



UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement
مخبر الميكربولوجيا التطبيقية للاغذية للبيوطبي وللبيئة



MEMOIRE DE MASTER

Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option : MICROBIOLOGIE

Présentée par

RAHMANI Khadidja



Intitulé du Thème

***ETUDE DE LA CINETIQUE D'ACIDIFICATION EN pH ET EN ACIDE DES
BACTERIES LACTIQUES DU GENRE LEUCONOSTOC.***

Soutenu le 25-06-2014

Devant le Jury composées de :

Présidente M^{me} : Khelil. N

Professeur

Examineur M^r : Benyoub. N

Maitre assistant

Table des matières :

Dédicace.

Remercîment.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Résumé.

Introduction.

Partie 1synthse biobibliographiques

Chapitre II Bactérie lactique

I-1.Définition.....	1
I-2.Historique	2
I-3.Structure générale des bactéries lactiques.....	2
I-4. Génétique des bactéries lactiques	2
I-5.Habitat.....	3
I-5-1. Culture des bactéries lactiques	3
I-5-2. A l'état libre dans l'environnement	3
I-5-3. En association avec une hôte	3
I-6.Intérêt des bactéries lactiques.....	4
I-6.1. Aspect Médical.....	4
I.6.1.1-les Probiotiques.....	4
I-6.2.L'aspect technologique.....	7
I-6.2.1-Les levains.....	7
I-6.2.2-Utilisation des bactéries lactiques productrices de bactériocine.....	7
I-7.Classification	8

Chapitre II *leuconostoc*

II-1.Historique	10
II-2. Définition et caractéristiques.....	10

II-3.Habitat	11
II-3.1.Les fromages	11
II-3.2. Le lait et les produits laitiers	11
II-3.3. Boissons	11
II-3.4.produits végétaux fermenté et ensilage	12
II-3.5. Produits à base viande	12
II-3.6. L’homme et les animaux	12
II-4. Métabolisme des leuconostoc	13
II-5.Intérêt des Leuconostoc	17
II-5.1. Levains lactique mésophiles.....	19
II-5.2. Levains d’arôme	19
II-5.3. Amélioration de la structure des fromages	19
II-5.4.Production des substances inhibitrice.....	19
II-5.6. Autres utilisations	19
II-6.Taxonomie	19

Partie II Matériels et méthodes

I. Souches étudiées.....	21
II. Etude de la cinétique d’acidification.....	21
II.2. Revivification des souches lactiques.....	21
II.3.Préparation du lait.....	21
II.4. Recherche de la densité optique « D.O ».....	22
II.5.Mesure de l’acidité et du pH	22
II.6.Dénombrement	22

Partie III Résultats et interprétations

I-Mesure de la densité optique	23
II. Mesure de l'acidité et du pH.....	23
III. Dénombrement	26

Partie IV Discussions et conclusion

Discussion	30
Conclusion.....	32
Références bibliographiques	
Annexe 1	
Annexe 2	

Dédicace

Nous rendons ALLAH le tout puissant, nous vous prions de nous guidée sur le bon chemin.

Je dédie ce travail a mon très chère papa Monsieur Rahmani Mohammed qui a le merci pour tout ce que j'ai arrivée a ce jours et a ma mère qui a toujours cru en moi et m'encouragée.

A mes adorables chères frangines : Nawel, Halima, Amina, Fatima, et ma petite sœur « youssra » qui ma toujours apportée le sourire et la joie.

A mon unique frère et sa femme.

A mon cher futur mari Amine pour son soutien, disponibilité, compréhension, son aide pour r&réalisé ce travail et pour son grand amour

Pour les petits anges : Farah, Kawtar, Balqis, Mourad, Yacine, Youness, Anes, Ayoub.

Et pour la personne qui étais toujours a mes coté ma chère amie : Aicha.

Remerciement

Au terme de ce travail :

Je tiens tout d'abord à remercier sincèrement et chaleureusement

mon encadreur Dr : BENOÎT MERATU Nandaa qui a su par son
enthousiasme mon travail dans toutes ses étapes, pour tous ces conseils
précieux, son écoute, son soutien et sa disponibilité à tout moment.

Je remercie par ailleurs tout le personnel du laboratoire
LAMAAE pour leur encouragement et leur accueil.

Figure 16 : colonies de la souche 29 sur gélose MRS après 24h.....	28
Figure 17 : colonies de la souche 64 sur gélose MRS après 24h.....	28
Figure 18 : colonies de la souche 102 sur gélose MRS après 24h.....	28
Figure 19 : colonies de la souche CIP 110059 sur gélose MRS après 24.....	29
Figure 20 : colonies de la souche 32 sur gélose MRS après 24h.....	29

Liste des figures

Figure 1 : Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques de l'ordre <i>Lactobacillales</i> dans la classe des <i>bacilli</i>	9
Figure 2 : <i>Leuconostoc lactis</i>	10
Figure 3 : Représentation schématique du flux de carbone et énergie dans les voies centrales du métabolisme de divers oses par <i>leuconostoc mesenteroides</i>	15
Figure 4 : Schéma simplifié du cométabolisme sucre-citrate de <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	16
Figure 5: Cinétique d'acidification et du pH de la souche CNRZ749.....	23
Figure 6: Cinétique d'acidification et du pH de la souche CNRZ361.....	23
Figure 7: Cinétique d'acidification et du pH de la souche 32.....	24
Figure 8: Cinétique d'acidification et du pH de la souche 35.....	24
Figure 9 : Cinétique d'acidification et du pH de la souche 102.....	24
Figure 10: Cinétique d'acidification et du pH de la souche 64.....	25
Figure 11 : Cinétique d'acidification et du pH de la souche CIP 110059.....	25
Figure 12 : Cinétique d'acidification et du pH de la souche 29.....	25
Figure 13 : colonies de la souche 35 sur gélose MRS après 24h.....	27
Figure 14 : colonies de la souche CNRZ 361 sur gélose MRS après 24.....	27
Figure 14 : colonies de la souche CNRZ 947 sur gélose MRS après 24h.....	27

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux caractéristiques de quelques genres des bactéries lactiques	1
Tableau 2 : Habitat des bactéries lactiques.....	4
Tableau 3 : Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques ...	6
Tableau 4 : Principales espèces lactiques utilisé dans la fabrication et la conservation des produits carnées.....	7
Tableau 5 : Aliments fermentés contenant les leuconostocs.....	13
Tableau 6 : Quelques exemples de bactériocines produites par le genre <i>Leuconostoc</i>	18
Tableau 7 : Les espèces du genre <i>leuconostoc</i>	20
Tableaux 8 : Les souches étudiées et leurs origines.....	21
Tableau 9 : Résultat de la mesure de la D.O.....	22
Tableau 10 : Nombre des colonies sur MRS solide.....	26

Résumé

Notre études permet de sélectionner des souches lactiques appartenant au genre leuconostoc, afin de pouvoir les utiliser en industrie agro-alimentaires Pour cela Nous avons étudié la cinétique d'acidification en mesurant le pH et l'acide produit en °D , ceci tous les deux heures pendant 24h ,Aussi la densité optique de chaque souche a été mesuré et un dénombrement descultures sur gélose MRS.

Les résultats trouvés ont montrés que le plus important taux d'acides obtenu après 24h est de 29°D produit par les souches 32 ,et 35 appartenant à la sous espèce *Ln mesenteroides ssp* et aussi la souche 102 qui est un *Ln mesenteroides mesenteroides* Ce taux est faible par rapport aux normes et la densité optique obtenu n'influe pas sur l'activité acidifiante des différents souches testées ,

Pour cela le genre leuconostoc est recommandé à être utilisé comme producteur d'arôme et de CO₂ et non pas comme acidifiant des denrées alimentaires.

Mots clés : Leuconostoc, bactérie lactique, pouvoir acidifiant, pH , denrée alimentaire.

Abstract

Our study makes it possible to select lactic stocks belonging to the leuconostoc kind, in order to be able to use them in food industry.

For that we studied the kinetics of acidification by measuring the pH and the acid produced in °D, every two hours during 24 hours. The optical density of each stock was measured and an enumeration of the cultures on gelose MRS.

The results show that the most important rate of acids obtained after 24 hours is 29°D produced by stocks 32, and 35 pertaining to under species *Ln mesenteroides ssp* and the stock 102 which is *Ln mesenteroides mesenteroides*, this rate is weak compared to the standards and the optical density obtained, does not influence the acidifying activity of the different stocks tested, for that the leuconostoc kind is recommended to be used as producer of flavor and C02 and not like acidifier of the foodstuffs.

Key words: Leuconostoc, lactic bacterium, acidifying capacity, pH, foodstuff.

الملخص

سمحت لنا دراستنا بتحديد سلالات اللبنيّة التي تنتمي إلى نوع *Leuconostoc* و التي يمكن استعمالها في صناعة المواد الغذائية، لهذا قمنا بدراسة حركيّة عن طريق قياس الأساس الهيدروجيني و الحمض المنتج بوحدة °D. وهذا كل ساعتين لمدة أربعة وعشرين ساعة، مع قياس الكثافة الضوئيّة لكل سلالة.

