

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Abdelhamid IbenBadis
Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de
la Vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس
مستغانم
كلية العلوم الطبيعية والحياة

N° _____ /AGRO/2023

Département d'Agronomie

Mémoire De Fin D'études

Présenté Par :

M^{elle} : Maredj salima Et M^{elle} : Keddar fatiha

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Agronomie

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Amélioration Des Productions Végétales

THEME

*Recherche et identification de quelques souches
de bactéries acétiques issues
du vinaigre traditionnel*

Soutenue publiquement le : Le 04/07/2023

Devant la composition du jury :

Président	Maghnia	Djamila	MCB	Université de Mostaganem
Examineur	Yahiaoui	Hassiba	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	Adjoudj	Fatma	MCB	Université de Mostaganem
Co-encadreur	Bouchikh	Yamina	MRB	INRAA Sidi bel Abbas

Année Universitaire 2022-2023

Remerciements :

Avant tout, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à « ALLAH » qui nous a donné la volonté et la patience pour mener ce travail.

*Nos remerciements à notre encadreur **M^{me} Adjoudj Fatma** pour avoir proposé et dirigé ce travail et toute la patience dont elle a fait preuve durant l'élaboration de cette étude.*

*Nous adressons mes sincères remerciements à notre Co-encadreur **M^{me} Bouchikh Yamina** Pour sa disponibilité et ses judicieux conseils.*

*A la présidente **M^{me} Maghnia Djamila** et Examinatrice **M^{me} Yahiaoui Hassiba** pour leur présence et évaluation de ce mémoire.*

*Nous exprimons notre gratitude A **M^{me} Nadia** pour son aide et ses précieux conseils.*

A tous nos enseignants qui nous ont formés, aussi à tous ceux qui ont contribué de façon directe ou indirecte, à la réussite de ce travail.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à tous ceux qui ont contribué de façon directe ou indirecte pour sa réalisation.

J'exprime ma profonde gratitude à mes chers parents pour tous les sacrifices consentis et leur encouragement, ma réussite est grâce à eux.

A mon frère et mes sœurs pour leur soutien

A mes tantes et mes oncles.

A toute la famille.

Je remercie aussi mes amis qui m'ont aidé pour réaliser ce travail.

Salima.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail, à mes chers parents qui m'ont soutenu et encouragé dans mon parcours d'étude, que Dieu leur accorde une longue vie.

A mes chères sœurs, mes tantes et mes oncles.

A toute la famille.

A tous mes amis pour leur soutien moral.

Je le dédie aussi à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour sa réalisation.



Fatiha.

Sommaire

Remerciement	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Chapitre I : Généralité sur les dattes et pommes	
1. Généralité sur les dattes	03
I .1.1. Description de la datte.....	03
I .1. 2. Caractérisation physicochimique des dattes.....	04
I .1.2.1 pH	04
I .1.2.2 Acidité titrable.....	04
I .1.2.3 Taux de cendres	04
I .1.3. Classification.....	04
I . 1.3.1 Les dattes molles.....	04
I .1.3.2 Les dattes demi-molles.....	04
I .1.3.3 Les dattes sèches.....	04
I .1.4. Principales variétés en Algérie.....	05
I .1.4.1 La Deglet-Nour.....	05
I .1.4.2 Les variétés communes.....	05
I .1.5. Les stades d'évolution de la datte.....	05
I .1.6. Composition biochimique de la datte.....	06
I .1.6.1 Composition biochimique de la pulpe.....	06
I .1.6.1.1. L'eau.....	06
I .1.6.1.2 Les glucides.....	06
I .1.6.1.3 Les protides.....	06
I .1.6.1.4 Les lipides.....	07
I .1.6.1.5. Les fibres.....	07
I .1.6.1.6 Les minéraux.....	07
I .1.6.1.7 Les vitamines.....	07
I .1.6.2 Composition biochimique du noyau.....	07
I .1.7. Transformation de la datte.....	08
I .1.7.1 Pâte de dattes.....	08
I .1.7.2 Farine de dattes.....	08
I .1.7.3 Sirop de dattes.....	08
I .1.7.4 Alcool de dattes.....	08
I .1.7.5 Marmelades de dattes.....	08
I .1.7.6 Vinaigres de datte.....	09
I . 2. Généralités sur Les pommiers.....	09
I .2.1 Composition de pomme.....	10
I.2.2 Avantages thérapeutiques de pomme.....	10
I.2.3 Caractéristiques générales des variétés.....	10
I.2.3.1 Fuji KiKu.....	10
I.2.3.2 Pinova.....	10
I.2.3.3 Falstaff.....	11
I.2.3.4 Goldrush.....	11

