (Dhouib, 2017).

L'étude de ce caractère a été réalisée sur gélose KMK (Kempfer et *al.*, 1980) dont la seule source de carbone est le citrate qui va alcaliniser le milieu après leur utilisation par les bactéries. L'ensemencement est effectué par stries sur la surface à partir d'un milieu solide et incubé à 30°C durant 24h (Guiraud, 1998).

1. Isolement et purification

1.1. Isolement

L'isolement a été effectué sur gélose MRS additionné au 2mg/ml de vancomycine, ceci nous a permis d'observer que des colonies des *Leuconostoc* à cause de la sélectivité du milieu. L'étude de l'aspect macroscopique montre que toutes les souches cultivées donnent des colonies de petite taille, blanchâtre, ronde ou lenticulaire (figure 04).



Figure 04: Aspect macroscopique des cultures bactériennes des souches de *Leuconostoc* ensemencées en masse sur MRS.V

1.2. Purification

- ✓ **Sur Milieu liquide:** après 24h d'incubation, la croissance en milieu MRS liquide se traduit par l'apparition du trouble au fond du tube avec une zone transparente de 5 mm d'épaisseur à la surface du milieu liquide (Figure 05).



Figure 05: Aspect des souches pures des *Leuconostoc* sur bouillon MRS.

- ✓ **Sur Milieu solide:** l'observation directe des colonies sur milieu MRS solide après 24h d'incubation permet de déterminer les caractéristiques macroscopiques des

souches de *Leuconostoc* en montrant que toutes les colonies purifiées ont une petite taille, rondes, aussi elles ont la même couleur qui est blanchâtre (Figure 06).

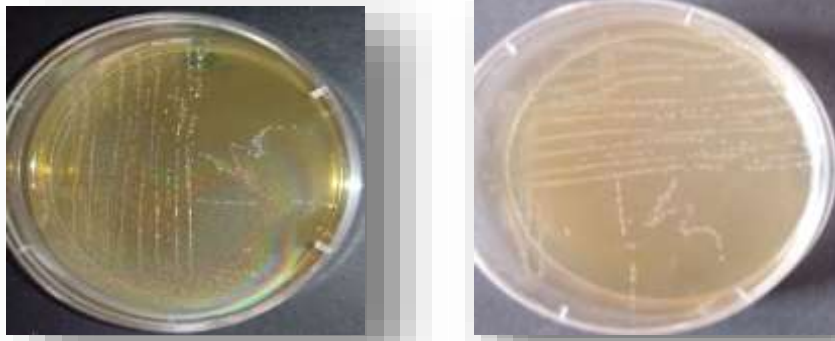


Figure 06: Aspect macroscopique des souches pures des *Leuconostoc* sur gélose MRS

2. Pré-identification

2.1. Coloration de Gram

L'observation microscopique après une coloration de Gram a révélé que la plupart des cellules se présentent sous forme de cocci à l'exception de quelques souches de forme bacille. Elles sont positives à la coloration de Gram, et les tailles des cellules étaient différentes avec des structures en paire ou en chaînette.

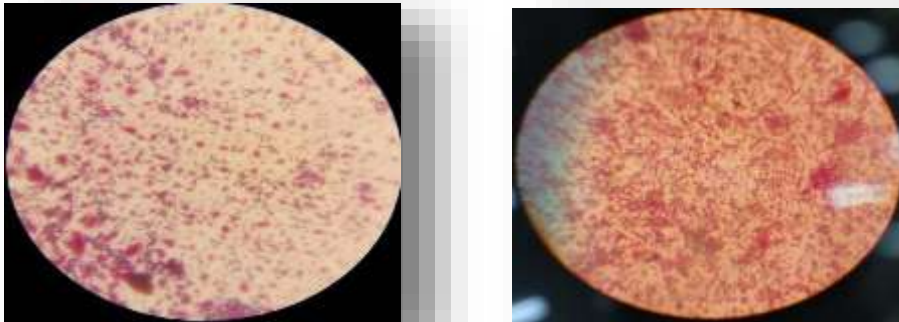


Figure 07: Observations microscopiques des souches isolées après une coloration de Gram à grossissement x100.