النتائج المحصّل عليها بعد أربعة وعشرين من التّحضير سمحت باستنتاج أنّ السلالتين *leuconostoc mesenteroides ssp leuconostoc mesenteroides mesenteroides* لديهما قدرة تحميض مهمّة. °D 29 ، رغم ذلك يبقى هذا المعدّل منخفض مقارنة مع القدرة التّحميضيّة للسلالات اللبنيّة الأخرى من نوع *Lactocoque*

لذلك تستعمل *Leuconostoc* في تكنولوجيا الحليب لقدرته على إنتاج عطر النكهة و إنتاج غاز CO2

الكلمات المفتاحيّة: بكتيريا الحليب، قدرة التّحميض، مواد غذائيّ ، pH. *Leuconostoc*

INTRODUCTION

Introduction

Les bactéries lactiques constituent un vaste groupe de microorganismes dont les caractéristiques qui forme l'unité de ce groupe bactérien, est la production d'acide lactique à partir de différents sucres, notamment le lactose (le sucre spécifique du lait).

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt biotechnologique. Elles sont largement utilisées dans des procédés d'élaboration de produits alimentaires. En industrie laitière, elles contribuent à développer les qualités organoleptiques par la formation d'acide lactique, d'acétoïne, d'acétaldehyde, diacétyl, de peptides et d'acides aminés.

Parmi ce vaste groupe des bactéries on a fait une étude sur le genre *Leuconostoc*, qui est connue par son importance dans la production agroalimentaire et le domaine médicale.

Pour cela nous avons étudié la cinétique d'acidification des souches du genre *Leuconostoc* ensemencées dans un lait écrémées, en mesurant le pH et l'acide lactique en degré Dornic produites pendant 24H.

La densité optique a été aussi mesurée au temps 0h et un dénombrement sur gélose MRS a été fait.

PARTIE 1
SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
BACTÉRIES LACTIQUES

I-1.Définition

Les bactéries lactiques sont des coques ou des bâtonnets, Gram positif, immobiles, nonsporulées, catalase négative et généralement nitrate réductase négative. Elles synthétisent leur

ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. Lorsque l'acide lactique est le seul produit terminal, il s'agit des bactéries lactiques homofermentaires. Parfois, en plus de l'acide lactique, d'autres composés constitués principalement d'acide acétique, d'éthanol et de gaz carbonique sont produits : c'est le cas des hétéro fermentaires.

Les bactéries lactiques sont aéro-anaérobies facultatives ou micro-aérophiles. En présence d'oxygène, elles sont incapables de phosphorylation oxydatives. Elles ont des besoins complexes en facteurs de croissance, acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques, des vitamines B et des acides gras. C'est la raison qui explique leur abondance dans le lait (**Bekhouche .2006**).

Tableau 1

Principaux caractéristiques de quelques genres des bactéries lactiques
(Sutra etFederighi in Benslimane et Belakred 2011).

Genre	Morphologie	Fermentation	T° d'optimisation	Nombre d'espèces
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaire ou hétérofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	Groupe I : 23 Groupe II : 16 Groupe III : 22
<i>Carnobacterium</i>	Bacille	Hétérofermentaire	Psychrotrophes	6
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Thermophiles ou mésophiles	5
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles	19
<i>Vagococcus</i>	Coques mobiles	Homofermentaires	Mésophiles	13
<i>Pedococcus</i>	coques en	Homofermentaires	Mésophiles	2

Partie 1 : synthèse bibliographique

	tetrad			
<i>Tetragenococcus</i>	Coques en tetrad	Homofermentaires	Mésophiles	7
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles	13
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles	13
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulier	Acide acétique et lactique	Mésophiles	1
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles	25

I-2. Historique :

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie. De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries. (Makhloufi, 2011).

I-3. Structure générale des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont constituées d'une enveloppe se composant d'une membrane plasmique superposée d'une épaisse couche de peptidoglycane. Leur membrane plasmique est constituée d'une bicouche phospholipidique dépourvue de stérols. Elle séquestre les ancras hydrophobes des acides lipotéichoïques et abrite diverses protéines intégrales. Le peptidoglycane des bactéries lactiques est associé à de multiples protéines, à des polysaccharides neutres et est surmonté, chez certaines espèces, d'une couche de protéines assemblées sous forme para-cristalline (Rigaux, 2008).

I-4. Génétique des bactéries lactiques :

Le matériel génétique des bactéries lactiques est organisé en deux structures : le chromosome et les plasmides.

Les plasmides peuvent être perdus spontanément par la bactérie lactique dans les conditions du milieu défavorable (températures élevées, privation nutritionnelles) ou éliminés par des traitements chimiques. Cette possibilité de perdre spontanément des plasmides explique l'instabilité des propriétés technologiques, due à l'apparition de variantes ayant perdu

Partie 1 : synthèse bibliographique

certaines gènes et donc certaines fonction métabolique Ainsi, la perte du plasmide codant pour la protéase de paroi rend la bactérie peu protéolytique, et entraîne une croissance ralentie des germes et une acidification faible du lait.

D'autres caractères technologiques sont également codés par des gènes portés par des plasmides codant pour la capacité d'utiliser le lactose, le métabolisme de précurseurs d'arômes, la production de la nisine chez certain souches, des résistances aux bactériophages etc. ... (Stackebrandt et Teuber, in Mami,2013).

I-5.Habitat :

Les bactéries lactiques sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent-en association avec un hôte, tel que l'homme ou l'animal, dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères (Klein et al, in Makhloufi, 2011).

I-5-1. Culture des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques demandent des milieux riches en différents nutriments pour croître (sucres, acides aminés, acides gras, sels, vitamines) et pauvres en oxygène (Hammes et Hertel, in Makhloufi,2011). Elles sont essentiellement cultivées dans le milieu Man Rogosa Sharpe (MRS).

I-5-2. A l'état libre dans l'environnement :

Dans l'environnement, les bactéries lactiques sont souvent retrouvées dans le lait et ses dérivés (lait fermenté, fromages.)

I-5-3. En association avec un hôte :

Les bactéries lactiques peuvent vivre en symbiose entre elles et avec une hôte. La symbiose est une association intime et durable entre deux organismes hétérosécifiques (espèces différentes), parfois plus le tractus gastro-intestinal des mammifères n'est colonisé par des bactéries lactiques telles que *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Weisseilla*.

Par ailleurs, l'appareil génital chez la femme est principalement colonisé par des bactéries lactiques, telles que *Lactobacillus*, auxquelles ils apportent des nutriments comme le glycogène. En acidifiant le milieu, ces bactéries apportent une protection contre des pathogènes responsables d'infections vaginales comme *Trichomonas vaginalis* pathogène responsable de la trichomonas vaginale (Björkroth et al., 2009) et/ ou *Candida albicans* à l'origine de la vulvo-vaginite (Falagaset al.2011)

Tableau 2

Habitat des bactéries lactiques :

Genre	Habitat
<i>Lactobacillus</i>	l'homme et l'animale (flore intestinale, la flore vaginale, et aussi dans la cavité buccale). les viandes, les boissons alcooliques et les produits de panifications (Freyneyet al., 2000).
<i>Lactococcus</i>	Végétaux frais. Peau des animaux. (Sandineet al., 2000). Le lait, laits fermentées, les fromages (Teuberet al., 1981)
<i>Sterptococcus</i>	Flore intestinale des nouveau-né, l'intestin, le vagin, cavité buccale des adultes, tractus intestinales des animaux. Les plantes, l'eau, le sol. (Jerome, et al., 2004).
<i>Bifidobacterium</i>	Flore intestinale dunouveau-né, l'intestin, le vagin, cavité buccale des adultes. (Jerome, et al., 2004).
<i>Pediococcus</i>	Végétaux, fruits, produits carnés, la bière. Produits fermentés, choucroute, olives, poissons conservés, les fromages. (Luquet ,1994)

I-6. Intérêt des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ça soit dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique :

I-6.1. Aspect Médicale:

I.6.1.1-les Probiotiques:

Ce sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale.

Chez les animaux d'élevage, ces produits favorisant le mécanisme biologique naturel, peuvent être une bonne alternative à l'emploi des antibiotiques qui ont été longtemps utilisés pour améliorer les performances zootechniques et sanitaires de ces animaux mais dont l'une des conséquences néfastes a été l'apparition de l'antibiorésistance.

Partie 1 : synthèse bibliographique

Chez l'homme, ces bactéries jouent un rôle inhibiteur contre les bactéries pathogènes et améliorent la digestion. L'effet bénéfique est dû à plusieurs mécanismes :

- La production d'acides organiques (acide lactique, acétique), de peroxyde d'hydrogène, et de bactériocines limitent le développement des entérobactéries.
- Certaines souches ont la capacité de déconjuguer les sels biliaires qui sont alors plus inhibiteurs sur le développement des bactéries pathogènes que les formes conjuguées.
- Les souches peuvent inhiber l'implantation des germes pathogènes par compétition pour l'adhésion aux cellules intestinales, ce qui permet une colonisation rapide et dirigée du tube digestif.
- Ces bactéries peuvent réduire l'absorption de substances toxiques (ammoniac, amines, indole) et peuvent ainsi diminuer les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques.
- Les Probiotiques peuvent également produire des métabolites susceptibles de neutraliser « in situ » certaines toxines bactériennes.
- Les Probiotiques peuvent stimuler l'activité enzymatique de micro-organismes endogènes permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments.
- Ils peuvent stimuler les cellules du système immunitaire et favoriser la production d'anticorps qui inhibent ainsi les bactéries pathogènes à la surface des muqueuses intestinales.
- Certaines souches peuvent posséder une activité anti-cancérogène dont les propriétés peuvent se répartir en deux catégories :
- Les Lactobacilles excrètent la bêta-galactosidase, souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte et facilite donc la digestion du lactose (**Larpent, in Mami, 2013**).

Tableau 3
Principales espèces microbiennes utilisées comme Probiotiques
(FAURE *et al.*, 2013)

Genre	Espèce
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. rhamnosus</i> <i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. reuterii</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. sporogenes</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. adolescentis</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. cremoris</i> <i>L. lactis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. licheniformis</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. clausii</i> <i>B. laterosporus</i> <i>B. pumilus</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i> <i>S. cerevisiae var bouardii</i>

I-6.2.L'aspect technologique:

I-6.2.1-Les levains

- Texturation par libération d'exopolysaccharides (yaourts).
- Production d'arômes (acétaldéhyde) (fromages) (**Brangeret al., 2007**) Acidification par production d'acide lactique.
- Les bactéries lactiques sont utilisées aussi dans la conservation de la viande fraîche, les saucisses et les saucissons fermentés. (**Garry et le Guern.1999**)

Tableau 4

Principales espèces lactiques utilisé dans la fabrication et la conservation des produits carnés. (Garry et le Guern.1999)

Bactérie lactique	Produits carné
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Saucisse semi-sèches
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Thuringer
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Saucisses sèches
<i>Lactobacillus plantarum</i>	jambon secs
<i>Lactobacillus sake</i>	Saucisson sec
<i>Lactobacillus brevis</i>	Viande fraîches

I-6.2.2-Utilisation des bactéries lactiques productrices de bactériocine :

Une des caractéristiques des bactéries lactiques qui leur permet de se placer comme bio-conservateur est leur production de molécules antimicrobiennes (**Settanni et Corsetti, in Makhloufi, 2011**). La production de bactériocine in situ offre de nombreux avantages comparée à la production de bactériocine ex situ, comme le coût ou l'augmentation de la compétition avec la microflore résidente, augmentant ainsi l'inhibition de croissance des bactéries pathogènes. (**Makhloufi, 2011**).

I-7. Classification :

Selon la comparaison des séquences d'ADN 12rDNA les bactéries lactiques appartiennent au phylum des Firmicutes (**Bendimerad, 2013**), la Classe des *Bacilliet* l'Ordre des *Lactobacillales* renfermant trente-cinq genres et 6 familles : *Streptococcaceae* "Enterococcaceae" *Lactobacillaceae* "Leuconostocaceae" "Aerococcaceae" "Carnobacteriaceae". (Figure 1)

CHAPITRE II
LEUCONOSTOC

II-1. Historique :

Le terme « Leuconostoc » vient du mot *Nostoc* qui est une algue bleue mucilagineuse et de *Leuco* qui vient du blanc. Le genre *Leuconostoca* été définie en 1878 par Van Tieghem à partir de souches productrices de dextrans isolées dans les raffineries de sucre (**Dessart et steenson, 1995**) le caractère hétéro- fermentaires des *leuconostocs* a été mis en évidences en 1918 par Evans, il fut confirmé par Hucer en 1928. Divers nom ont été utilisés pour *leuconostoc*, allant de *Streptococcus* à *Betacoccus*.

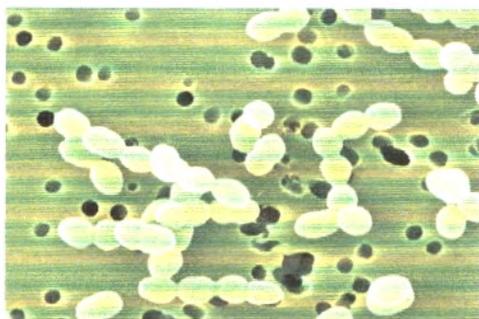


Figure 2 : *Leuconostoc lactis* observé au M.E.T. (x 10000).

(<http://www.oocities.com/cheezyfr/photos/Leuconostoc.jpg>).

II-2. Définition et caractéristiques :

Les *Leuconostocs* sont des bactéries non pathogènes de la famille des Sterptococcaceae. Ils sont anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnelle (**Géreaud, 2003**). Ils se présentent sous forme d'éléments coccoïdes à lenticulaires et/ou coccobacilles disposés en paires ou en chainettes. Ils sont généralement capsulés. Leur fermentation hétérolactique donne de l'acide L-lactique. (**Géreaud, 2003**). Parmi leurs caractères biochimiques les plus importants, nous pouvons citer la fermentation des sucres, la fermentation du citrate, la production de dextrane et la production de substances inhibitrices.

Ce sont des bactéries mésophiles, leur température optimale de croissance est de 18° à 30°C, leur température minimale est de 5°C et la maximale est de 40°C. Ils possèdent une grande aptitude à former les biofilms avec production de substances gélatineuses, ils sont capables de produire des bactériocines actives contre certaines bactéries pathogènes. Leur pH optimal de croissance est de 6,3 à 6,5.

Les *leuconostocs* ont une croissance lente, en particulier dans le lait, alors ils ne sont pas importants dans la fermentation du lactose, mais ils sont importants dans la production d'arôme par utilisation du citrate pour produire du diacétyle (**Benslimane, 2010**).

II-3.Habitat :

Les *leuconostocs* sont très répondeur dans la nature, ils sont habituellement rencontrés sur les végétaux ainsi que les produits laitiers, le vin et les liquides à base de sucre. Leur présence intervient dans le goût et l'arôme qui est dû à la production de certaines composées aromatiques. (**Cibiket al ., 2000**)

II-3.1.Les fromages :

Les leuconostocs entrent couramment dans la composition de levains utilisées pour la fabrication de nombreux types de fromages (**Cibik et al ., 2000**).

En dehors de toute addition des levains contenant des *Leuconostocs* , la présence de ces microorganismes a été reconnue dans nombreuses fromages fabriqués à partir du lait de vache, de brebis ou de chèvre. (**Benslimen et Belakred, 2011**).

Dès 1939, Sherwood, dans une étude sur la flore microbienne du fromage de Cheddar néozélandais, remarquait que *Leuconostoc mesenteroides* était l'espèce la plus fréquemment rencontré avec *Leuconostoc dextranicum*.

II-3.2. Le lait et autres produits laitiers :

Leuconostoc mesenteroides est souvent associée avec le lait et les produits laitiers, et peut provoquer des effets indésirables dans le lait frais. Cependant, il peut également être utilisé comme starter dans la fermentation d'une grande variété des produits laitiers. (**Benslimen, 2011**)

Parmi les laits fermentés dont la flore microbienne contient les leuconostocs il y a le Kéfir. (**Hemme et Foucaud-Scheunemann, 2004**).

II-3.3. Boissons :

- Boissons alcoolisées : les leuconostoc et autre bactérie lactiques sont présentes sur la surface des raisins et des feuilles de vigne (**Wibowet al ., 1985**) et sont présents en faible concentration dans le vin (**Holzappel et Schillinger ,1992**).

- Boissons non alcoolisées : dans les jus de fruits, les leuconostoc peuvent contribuer à la dégradation de la saveur par suite de l'augmentation de la concentration du diacétyle et de l'acétoïne produites comme métabolites.

II-3.4. produits végétaux fermenté et ensilage :

Leuconostoc mesenteroides joue un rôle important dans la fermentation des légumes comme la choucroute et les concombres. Bien que n'étant pas l'espèce dominante présente sur le chou au moment de broyage, *Leuconostoc mesenteroides* initie la fermentation de la choucroute (Pedrson et Albury ,1969).

Langston et Bouma (1960) dans une étude sur les cocci isolés de l'ensilage ont montré que parmi les espèces hétérofermentaires présentes, *Leuconostoc mesenteroides* était l'espèce la plus représentative.

II-3.5. Produits à base viande :

Les espèces de *Leuconostoc* sont généralement trouvées sur les viandes et la volaille (Jay, 1982). Les viandes transformées ; les viandes séchées sont apparemment des produits qui peuvent fournir un substrat de croissance favorable pour certains leuconostocs (Holzapfel et Schillinger, 1992). Les souches de *Leuconostoc mesentroides*, *Leuconostoc gelidum*, *Leuconostoc carnosum* sont souvent présentes naturellement dans les produits à base de viande.

II-3.6. L'homme et les animaux :

On peut trouver des espaces du genre *Leuconostoc* dans la cavité buccale et dans le tube digestif.