Après cette observation microscopique, toutes les souches qui ont été Gram positif sous une forme cocci ont été gardé (Hansal, 2015).

2.2. Test de recherche de la catalase

Pour une identification des souches de *Leuconostoc*, il est nécessaire de passer par la recherche de la catalase, l'apparition de bulles de gaz après le contact de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) avec la colonie à testée montre que le test est positif et ceci à cause de la production de l'enzyme catalase (Bourgeois et Larpent, 1996).

Les souches qui ont été testées ne possèdent pas l'enzyme catalase donc le test est négatif sauf quelques exceptions qui n'ont été pas retenus. L'absence de cette enzyme est un caractère spécifique aux bactéries lactiques (*Leuconostoc*).



Figure 08: Résultat du test de catalase (test négatif)

3. Tests physiologiques

Les résultats des tests physiologiques qui ont été réalisés sur les isolats sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 05: Tableau représentant les résultats des tests physiologiques.

Souches	Croissance à différentes T°				Croissance à différentes [NaCl] (%)				Croissance à différentes pH			
	04°C	15°C	37°C	45°C	03	06	09	18	3.2	4.2	6.8	9.6
S1	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S2	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S3	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S4	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S5	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-

Souches	Croissance à différentes T°				Croissance à différentes [NaCl] (%)				Croissance à différentes pH			
	04°C	15°C	37°C	45°C	03	06	09	18	3.2	4.2	6.8	9.6
S6	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S7	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S8	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S9	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S10	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S11	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S12	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S13	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
S14	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-

3.1. Croissance à différentes températures

Les souches qui ont été testées n'ont pas poussés ni à 04°C ni à 45°C, par contre il existe une croissance sous une température de 15°C et de 37°C ceci montre que ces bactéries sont mésophiles.

3.2. Résistance à la salinité

Les souches qui ont été testées pour savoir leur résistance aux différentes concentrations de sel on été résistante à 03% de NaCl mais elles n'ont été pas poussées à 06% ou plus.

3.3. Croissance à différents pH

Après une incubation à 30°C, les résultats qui ont été obtenus montrent qu'il n'y a pas une croissance des souches à pH 3.2 ni à 4.2 ni à 9.6, sauf que au pH 6.8 qu'il aura une croissance bactérienne.

4. Tests biochimiques

4.1. Recherche de type fermentaire

Ce test constitue la première clé d'identification phénotypique des bactéries lactiques leur objectif est de faire différencier entre les souches hétérofermentaire et les souches homofermentaire (Hansal, 2015).

Après une incubation à 30°C, les résultats montre qu'il y a l'apparition d'une trouble au fond des tubes ensemencés avec un dégagement de gaz de CO₂ au niveau de la cloche, donc ces souches étudiées sont des hétérofermentaire.

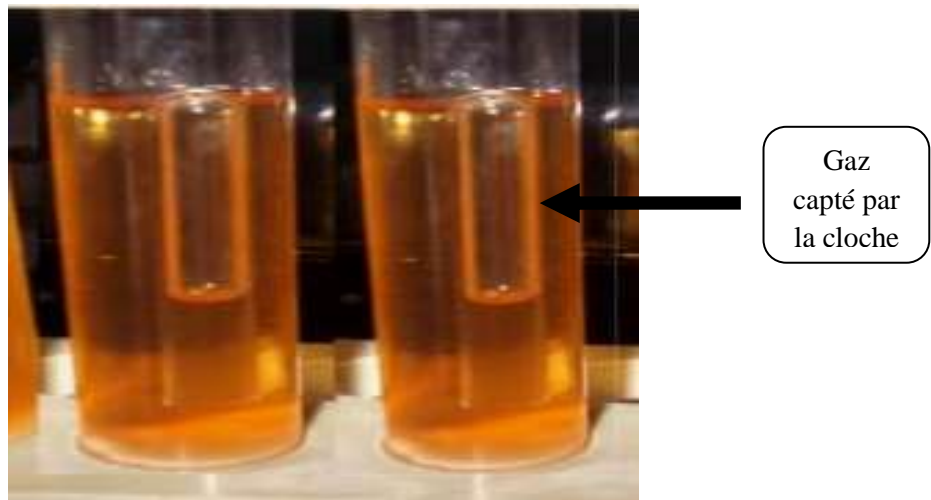


Figure 09:Type fermentaire des souches isolées (*Leuconostoc*) sur bouillon MRS.

la production de CO₂ par les espèces de *Leuconostoc* provient de l'hétérofermentation de lactose et de l'utilisation du citrate, dans la technologie des fromages à pates persillées, le citrate stimule la croissance des leuconostocs et augmente l'émission de CO₂ (Hemme et *al.*, 2004).

4.2. Hydrolyse de l'arginine

D'après Khaddid et *al.*, 2006, la fermentation du lactose par les bactéries rend le milieu acide avec une coloration jaune en présence de l'indicateur de pH (BCP). La présence de l'enzyme ADH conduit à la formation des substances alcalines qui vont provoqués le virage de couleur vers le violet (Hansal, 2015).

Après 48h d'incubation sur gélose M16.BCP à 30°C, on a observé l'apparition d'une coloration jaune à cause de l'acidification du milieu donc ADH- à l'exception de quelque souches.

Les souches qui n'ont pas la capacité d'hydrolysé l'arginine ont été gardés parce que les *Leuconostoc* sont ADH-.



Figure 10:Résultat de test ADH (Hydrolyse de l'arginine)

Le jaune: ADH+.

Tableau 06: Les caractères biochimiques et morphologiques des isolats.

Souche	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14
Production de CO₂	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ADH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4.3. Test de dégradation des sucres

Pour une identification des isolats on a établi un profil de fermentation de dix sucres (Mannose, Xylose, Arabinose, Ribose, Lactose, Maltose, Fructose, Saccharose, Galactose, Glucose) en utilisant le bouillon MRS.BCP sans extrait de viande et dépourvu du sucre, l'indicateur de pH dans ce milieu a été le bromocrésol, leur couleur

va tourner par la suite vers le jaune avec une acidification de milieu cela indique la dégradation des sucres par les bactéries (Hansal, 2015).

Nos résultats montrent la présence de virage de couleur de milieu vers le jaune sauf quelques exceptions donc les souches qui ont été isolées ont la capacité de se développer à partir différents source de carbone.

Tableau 07: Le profil de dégradation des sucres par les souches de *Leuconostoc*.

Souche	M	X	Ar	R	L	MI	F	S	Ga	G
S1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
S2	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
S3	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
S4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S6	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+
S7	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
S8	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
S9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S10	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
S11	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+
S12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S13	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S14	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-

5. Tests technologiques

5.1. Production des exopolysaccharides

L'incorporation de dextrane dans les produits de boulangeries en industrie alimentaire améliore la texture et le volume de pain et il est aussi utilisé comme un additif dans des plusieurs produits (Vettori et *al.*, 2012)

La production de dextrane a été vérifiée sur milieu MSE qui est sélectif pour les *Leuconostoc* dont lequel ce genre de bactéries utilisent le saccharose de milieu pour synthétiser des exopolysaccharides ce qui rend les colonies avec un aspect gélatineux (Hansal, 2015).

Après 48h d'incubation, on a observé ce caractère chez toutes les souches isolées à partir du lait cru de chèvre et de chamelle (Figure 14) ceci rend ce genre très utilisable dans l'industrie grâce à ces propriétés technologiques (épaississantes, stabilisantes et émulsifiantes) aussi l'amélioration des caractères organoleptique des produits fermentés.



Figure 11: L'aspect des colonies productrices de dextrane sur gélose MSE.

On voudrait souligner que dans ce travail, l'analyse et l'étude fonctionnelle de dextrane synthétisé par la bactérie renforce la probabilité d'intégrer nos isolats d'intérêt biotechnologique dans le domaine Agro-alimentaire.

5.2. Mise en évidence de l'activité protéolytique

L'activité protéolytique des bactéries lactiques occupe une place capitale lors de la croissance de ces dernières dans le lait et contribue fortement dans le développement des propriétés organoleptiques de différents produits laitiers fermentés (Smid et Kleerebezem, 2014). La protéolyse de caséine provoque le changement de goût et de la texture final des aliments ceci liée à une certaine lyse des cellules qui libèrent les enzymes protéolytiques interne (Alegria et al., 2013).