Tableau 5

Aliments fermentés contenant les leuconostocs. (Hemme et Foucaud-Scheunemann, 2004)

Products	Foodstuff	Raw material	Country	Microorganisms
Dairy	Butter and cream	Milk	International	LAB
	Cheeses	Milk	International	LAB, yeasts, mould
	Fermented milks (anasi, maz wa lala, laban, filinjik, kefir, pu dilan, smetana, etc)	Milk	Europe Africa Asia	LAB, yeasts
Meat	Sausages	Meat	Europe Southeast Asia	LAB, yeasts, mould
	Salami	Meat	Europe	LAB
Fish	Sauce foods (bel, elan, dunchiduk, pekasam, som-fac, etc)	Fish, shrimp	Southeast Asia	LAB
Cereal	Beverages (beer, soya, bushera, idi, dadhi, angur, ogi, sorol, sobra, etc)	Milk, maize, corn, rice, millet	International	LAB, yeasts, mould
	Dough and starchy accompaniments (bread, flour, maize, puto, trhanis, etc)	Maize, rice, sorghum, etc	Europe, Africa, Southeast Asia	LAB, yeasts
	Sauce foods (sauce, etc)	Rice, soybeans	Southeast Asia	LAB
Vegetable	Sauerkraut	Cabbage	International	LAB
	Pickles, kmchi, sayur-asin	Olives, beetroot, cabbage, carrot, cucumber, sweet-pepper	International	LAB
	Dough and starchy accompaniments (agbelima, flour, tu'u, sipal, etc)	Cassava, taro	Africa, New Guinea South America	LAB
	Cocoa		Central Africa South America	Yeast, acetic acid bacteria, LAB
Coffee		Central Africa South America	LAB, yeasts, Enterobacteriaceae	
Juices		International	LAB	

II-4. Métabolisme des leuconostoc :

Les leuconostocs fermentent le glucose en acétaldéhyde et éthanol en utilisent la voie des hexoses monophosphates. L'acétate est le principale produit terminale du métabolisme des hexoses des souches de Leuconostoc par voie oxydative (**Itoet al .,1983**).

Selon **Luceyet Condon (1986)**les cultures aérées de Leuconstocs croissent plus vite et produisent plus de biomasse dépendant du glucose et d'autres sucres, que les cultures non aérées. Ces dernières ne produisent que peu ou pas d'acétate.

Le métabolisme du citrate a fait l'objet de nombreuses études chez les genres *Leuconostoc* et *Lactococcus*. Les études physiologiques ont mis en évidence l'importance des facteurs environnementaux tels que le pH, la concentration en sucre, en citrate et en oxygène comme étant des paramètres influençant sur la synthèse des composés aromatiques par ces bactéries lactiques.

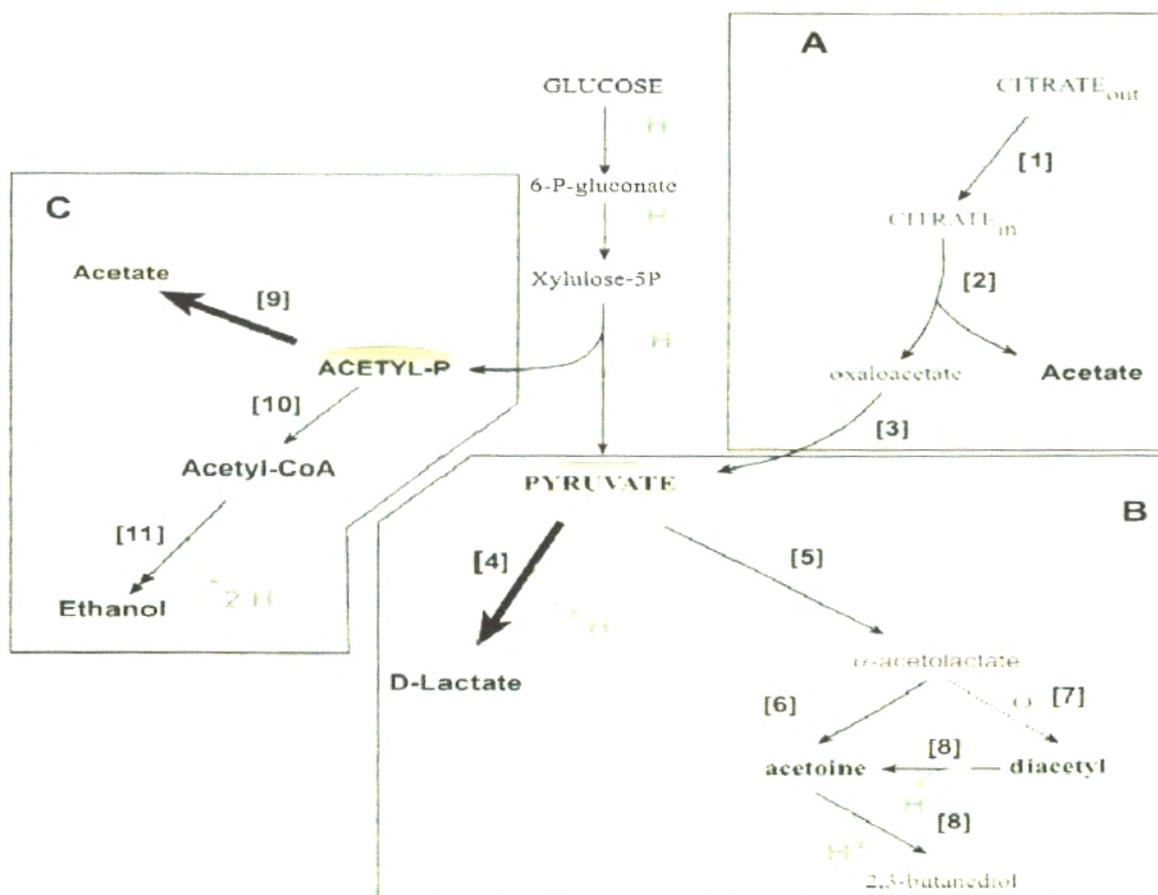


Figure 1. Schéma simplifié du cométabolisme sucre-citrate de *Leuconostoc mesenteroides* : 1 citrate perméase, 2 citrate lyase, 3 oxaloacétate decarboxylase, 4 lactate déshydrogénase, 5 α -acétolactate synthase, 6 α -acétolactate decarboxylase, 7 décarboxylation non enzymatique, 8 2,3-butanediol déshydrogénase, 9 acetate kinase, 10 phosphotransacetylase, 11 alcool déshydrogénase.

Figure 4

**Schéma simplifié du cométabolisme sucre-citrate de
Leuconostoc mesenteroides (Bourellet al., 2001)**

II-5. Intérêt des Leuconostocs :

Les espèces de *Leuconostoc* sont généralement trouvées dans les liqueurs de transformations du sucre et les aliments fermentés, y compris les olives, le concombre, la choucroute, le vin, et le fromage. Ces bactéries sont désirables dans la plupart des aliments en raison de leur implication dans le développement de la saveur et la conservation, mais sont indésirable dans l'industrie du sucre, car ils produisent des dextrans à partir du saccharose qui interfèrent avec l'extraction du sucre.

II-5.1. Levains lactique mésophiles :

Les Leuconostocs rentrent dans la composition de la flore bactérienne des levains lactiques mésophiles. (Devoyod ,Poullain , 1988)

II-5.2. Levains d'arôme :

La production d'acétylène et d'acétoïne est sans doute le caractère le plus utilisé des leuconostocs. Les cultures pures de *Leuconostocs* et de *Lactococcus lactics subsp. diacétyleactis* se comportent d'une façon entièrement différente. Les cultures pures de *Leuconostocs* utilisent le citrate très rapidement, par contre elles ne produisent du diacétylène et de l'acétoïne que tardivement, lorsque le milieu est devenu suffisamment acide.

II-5.3. Amélioration de la structure des fromages

Les Leuconostocs sont utilisés pour améliorer l'ouverture des fromages. Des souches de *Leuconostoc mesenteroides* fortes productrices de gaz provoquent une ouverture régulière du caillé des fromages à pâte persillée et permettent un développement correct de *Penicillium roqueforti*.

II-5.4. production des substances inhibitrices :

Les Leuconostocs principalement *Leuconostoc cremoris*, en association avec des bactéries lactiques mésophiles sont capables d'inhiber la croissance de microorganismes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* ou de bactéries psychotropes (Benslimane et Belakred.2010).

La production des bactériocine par ces bactéries leur donne un intérêt comme agents de conservation possible par addition de la bactériocines ou de son organisme producteur, aux denrées alimentaires.

Le tableau suivant regroupe quelques exemples de bactériocines produites par les bactéries lactiques.

Tableau 6

Quelques exemples de bactériocines produites par le genre *Leuconostoc*

(Benslimane et Belakred.2010).

Souches productrices	Bactériocines
<i>Leuconostoc</i> sp. J2	Leucocine J
<i>Leuconostoc</i> carnosum	Leucocine F10
<i>Leuconostoc</i> carnosumLA44A	Carnocine
<i>Leuconostoc</i> citreumKM20	Bactériocine UviB
<i>Leuconostoc</i> .dextranicumST99	Mésentérocline ST99
<i>Leuconostoc</i> .gelidiumIN139	
<i>Leuconostoc</i> .gelidiumUAL-187	Leucocine A
<i>Leuconostoc</i> .mesenteroidesY105	Mésenterocines Y105 ou mésentérocline 52A
<i>Leuconostoc</i> .mesenteroidesFR52	
<i>Leuconostoc</i> .mesenteroidesFR52	Mésentérocline 52B ou dextranicine j24 ou
<i>Leuconostoc</i> .dextranicumJ24	mésentérocline B105
<i>Leuconostoc</i> .mesenteroides Y105	
<i>Leuconostoc</i> .mesenteroides TA33a	Leucocine C
<i>Leuconostoc</i> .mesentroides UL5	Mésentérocline 5 ou pédiocine PA-1.Ach
<i>Leuconostoc</i> .paramesenteroidesOX	Leucocine

II-5.6. Autres utilisations :

Les dextrans produits par *Leuconostoc mesenteroides* associées à l'épichlorhydrine ont été utilisés dans les procédés de filtration sur gel de concentration ou de récupération de protéines à partir du lactosérum de fromagerie (Lawforoet al., 1979).