Cette activité se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des souches ensemencées ceci est grâce à la dégradation de la caséine (Hansal, 2015).

Toutes les souches étudiées n'ont pas poussées sur le milieu M17 additionné du lait, donc ces bactéries de *Leuconostoc* n'ont pas un Pouvoir protéolytique ce qui empêche l'émergence d'un goût amer lors de la fermentation du lait comme il était suggéré par Kanza Z, 2015. Aussi ces résultats montrent que nos souches de *Leuconostoc* sont exigeantes aux acides aminés; et malgré l'exigence des *Leuconostoc* mais elles restent très utilisées dans l'industrie agro-alimentaire grâce à leurs caractères technologiques.



Figure 12: Résultat négatif sur gélose M17 additionné du lait.

5.3. Mise en évidence de l'activité lipolytique

La saveur caractéristique des produits alimentaires peut également être due à la lipolyse comme la protéolyse dont l'incorporation d'enzymes lipolytiques et/ou protéolytiques accélère la formation d'arôme (Hollet et *al.*, 2005). Le métabolisme des acides gras conduit à la libération de nombreux composés responsables de l'arôme et de la texture tels que les esters, alcools, acides...ect. (Toldr et *al.*, 2001)

Les souches qui ont étéensemencées sur gélose MRS additionné au tween 80 et sur gélose MRS additionné au tween 20 n'ont pas présentées aucune croissance.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Hansal N, 2015** qui a montré que l'activité lipolytique est très faible chez les bactéries lactiques, ceci nécessite une source des acides gras pour la croissance des souches de *Leuconostoc*.

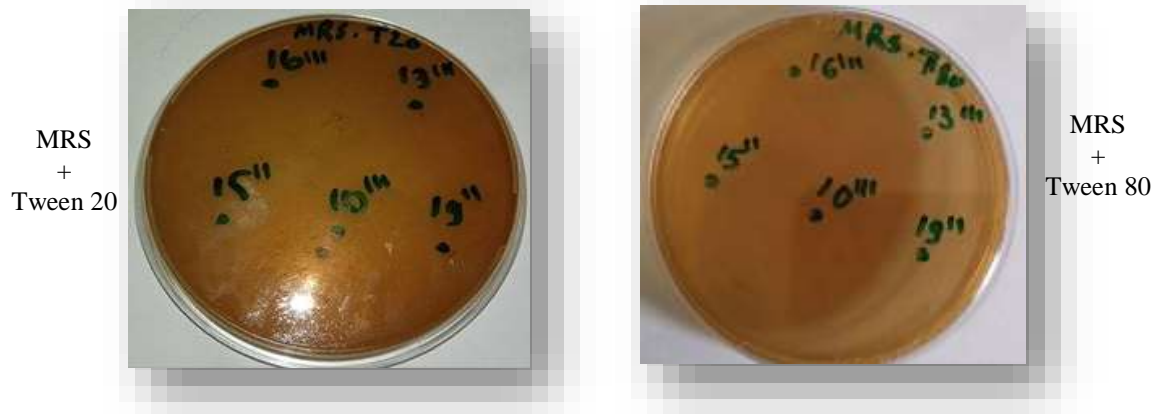


Figure 13: Test de la recherche de l'activité lipolytique sur gélose MRS additionné au tween 80 et tween 20 qui a révélé à un résultat négatif.

5.4. Production des substances aromatiques

Le métabolite de citrate permet aux bactéries lactiques d'utiliser d'autres sources de carbone pour sa croissance, de résister à des conditions acides et de libérer des composés organiques connus par leur participation dans la qualité organoleptique des produits laitiers comme le fromage en fournissant des saveurs (Gemelas *et al.*, 2014).

Les *Leuconostoc* sont utilisées dans l'industrie laitière pour leur capacité à produire le CO₂ et des substances aromatiques tel que le diacétyl et cela grâce au Co-métabolisme sucre/citrate (Bourel *et al.*, 2001), (Hemme et Foucaud-Scheunemann, 2004) cette propriété augmente leur taux de croissance et leur rendement dans des conditions acides.