II-6. Taxonomie :

Ce genre regroupe actuellement 13 espèces, dont l'espèce *Leuconostoc.mesenteroides* à laquelle il faut ajouter une espèce récemment décrite par Lee et al,(2012).

Leuconostoc.mesenteroides est la seule espèce à posséder des sous-espèces, au nombre de 4 actuellement : *Leuconostoc.mesenteroides subsp cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides subsp dextranicum*, *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides*.

Et *Leuconostoc mesenteroides subsp suionicum*, proposée et décrite en 2012.

Cette nouvelle sous-espèce se distingue en particulier des autres sous-espèces par son empreinte génétique avec les amorces (GTG)5 (Guet al., in Bendimerad 2012).

Les espèces couramment trouvées dans le lait et les fromages fabriqués au lait crus sont les espèces *euconostoc . mesenteroides*, avec les sous-espèces *dextranicum* et *mesenteroides*, puis *Leuconostoc. Citreum* (Cibiket al., in Bendimred 2012).

Tableau 7

Les espèces du genre leuconostoc (Hemme et Scheunemann, 2004)

<i>Leuconostoc</i> species	Previous nomenclature
<i>Ln. mesenteroides</i>	
subsp. <i>caemoris</i>	
subsp. <i>dextraniticum</i>	
subsp. <i>mesenteroides</i>	
<i>Ln. lactis</i>	
<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	
<i>Ln. carnosum</i>	
<i>Ln. gelidum</i>	
<i>Ln. fallax</i>	
<i>Ln. circum</i>	<i>Ln. amebrosium</i>
<i>Ln. aracinum</i>	
<i>Ln. gasicornitatum</i>	
<i>Ln. kinchi</i>	
<i>Ln. fribanicum</i>	
<i>Ln. tractosum</i>	<i>Lactobacillus tractosus</i>
<i>Ln. inhae</i>	

PARTIE II

MATÉRIELS ET

MÉTHODES

I. Souches étudiées :

Huit souches lactiques du genre *Leuconostoc* sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableaux 8 : Souches étudiées et leurs origines.

Souches	Nom	origine
CIP110051	<i>Leuconostoc mesenteroides mesenteroides.</i>	INRA de Poligny (France)
CNRZ 361	<i>Leuconostoc mesenteroides cremoris.</i>	
CNRZ 749	<i>Leuconostoc mesenteroides mesenteroides.</i>	
64	<i>Leuconostoc mesenteroides dextransicum.</i>	Collection du laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédicale et à l'Environnement. (LAMAABE).
102	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides.</i>	
32	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp.</i>	
35	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp.</i>	
29	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp.</i>	

II. Etude de la cinétique d'acidification :

II-1.Revivification des souches lactiques :

Après décongélation, les souches lactiques sontensemencées dans 5ml de bouillon de MRS lactosé à 0.5% et incubées au bain Marie à 30 °C pendant 18h.

II .2.préparation despré- cultures:

Un deuxième repiquage est réalisé à partir du premier dans 5ml de bouillon MRS lactosé à 0.5% puis incubée de nouveau au bain marie à 30 °C. Après 18h d'incubation 1ml de ce bouillon estensemencé dans 10 ml de MRS liquide stérile lactosé à 0,5% puis incubée au bain marie à 30°C pendant 18h,

II.3.Préparation du lait

95 g de poudre de lait (foster farms Dairy dba Crystal Creamery) est mélangé à 950ml d'eau distillé stérile. Le lait reconstitué ainsi obtenu est mis sur plaque chauffante avec

agitation jusqu'à disparition totale des grumeaux, Puis le lait est distribué dans 4 flacons stériles de 250 ml puis autoclaver pendant 15 minutes à 110°C.

II.4. Recherche de la densité optique « D.O » :

Les cultures sont centrifugées à la vitesse 8500rpm pendant 10 minutes puis le culot est récupéré et mélangé avec 2.1 ml de lait écrémé stérile.

La D.O est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 620nm sur 100 µl (0,1 ml) de suspension bactérienne diluée au 1/10 dans 900 µl d'une solution d'E.D.T.A à 2g/l pH=12 contre blanc soit 100 µl de lait écrémé reconstitué dilué au 1/10 dans la même solution d'E.D.T.A.

II-5. Mesure de l'acidité et du pH :

Le pH est mesuré directement à l'aide d'un pH mètre. (HANNA)

L'acidité ou la production d'acide par la souche a été testée sur 10 ml de laitensemencé par la souche en présence de 3 gouttes de phénolphthalines selon la méthode normalisée par titration en utilisant une solution de NaOH N/18 L'acidité est exprimée en degrés Doronic soit 1ml de NaOH correspond à 10 °D

Les mesures de pH et d'acide se font tous les deux heures à partir de t=0h pendant 24h

II-6. Dénombrement :

Le laitensemencé subit une série de dilution avec l'eau peptonnée. Un inoculum de chaque dilution est étalé en râteau puis les boîtes sont incubées à l'étuve pendant 24h à 30°C.

PARTIE 3

RÉSULTATS ET

INTERPRÉTATIONS

I-Mesure de la densité optique :

La mesure de la densité optique des souches étudiées en comparaison avec le blanc sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Résultats de la mesure de la D.O :

Souches	blanc	102	64	32	CIP1 10059	29	CNRZ361	CNRZ 749	35
Valeur de la densité	0.38	0.59	0.5	1.26	0.86	0.8	0.56	0.8	0.70

Les valeurs de la densité optiques de souches étudiées varient entre 0.5 et 1,26.

La souche 32 a une valeur de densité optique maximale.

Les souches 102, 64 et CNRZ 361 ont presque la même valeur de densité optique (0,50) aussi CIP 110059, 29, 35 et CNRZ 749 (0,80).

II. Mesure de l'acidité et du pH :

Les mesures du pH et de l'acide en degrés Dornic sont mentionnées dans les graphes suivants :

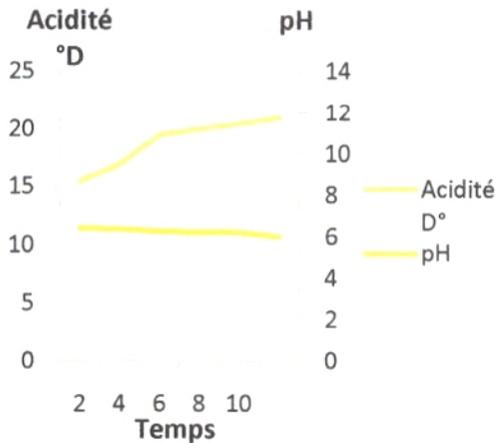


Figure 5: Cinétique d'acidification et du pH de la souche CNRZ749

Concernant la souche CNRZ 361 l'activité acidifiante a été presque stationnaire pendant les quatre premières heures puis elle a augmenté légèrement jusqu'à 8h ou on observe après une augmentation rapide. Alors la diminution du pH est continue pendant les 24h.

La production d'acide par la souche CNRZ 749 s'accélère au début jusqu'à 6 heures ou elle devient plus ou moins lente, en parallèle le pH à partir de 6h diminue lentement.

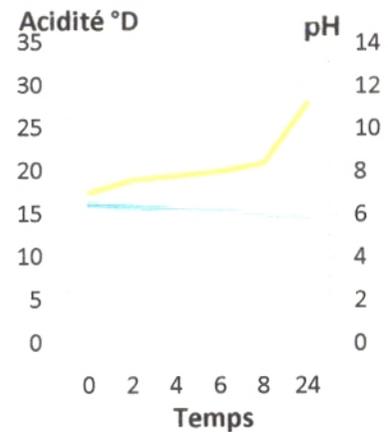


Figure 6: Cinétique d'acidification et du pH de la souche CNRZ361.

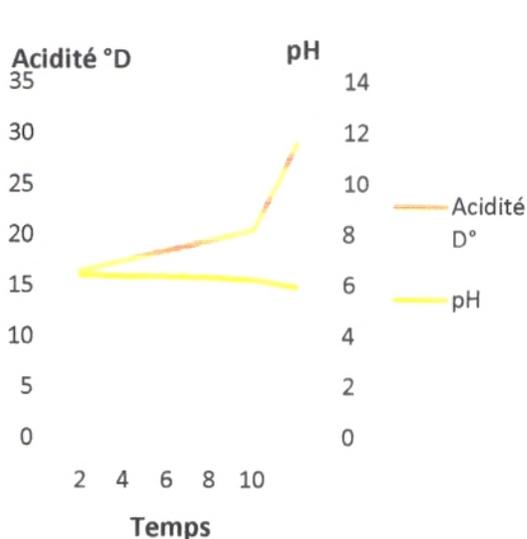


Figure 7: Cinétique d'acidification et du pH de la souche 32.

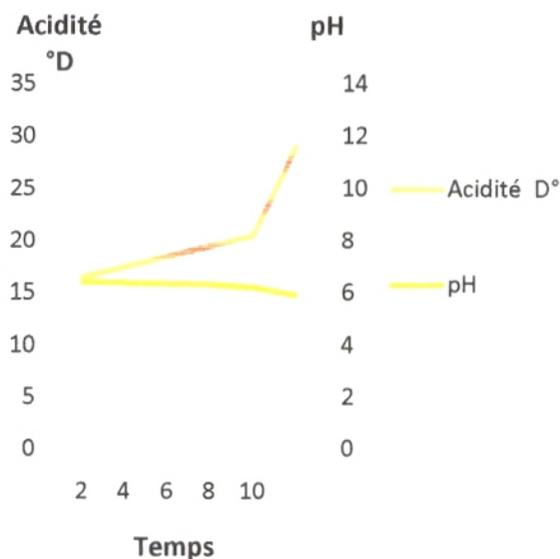


Figure 8: Cinétique d'acidification et du pH de la souche 35.

La production d'acide lactique par les souches 32, et 35 est plus ou moins importante pendant les dix premières heures puis s'accélère après jusqu'à 24h. La valeur du pH se confond avec celle de l'acide au début de l'incubation.

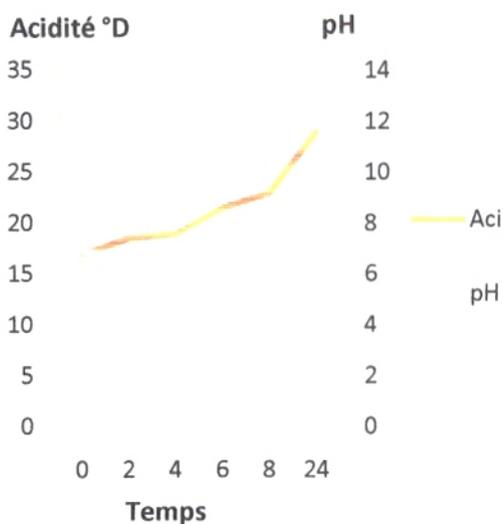


Figure 9: Cinétique d'acidification et du pH de la

La production d'acide lactique par la souche 102 est très faible dans l'intervalle [0h ; 4h], après une augmentation peu importante est observée entre 4h et 8h, puis la production devient maximale jusqu'à 24h. En parallèle une variation du pH est observée dans les différents intervalles de temps.

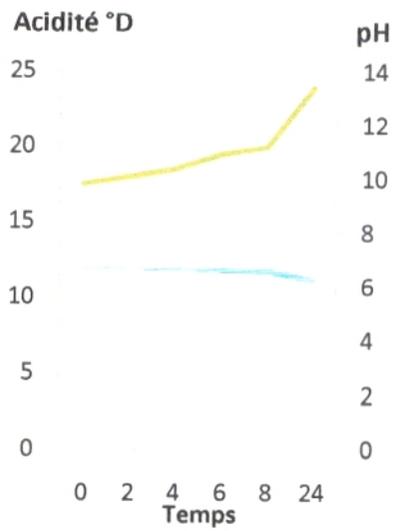


Figure 10: Cinétique d'acidification et du pH de la souche 64

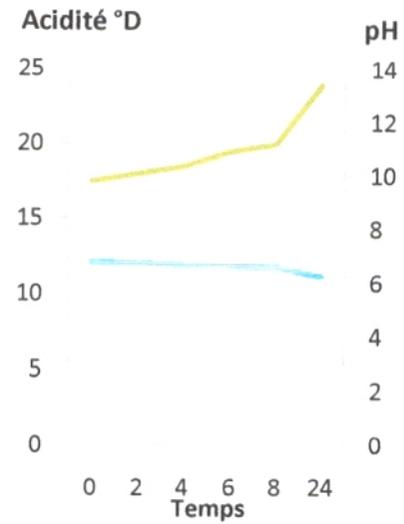


Figure 11: Cinétique d'acidification et du pH de la souche CIP110059

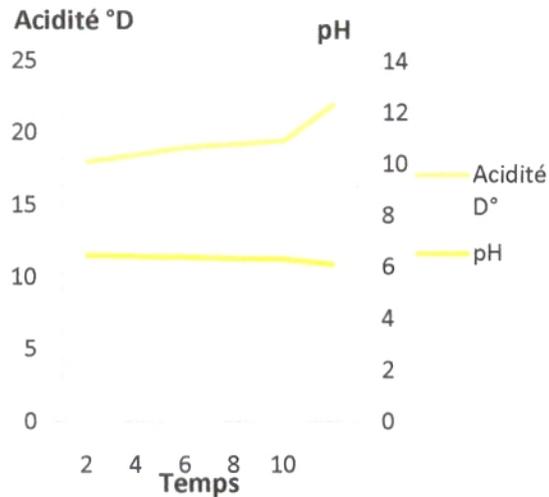


Figure 12: Cinétique d'acidification et du pH de la Souche 29

En ce qui concerne les souches 64, CIP 110059 et 29 l'effet inverse se produit c'est-à-dire que leur activité acidifiante s'accélère qu'après 8h d'incubation avec une diminution rapide du pH.

III. Dénombrement :

Après incubation l'observation macroscopique de nos souches sur milieu MRS solide a montré des colonies petites, rondes, blanches et lenticulaires . Le nombre des colonies obtenues est rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 10**Nombre de colonies sur MRS solide après 24h d'incubation**

Les souches	Nombre des colonies 10^{-4} UFC/ml	Nombre des colonies 10^{-5} UFC/ml
CIP 110059	IND	IND
CNRZ 361	IND	$300 \cdot 10^9$
CNRZ 749	IND	IND
64	IND	$200 \cdot 10^9$
102	IND	$294 \cdot 10^9$
32	IND	IND
35	IND	$233 \cdot 10^9$
29	IND	IND

IND : Indénombrable.

CIP 110059, CNRZ 749, 32 et 29 se développent très rapidement sur MRS à 30°C puisqu'à la dilution 10^{-5} le nombre est indénombrable.

Les figures suivantes nous montrent les colonies des *leuconostocs* après incubation à 30°C pendant 24H.

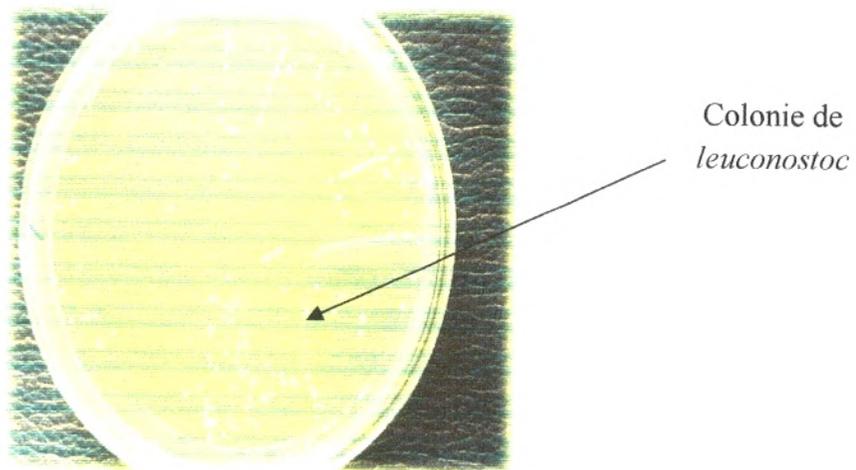


Figure 13 : colonies de la souche 35 sur gélose MRS après 24h.

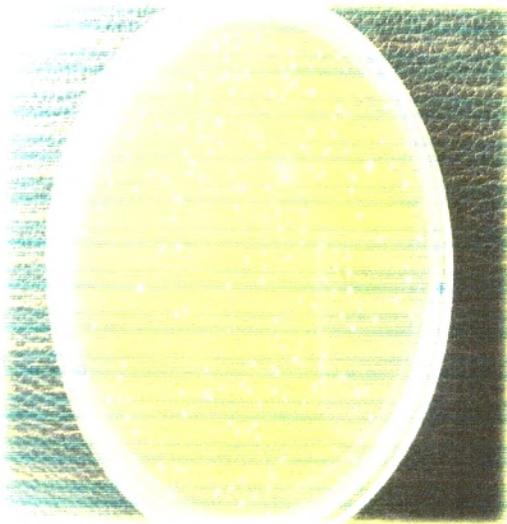


Figure 14 : colonies de la souche CNRZ 361 sur gélose MRS après 24h.

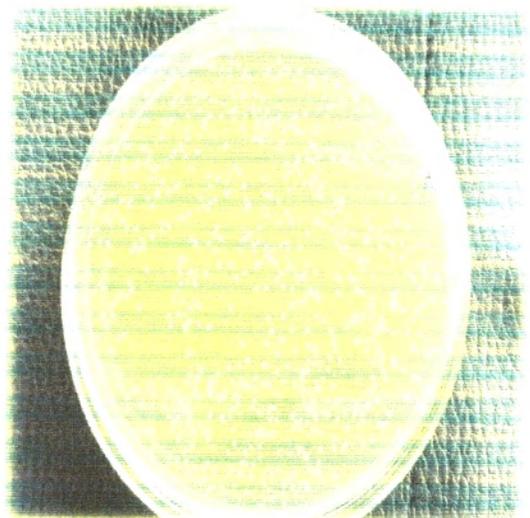


Figure 15 : colonies de la souche CNRZ 749 sur gélose MRS après 24h.