Les souches qui ont étéensemencées sur gélose KMK ont la capacité de dégrader le citrate en apparaissant avec une couleur bleue, ces résultats sont similaires à celles de **Hansal, 2015**.

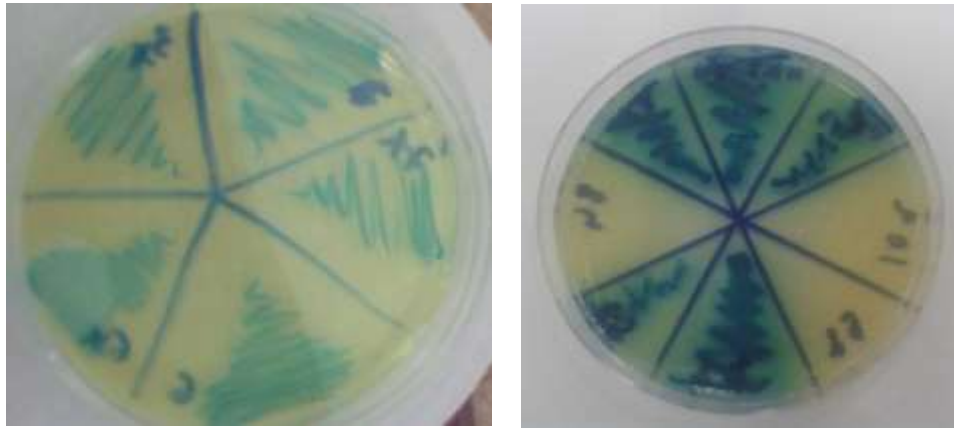


Figure 14: La production des substances aromatiques révèle par l'apparition des colonies de couleur bleu sur gélose KMK.

les leuconostocs jouent un rôle dans la production d'arômes par la production de composés ou de précurseurs, qui va participer dans l'amélioration des propriétés organoleptiques des aliments en provoquant des changements de textures et d'arôme, résulte de plusieurs voies comme l'utilisation du citrate (Hemme et *al.*, 2004).

D'après ces résultats, les leuconostocs présentent un grand intérêt biotechnologique et ceci rend ces bactéries largement utilisées dans des procédés d'élaboration de produits alimentaires. Elles sont principalement utilisées pour leurs diverses propriétés métaboliques importantes dans la fabrication d'un certain nombre de fromages. (Hollet et Liu. 2011).

Conclusion

Parmi les microorganismes qui peuvent être présents lors de la fermentation des aliments et essentiellement dans les produits laitiers on trouve les bactéries lactiques qui ont la capacité de produire des acides organiques (l'acide lactique), l'alcool et des substances aromatiques. Elles ont aussi un rôle dans la stimulation des levures, l'inhibition des microorganismes pathogènes, les propriétés probiotiques, l'amélioration de la texture des aliments.

Au cours de notre étude sur les bactéries lactiques, on a ciblé le genre *Leuconostoc*, qui a été isolé à partir du lait cru de chèvre et de chamelle et pour le sélectionner, on a utilisé un milieu sélectif (MRSv).

La réalisation des tests microbiologiques et physiologiques nous ont permis d'identifier et déterminer quatorze souches de genre *Leuconostoc*. L'étude des quelques caractères technologiques des isolats nous a montré que ces souches ne présentent pas un pouvoir protéolytique ce qui va empêcher l'apparition d'un goût amer lors de la fermentation du lait, aussi elles n'ont pas une activité lipolytique.

Les souches de *Leuconostoc* ont une grande importance dans le domaine de la fabrication laitière à cause de leur pouvoir de produire des exopolysaccharides (dextrane) qui vont donner aux aliments une meilleure texturation, aussi la production des composés aromatique est remarquable et ceci par la dégradation de citrate.

Les isolats au cours de notre étude ont une bonne performance technologique et donc pouvant être utilisée pour l'amélioration de la fabrication des produits laitiers tels que les fromages.

Annexe

Annexe 01: Les milieux de culture utilisés.

01. Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960)

Extrait de levure.....	5g
Extrait de viande.....	10g
Polypeptone.....	10g
citrate de sodium.....	2g
acétate de sodium.....	5g
Glucose.....	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0.25g
MnSO ₄	0.05g
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH 6.8

Autoclavage 120°C/ 20 minutes

02. Milieu M16 BCP (Thomas, 1973)

Extrait de levure.....	2.5g
Extrait de viande.....	5g
Peptone.....	10g
Acide ascorbique.....	0.5g
Lactose.....	2g
L-arginine.....	4g
Pourpre de Bromocrésol.....	0.05g
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH 6.8 / Autoclavage 120°C/20minutes

03. Milieu M17

Tryptone.....	2,50 g
Peptone pepsique de viande	2,50 g
Peptone papaïnique de soja	5,00 g
Extrait de levure.....	2,50 g
Extrait de viande	5,00 g
Lactose	5,00 g
Glycérophosphate de sodium	19,00 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Acide ascorbique	0,50 g
Agar-agar.....	15,00 g

pH 7

Autoclavage 120°C/ 20 minutes

04. Milieu MSE (Mayeux, Sandine et Elliker, 1962)

Tryptone.....	20g
Gélatine.....	2.5g
Extrait de levure.....	5g
Saccharose.....	100g
Glucose.....	5g
Citrate de sodium.....	1g
Azide de sodium.....	0.075g
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH 6.8

Autoclavage 120°C/20minutes

05. Milieu KMK (Kempler et Mc Kay, 1980)

Extrait de levure.....	3g
Biopolytone.....	2.5g
Glucose.....	5g
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH 6.8

Autoclavage 121°C/15minutes

06. Milieu MRS BCP

MRS (milieu liquide) moins l'extrait de viande et sans sucre.....	1000ml
Bromocrésol pourpre.....	0.025ml

pH 7

Autoclavage 120°C/20minutes

07. Eau Physiologique

Chlorure de sodium.....	8.5g
Peptone.....	0.5g
Eau distillée.....	1000ml

pH 7

Autoclavage 120°C/20minutes

Annexe 02: Technique de la coloration de Gram.

- ❖ La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette pasteur stérile) puis on étale sur 1à2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame.
- ❖ La deuxième étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytologique, et les faire adhérer à la lame).

- ❖ La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage, on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes.
- ❖ La quatrième étape, à savoir le bain d'alcool 90° (ne va traverser que la paroi de certaines bactéries (Gram-), et décolorer leur cytoplasme). Puis on rince avec de l'eau distillée.
- ❖ En fin, quelques gouttes de fuchsine sont versées sur la lame qu'on laisse agir une minute. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique.

Annexe 03: Liste de matériels utilisés.

Centrifugeuse



Bain Marie



Four pasteur



Microscope optique



Vortex



Étuve



Balance



pH mètre



Plaque chauffante

Références bibliographiques

- Ait Belghanaoui A. (2006) Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillus farciminis*) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique. Thèse pour obtenir ingénieur d'état en biologie, Contrôle de qualité et analyses.
- Alaoui Ismaili M, Guilal J, Hamama A, Saidi B, Zahar M. (2016) Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc, The International Journal of Multi-disciplinary Sciences, 14p.
- Alegria, A, Delgado, S, Florez, A-B, Mayo B. (2013) Identification typing and functional characterization of *Leuconostoc spp*, strains from traditional, starter-free cheeses, Dairy Science and Technology, 93(6), 657-673.
- Axelsson L. (2004) Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology In Lactic Acid Bacteria and Functional Aspects. Salminen S, Wright A. v, Ouwehand A. 3^e Ed, Marcel Dekker, 633p.
- Baaziz S, Benghodbane H. (2009) Les maladies transmises par le lait, Ecotoxicologie, Université Badji Mokhtar, Annaba- biologie, 128p.
- Badis A, Laoubdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2005) Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et Kabyle". Sciences et technologie, 23p, 30-37.
- Bekhouche F. (2006) Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique.2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase, 23p, 38-45.
- Belarbi F. (2011) Isolement et sélection des souches bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes: présentation générale, Microbiologie alimentaire et industriel, Mémoire de magistère, Université d'Oran Es-Senia, Oran, 129p.
- Belarbi M. (2015) Etude comparative entre la qualité Microbiologique du lait cru de vache et le Lait de chèvre, Sciences des Aliments.
- BENADI Ridha. (2012) Étude de l'effet antagoniste d'une souche lactique S93 (*Lactococcus lactis* subsp *lactis*) vis-à-vis des bactéries nuisibles. Mémoire de master en Microbiologie, Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, 122p.

- Berguiga N, Khemis I. (2014) L'utilisation des bactéries lactiques dans la fermentation industrielle, Microbiologie fondamentale et appliquée, 132p.
- Boumediene K. (2013) Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes. Magister en Biologie.
- Bourel G, Henini S, Krantar K, Oraby M, Diviés C, Garmyn D. (2001) Métabolisme sucre-citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*, lait, 81(1-2), 75-82.
- Bourgeois C-M, Larpent J-P. (1996) Microbiologie alimentaire T2; aliments fermentés et fermentations alimentaire. Ed. Technique et documentation , 523p.
- Brahimi S. (2015) Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives "AMOREDJ" fermentés, Biodiversité des micro-organismes, 203p.
- Carole-Vignola L, Jean A, Paul A, Laurent B. (2002) Science et technologie du lait, Transformation du lait, 01, Bibliothèque nationale de Canada, 657p.
- Chethouna F. (2011) Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologique du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru, 102p.
- Dellaglio Fe, de Roissart H, Torriani S, Curk M-C, Janssens D. (1994) Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Dans : H. de lcoissart 8 F. M. Luquet. Eds. Bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques, vol 1, pp: 25-116.
- Delmotte A. (1958). L'activité lipolytique microbienne décelée par la méthode de SIERRA avec référence spéciale au *M. pyogènes*. pp: 309-330.
- Devoyod J-J, Poullain F. (1988) Les *Leuconostoc*. Propriétés : leur rôle en technologie laitière. Le Lait, Laboratoire de Microbiologie laitière. INRA Editions. Jouy-en-Josas, France.
- Dhouib A. (2017) Mise en évidence de la production des substances d'intérêt technologique par quelques bactéries lactiques isolées de lait de brebis. Master en Analyses Biologiques et Biochimiques.
- Djouhri K, Madani S. (2015) Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (J'ben) : isolement et identification des bactéries lactiques, Microbiologie Appliquée.

- Douault. S, Corthier G. (2000) Effets des bactéries lactiques ingérées avec les laits fermentés sur la santé. INRA, EDP Sciences. pp : 102-104.
- Drici H, Gilbert C, Kihal M, Altan D. (2009) Atypical citrate-fermenting *Lactococcus lactis* strains isolated from dromedary's milk J. applied Microbiol. pp: 647-650.
- Fédération wallonie. (2005) La force du lait de chèvre : sa matière grasse, Nature Progrès Belgique.
- Garvie E-I. (1984) Separation of species of the genus *Leuconostoc* and differentiation of the leuconostocs from other lactic acid bacteria, Methods Microbial.
- Gemelas L, Degraeve P, Demarigny Y. (2014) The citrate mandabolism in homo- and handerfermentative lab: A selective means of becoming dominant over other microorganisms in complex ecosystems, Food and Nutrition Sciences, 5.Pp: 953-969.
- Ghaoues S. (2011) Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Magister en Sciences Alimentaires, Technologie Alimentaire.
- Ghozlane Djamilia. (2012) Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arômes (diacétyle). Mémoire de magister en Agronomie, Ecole nationale supérieur d'Agronomie El-Harrach Alger.
- Guessas B. (2006) Potentialité métabolique des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre dans le bio control des *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat d'Etat, Université d'Oran Algérie.
- Guiraud J-P. (1998) Microbiologie alimentaire, Technique et Ingénierie, Série Agroalimentaire. Eds. Dunod Paris, 652p.
- Guiraud J-P. (2003) Microbiologie alimentaire, RIA, Dunod, Paris, 650p.
- Gurtler Y, Mayall B-C. (2001) Genomic approaches to typing taxonomy and evolution of bacterial isolates, Int. J. System. Evol, Microbiol.
- Hannachi S. (2008) Inhibition des bactéries indésirables par l'activité antimicrobienne des espèces de *Leuconostoc* isolées du lait de chèvre. Magister en Microbiologie fondamentale et appliqué.
- Hansal N. (2015) Isolement, purification, identification et étude des caractéristiques biotechnologiques de *leuconostoc mesenteroides* isolé à partir

du lait cru de chèvre et de chamelle. Mémoire de magister en Microbiologie Fondamentale et Appliqué, Université d'Oran 1, 154p.