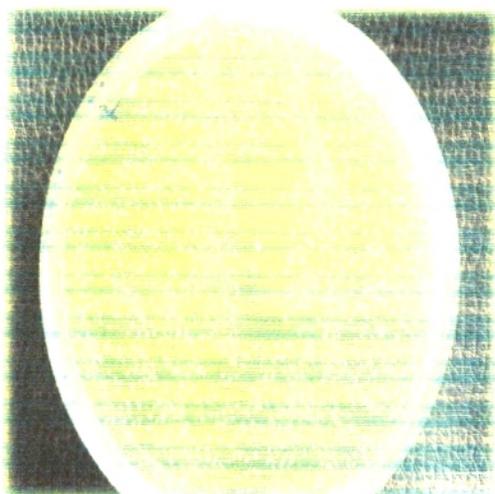


Figure 16 : colonies de la souche 29 sur gélose MRS après 24h.



Figure 17 : colonies de la souche 64 sur gélose MRS après 24h.

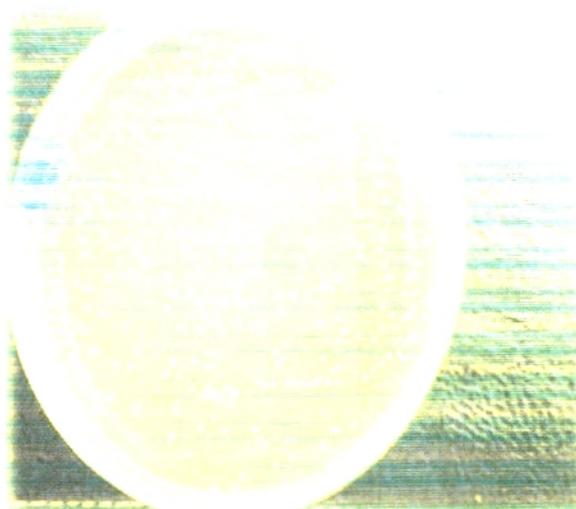


Figure 18 : colonies de la souche 102 sur gélose MRS après 24h



Figure 19 : colonies de la souche CIP 110059 sur gélose MRS après 24h



Figure 20 : colonies de la souche 32 sur gélose MRS après 24h

PARTIE 4
DISCUSSIONS ET
CONCLUSION

Dans le lait la flore lactique est la plus importante flore par son nombre et par son activité acidifiante, aromatisant ...etc., Les genres *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont les plus représentés et jouent des rôles primordiaux (Yabrir,2014) .

Pour cela de nombreuses études ont été faites afin de mettre en évidence leurs caractères pour des utilisations biotechnologiques.

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques, pour cela on a axé notre étude sur le pouvoir acidifiant du genre *Leuconostoc*.

Le résultat obtenu montre que les sous espèces de *Leuconostoc mesenteroides ssp.32* et *35* et *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides* (102) sont les plus actives avec une acidité de 29 °D atteinte après 24h d'incubation (voir figure 7, 8 et 9) d'où une D.O élevée surtout pour la souche 32 qui est de 1.26 et une diminution du pH du lait entre pH5, 87 et pH5, 95. Les sous espèces *Leuconostoc mesenteroides suionicum* (CIP 110051), *Leuconostoc mesenteroides cremoris* (CNRZ 361), et *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides*, CNRZ 749, 29 présente une faible acidité du lait (entre 21,5 et 22 °D) après 24 h d'incubation . En parallèle, les valeurs de pH atteintes oscillent entre 6,02 et 6,24, Alors que la souche 64 est moyennement acidifiante (24°D) (voir Figure 10).

D'après Devoyod(1988), à part *Leuconostoc lactis* qui est capable d'acidifier le lait, les autres espèces de *leuconostoc* n'acidifient le lait que trop lentement ou en présence d'extrait levure. C'est la raison principale pour laquelle les *Leuconostocs* sont toujours utilisées en levains mixte avec des bactéries lactique acidifiantes (*lactococcus*, *lactobacilus*).

Une étude faite par ZADI-KARAM *et al*, (2011) sur 18 souches de *Leuconostoc* isolées du lait de chamelle, a montré qu'elles sont faiblement acidifiantes, en effet la production d'acide en lait écrémé est $\leq 40^{\circ}\text{D}$, Ceci confirme le faible pouvoir acidifiant de nos souches.

Luquet et Corrieu (2005) ont montré que l'évolution de l'acidité et les variations de pH au cours de la croissance de souches testées sur le lait écrémé montrent une différence entre les genres, les espèces et même entre les souches d'une même espèce, ceci concorde avec nos résultats qu'on a trouvés que les sous espèces *Leuconostoc mesenteroides ssp* et *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides* présentes une différenciation entre les souches dans leurs pouvoir acidifiant (tableau annexe 1).

Les *leuconostocs* sont aussi utilisés dans la fermentation des végétaux, en effet une étude faite par **Louembé et al, (2003)** sur la pâte fermentée du maïs a montré que les *Leuconostoc mesenteroides* considérés comme population initiale dans les fermentations naturelles sont bien présents dans la pâte de maïs fermentée pendant les 24 premières heures mais, ils disparaissent à partir de 48 heures pendant que les *Lactobacillus*, *Lactococcus lactis* et *Pediococcus* restent bien présents. Cette disparition résulte du pH d'acidification du milieu (pH 3,72) incompatible avec le pH optimum de croissance des *Leuconostoc* qui est situé entre 5,0-6,3.

La sensibilité des *Leuconostocs* serait liée à leur incapacité à maintenir un gradient de pH entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule bactérienne en présence de fortes concentrations d'acétate et de lactate.

Malgré le nombre important des colonies de *Leuconostoc* observé sur le milieu MRS (Tableau 7) et les valeurs importantes de la densité optique. Les *Leuconostocs* restent toujours faiblement acidifiants.

Conclusion

L'étude du pouvoir acidifiant des 8 souches lactiques appartenant au genre *Leuconostoc* dont les sous espèces sont : *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides subsp cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides subsp dextransicum*, et *Leuconostoc mesenteroides ssp*, nous permet de dire que seuls les isolats 35 et 32 appartenant à la sous espèce *Leuconostoc mesenteroides ssp* et 102 qui est un *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides* produisent un taux d'acide de 29 °D. Ce taux reste le plus élevé par rapport à ceux des autres souches testées, néanmoins cette valeur reste faible par rapport aux normes, malgré que la densité optique de la souche 32 est très élevée soit 1,26 correspondant à un nombre indénombrable de microorganismes sur gélose MRS après 24h d'incubation à 30°C

Pour cela nous recommandons que nos souches soient utilisées en cultures mixtes c'est-à-dire associé avec d'autres bactéries lactiques du même genre ou de genre différents, afin d'augmenter leur pouvoir acidifiant. Ou alors doivent être utilisées comme productrices d'arôme et de CO₂ ou dans d'autres aptitudes technologiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bekhouche, F ., 2006. Bactérie lactique du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytique des olives noires et vertes : 1 ; isolement et identification biochimique. 2 evolution et optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. These de doctorat d'etat .option Génie alimentaire.

Benslimane, S et Belakred A., 2010 Etude de l'effet inhibiteur de *Leuconostoc* d'entérocoques et de lactocoque : inhibition inter bactériennes et test d'antibiose ; thèse d'ingénieur, option génie Biologie.

Bendimerad, N., 2013. Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type « Jben ». Thèse de doctorat. Spécialité : Microbiologie alimentaire, Faculté des sciences. Département de biologie. Laboratoire de microbiologie appliquée.

Bourel, S. Henini K Krantar, M ,Oraby,A ; Charles Garman . D 2001. Métabolisme sucrose-citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*, Lait 81 (2001) 75–82 75 INRA, EDP Sciences.

Cibik, R., lepage, E., et Tailliez, P. , 2000 moluculardivercity of *leuconostocmesenteroides* and *leuconostoccitrium* isolated from tardional French cheeses as revealed by RAPD fingerpringting; 16rDNA sequencing and 16 rDNAfragement Amplification. *Systematic and Applied Microbiology* 23,267-278. France

Dessart S.R et Steenson, L.R 1995biothechnology of dairy *leuconostoc* strains used in he making of Rockfort cheese. 19 thINT.Dairyconger.new Delhi, vol le, 419.

Drinan, D. Torbin F. S. et Cogan . T.M ;1975. Critic acid metabolism in hetero-and homofermmentive lactic aci bacteria. Appel. Environ. Microbiol. 31 : 481

Devoyod J.J., ,Poullain F,1988 . les*leuconostoc*. Propriété :leurrole en technologie laitière,(lait 249-280. 1988)

Louembé, S. Kéléké, S. Kobawila C. et. Nzouzi, J.P 2003. Bactéries lactiques de la pâte fermentée de maïs. au Congo, TROPICULTURA, 2003, 21, 1, 3-9.

Freyney J .Reneau ., Hansen W . and Bollet C. 2000. Précis de bactériologie Clinique. Ed. ESA. 1692 pages

Gireau, J P .,2003. Microbiologie alimentaire. Page 90 , 91. RIA.Duunod, Paris.

Hemme Det Foucaud-Scheunemann,C. Leuconostoc, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods, International Dairy Journal 14 (2004) 467–494.October 2004 page 468, 486.

Devoyed et Poullain, (1983). Lait : 1988317, Volume 68_3_1988,(249-279).

Mami ,A 2013. Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqué dans la toxi infection alimentaire en Algérie. Spécialité microbiologie alimentaire.

Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., et Reuter, G. (1998) Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol.* **41**: 103-125

Lucey C.A Condon S., 1986). Active role of oxygen and NADH oxydase in growth and energy metabolism of *Leuconostoc*. *J. Gen. Microbiol.*, 132, 1798-1796.