- Hariri A, Ouis N, Sahnouni F, Bouhadi D. (2009) Mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de carbone. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.
- Helist P, Korpela T. (1998) Effect of detergents on activity of microbial lipases as measured by the nitro phenyl alkanoate esters method, Enzyme and microbial technology. pp: 113-117.
- Hemme D, Foucaud Scheunemann C. (2004) *Leuconostoc*, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods. International Dairy Journal 14. INSBANA. France
- Holland, R, Liu Q-S. (2011) *Leuconostoc* sp, Lactic acid bacteria, Elsevier, Pp. 138-142.
- Huyghebaert. (2006) Stratégies des produits à base de lait cru, Bruxelles.
- Idder Z. (2014) Etude du pouvoir acidifiant des bactéries lactiques appartenant au genre *Leuconostoc*, Microbiologie.
- Janda K. (2005) The lipolytic activity of *thermomycetes lanuginosus* strains isolated from different naturel sources, International Bio deterioration & Biodegradation. pp: 55, 149-152.
- Kempler G-M, Mckay L-L. (1980) Improved medium for detection of citrate-fermenting *Streptococcus lactis* ssp diacetylactis. Appl. Environ. Microbiol.
- Larpent J-P, Larpent M-G. (1990) Mémento technique de microbiologie. Second Ed Technique et Documentaire Lavoisier.
- Lees G-J, Jago G-R. (1976) Acetaldehyde: an intermediate in the formation of ethanol from glucose by lactic acid bacteria. J. Dairy Res.
- Leroy F, Vuyst L. (2004) Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation Industry, Trends in Food Science & Technology pp: 67–78.
- Maghnia Dj. (2011) Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés traditionnels Algériens. Mémoire de Magister, Microbiologie alimentaire.
- Mami A. (2013) Recherches des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes appliqués dans les

toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de Doctorat, Microbiologie Appliquée, 203p.

- MC Donald L-C, Flemming H-P, Hanssen H-M. (1990) Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. Appl. Environ. Microbiol.
- Mcleod A, Nyquist. O-L, Snipen L, Naterstad K, Mehaia M-A. (1995) The fat globule size distribution incamel, goat, ewe and cow milk. *Milchwissenschaft*.
- Mechai A. (2009) Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques, Diplôme de Doctorat, Biochimie appliqué.
- Ogier J-C, Casalta E, Farrokh C, Saïhi A. (2008) Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. International Journal of Food Microbiology.
- Robyt J-F, Walseth T-F. (1978) The mechanism of acceptor reactions of *Leuconostoc mesenteroides* B-512 F dextransucrase. Carbohyd. Res.
- Smid E-J, Kleerebezem M. (2014) Production of aroma compounds in lactic fermentation, Annals Reviews of Food Science and Technology, 5(1), 313-326.
- Tolde F, Sanz Y, Flores M. (2001) Meat fermentation technology In: Hui, Y. H., Nip, W. K. R. R. W. Owen, A. Y. (Eds.), Meat science and application, Marcel Dekker, New York, 23, 537-561.
- Vettori M, Blanco K-C, Cortezi M, Lima C-J, Contiero J. (2012) Dextran: effect of process paramanders on production, purification and molecular weight and recent application, Diálogos & Ciência, 31, 171-186.
- ZAROOUR Kanza, BENMECHERNENE Zineb, HADADJI Miloud, Boumediene MOUSSA-BOUDJEMAA, HENNI Jamal Eddine, KIHAL Mebrouk. (2011) Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle d'Algérie. Laboratoire de microbiologie appliquée, département de biologie, faculté des sciences, université d'Oran, Bp 16. Es-Senia, 31100, Oran Algérie.
- ZAROOUR KENZA. (2015) Etude de la diversité phénotypique génotypique et aptitudes technologiques des souches de *Leuconostoc* isolées localement, Thèse de doctorat en Microbiologie Fondamentale et Appliquée, Université d'Oran1, Oran, 207p.