Lawford G. R., Ugerman A., Wiliam T, 1979. Dextrane biosynthesis and dextrznsucrase production by continuous culture of *Leuconostocmesenteroides*. *Biotechnol?Bioneng.*, 21, 1121-1131.

LuquetF . M .1994 . Lait et produits laitiers. Ed. Tec et et Doc. Lavoisier.

Larpen, J.P et LarpenGoureaud M 1997. Memento thechnique de microbiologie. 3eme edition. Lavoisier Tech & Doc. P 173.

Ludwig, W., Schleifer, K.H., et Whitman, W. B., 2009. Order II Lactobacillales revised road map to the Phylum Firmicutes. Ord. Nov. In Devos, P., Garvity, G. M., Jones, D., Reid, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K.H., and Whitman, W. B. (eds): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second edition, Volume 3 (The Firmicutes), Page 484. Springer Dordrecht, Heidelberg, Germany.

Langston, W., et Bouma 1960. A study of the microorganism from grass ensilage. I. The cocci. *Appl. Microbiol.*, 8, 212-221.

Jerome J Perry, James T Staley, Stephen Lory 2004). *Microbiologie*. Collection "Dunod", Paris, page 891.

Jay J. M. 1982. Antimicrobial properties of diacetyl, *Applied and Environmental Microbiology*. Page 52.

Pederson, C. S et M. N Albury. 1969. The sauerkraut fermentation. *New York State Agr. Expt. Sta. Bull.* N° 824.

Rigaux, P. 2008, Evaluation des propriétés immunomodulatrices de la bactérie lactique *Lactobacillus plantarum* NCIMB8826 dans le cadre de l'allergie aux acariens, Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques et Ingénierie Biologique, *université de Bruxelles*.

Sutra L., Federighi M., Jouve J.L 1998. *Manuel de bactériologie alimentaire* coordonné par Sutra L., édition POLYTECHNICA (ISBN : 2-84054-056-8)

Schwartz, D., et Bodie, E. A 1989. Production of various dextrans-containing whey source broths by *Leuconostoc mesenteroides* ATCC 14935. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 678-679

Sandine, W. E Radich, P. C et Auiker, P. R, ecology of the lactic streptococci a review. *J. Bacteriol.* 35: 176-184 1972

Teuber, M. Gur. A et Neve. E, 1981. The genus *Lactococcus* dans : *Handbook on habitats, isolation and identification of bacteria* Springer-Verlag, NY, éditeur *M. P. Start, H. Stolp, A. Elmls et E. G. Schlegel*, 1482-1505.

Wibow, C. R. Davis, G. H. Fleet, T. H. Lee and Eshchenbruch D.R., 1985. Factors effecting the indication of malo lactic fermentation in red wines with *Leuconostoc Oenos*, *J. Appl. Bacteriol.* 64:421-428.

Yabrir B, 2014. Etude de la qualité du lait de brebis collecté dans la région de Djelfa : effet des facteurs de production sur ces caractéristiques, évolution au cours de l'entreposage réfrigéré, aptitude technologique. Thèse de doctorat en biochimie

Zadi Karam H ; et Karam. N-E, 2012. Bactéries lactiques du lait de chamelle d'Algérie: mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. Doctorat d'Etat en Biologie moléculaire et Génétique.

Annexe 1

Les tableaux suivants présentent les valeurs du pH et d'acidité °D obtenue pendant 24h.

Tableau 7 : les valeurs du pH et d'acidité pour la souche CIP 110059

Temps h	pH	Acidité °D
0	6.49	17
2	6.4	17.5
4	6.37	18
6	6.36	18.5
8	6.35	19
24	6.08	21.5

Tableau 8 : les valeurs du pH et d'acidité pour la souche 32

Temps h	pH	Acidité °D
0	6.53	19.5
2	6.43	20
4	6.41	21
6	6.3	21.5
8	6.25	22.5
24	5.95	29

Tableau 9 : les valeurs du pH et d'acidité pour la souche 29

Temps h	pH	Acidité °D
0	6.47	18
2	6.43	18.5
4	6.41	19
6	6.35	19.25
8	6.32	19.5
24	6.12	22

Tableau 10 : les valeurs du pH et d'acidité pour la souche CNRZ 361

Temps h	pH	Acidité °D
0	6.44	17.5
2	6.35	19
4	6.2	19.5
6	6.12	20
8	6.04	21
24	5.82	29

Tableau 11: les valeurs du pH et d'acidité pour la souche 35

Temps h	pH	Acidité °D
0	6.42	16.5
2	6.38	17.5
4	6.36	18.5
6	6.32	19.5
8	6.22	20.5
24	5.93	29

Tableau 12: les valeurs du pH et d'acidité pour la souche CNRZ 749

Temps h	pH	Acidité °D
0	6.43	15.5
2	6.39	17
4	6.28	19.5
6	6.24	20
8	6.22	21
24	6.02	22

Tableau 13: les valeurs du pH et d'acidité pour la souche 102

Temps h	pH	Acidité °D
0	6.89	18
2	6.64	18.5
4	6.63	19
6	6.44	21.5
8	6.35	23
24	5.87	29

Tableau 14: les valeurs du pH et d'acidité pour la souche 64

Temps h	pH	Acidité °D
0	6.78	17.5
2	6.73	18
4	6.68	18.5
6	6.63	19.5
8	6.61	20
24	6.23	24

Annexe 2

Produits utilisés :

MRS (bouillon)

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
extrait de levure	5g
Glucose	20g
Twin 80	1g
Phosphate dipotassique	2ml
Acetate de sodium	5g
Citrate triamoniac	2g
Sulfate de mangesium	200 mg

MRS (gelose)

Il s'agit du milieu précédant gélose a 1,5 repartie en boite de Petri (contenant éventuellement l'échantillon) ; après 15 minutes d'autoclavage a 120°C.

EDTA (ethylemediaminetetraacedic) :

La solution d' EDTA utilisé contient : 0.5 g de l' EDTA+250 ml d'eau distillé.

La soude(NaOH) :

La solution De la soude utilisé contient : 0.55g de la soude +250 ml d'eau distillé.

الملخص

سمحت لنا دراستنا بتحديد سلالات اللبنيّة التي تنتمي إلى نوع *Leuconostoc* والتي يمكن استعمالها في صناعة المواد الغذائية، لهذا قمنا بدراسة حركيّة عن طريق قياس الأساس الهيدروجيني و الحمض المنتج بوحدة °D. وهذا كلّ ساعتين لمدة أربعة وعشرين ساعة، مع قياس الكثافة الضوئيّة لكلّ سلالة.

النتائج المحصّلة عليها بعد أربعة وعشرين من التّحضير سمحت باستنتاج أنّ السلالتين *leuconostoc mesenteroides* و *leuconostoc mesenteroides mesenteroides* لديهما قدرة تجميع مهمّة. °D 29 ، رغم ذلك يبقى هذا المعدّل منخفض مقارنة مع القدرة التّحميضيّة للسلالات اللبنيّة الأخرى من نوع *Lactocoque* لذلك تستعمل *Leuconostoc* في تكنولوجيا الحليب لقدرته على إنتاج عطر النّكهة و إنتاج غاز CO₂.

الكلمات المفتاحيّة: بكتيريا الحليب، قدرة التّحميض، مواد غذائيّة، pH, *Leuconostoc*.

Résumé

Notre études permet de sélectionner des souches lactiques appartenant au genre *leuconostoc*, afin de pouvoir les utiliser en industrie agro-alimentaires. Pour cela Nous avons étudié la cinétique d'acidification en mesurant le pH et l'acide produit en °D, ceci tous les deux heures pendant 24h, Aussi la densité optique de chaque souche a été mesuré et un dénombrement descultures sur gélose MRS.

Les résultats trouvés ont montrés que le plus important taux d'acides obtenu après 24h est de 29°D produit par les souches 32, et 35 appartenant à la sous espèce *Ln mesenteroides ssp* et aussi la souche 102 qui est un *Ln mesenteroides mesenteroides*. Ce taux est faible par rapport aux normes et la densité optique obtenu n'influe pas sur l'activité acidifiante des différents souches testées,

Pour cela le genre *leuconostoc* est recommandé à être utilisé comme producteur d'arôme et de CO₂ et non pas comme acidifiant des denrées alimentaires.

Mots clés : *Leuconostoc*, bactérie lactique, pouvoir acidifiant, pH, denrée alimentaire.

Abstract

Our study makes it possible to select lactic stocks belonging to the *leuconostoc* kind, in order to be able to use them in food industry.

For that we studied the kinetics of acidification by measuring the pH and the acid produced in °D, every two hours during 24 hours. The optical density of each stock was measured and an enumeration of the cultures on gelose MRS.

The results show that the most important rate of acids obtained after 24 hours is 29°D produced by stocks 32, and 35 pertaining to under species *Ln mesenteroides ssp* and the stock 102 which is *Ln mesenteroides mesenteroides*, this rate is weak compared to the standards and the optical density obtained, does not influence the acidifying activity of the different stocks tested, for that the *leuconostoc* kind is recommended to be used as producer of flavor and CO₂ and not like acidifier of the foodstuffs.

Key words: *Leuconostoc*, lactic bacterium, acidifying capacity, pH, foodstuff.