I.2.3.5 Topaz.....	11
--------------------	----

Chapitre II : Généralité sur les vinaigres

II.1. Historique.....	12
II.2. Définition.....	12
II.3. Composition du vinaigre.....	12
II.4. Type de vinaigre.....	13
Vinaigre de betterave.....	13
Vinaigre d'alcool.....	13
Vinaigre du vin.....	13
Vinaigre de mélasse.....	13
Vinaigre balsamique.....	13
Le vinaigre de céréales.....	14
Le vinaigre (de vin) de fruits.....	14
Vinaigre de glucose.....	14
Vinaigre de petit lait.....	14
Vinaigre de datte.....	14
II.5. Méthodes de fabrications du vinaigre.....	14
II.5.1. Procédé d'Orléans.....	14
II.5.2. Procédé de schutzenbach.....	15
II.5.3. Procédé en culture submergée.....	16
II.6. Importance de vinaigre.....	16
II.7. Technologie du vinaigre.....	17
II.7.1 Fermentation alcoolique.....	17
II.7.2 La fermentation acétique.....	18
II.7.3 Protocole expérimentale de fabrication de vinaigre.....	18

Chapitre III: Les bactéries acétiques

III.1. Les bactéries acétiques.....	19
III.2. Facteurs influençant sur la croissance des bactéries acétiques.....	19
III.2.1 Oxygène.....	19
III.2.2 Température.....	20
III.2.3 pH.....	20
III.2.4 Concentration en éthanol.....	20
III.2.5 Acide acétique.....	20
III.2.6 Lumières.....	20
III.3. Classification.....	20
III.4. Caractères cultureux.....	21
III.5. caractères morphologie.....	21
III.6. Caractères biochimiques.....	22
III.6.1 Transformation de l'alcool en acide acétique.....	22
III.6.2 Réaction de la catalases.....	22
III.6.3 Pouvoir cétoène.....	22
III.6.4 Transformation du glucose en acide gluconique.....	22
III.7. Caractère physiologique.....	23
III.8. Besoins nutritionnels.....	23
III.9. Métabolisme.....	24
III.9.1. Oxydation des hydrates de carbone.....	24
III.9.2. Ethanol.....	24
III.9.3. Sucres et Alcools.....	24
III.9.4. Oxydation de l'acétate.....	24

Matériels et méthodes

1. L'objectif de travail.....	26
2. Echantillonnage.....	26
3. Milieux de culture.....	26
4. Techniques d'isolement.....	26
5. Purification des souches.....	27
6. Préparations d'une suspension bactérienne.....	28
7. Conservation des souches isolées.....	28
7.1-Conservation des souches isolées à quelques semaines (Courte durée).....	28
7.2-Conservation des souches isolées à longue durée.....	28
8. Pré-identification des bactéries acétiques.....	29
8.1-Etudes des caractères cultureux.....	29
8.2-Etudes des caractères morphologiques.....	29
8.2. a. Réalisation des examens microscopiques.....	29
8.2. b. Examen à l'état frais.....	30
8.2. c. Frottis (la cellule est morte).....	30
8.2. d. Coloration de Gram.....	30
8.3. Etudes des caractères physiologiques et biochimiques.....	31
8.3.1 Test de catalase.....	31
8.3.2 Pouvoir cétoène.....	31
8.3.3 Culture en présence d'ammonium comme seule source d'azote et de 3% d'éthanol..	31
8.3.4 Présence d'un pigment sur le milieu d'isolement.....	31
8.3.5 Formation d'acide gluconique à partir du glucose.....	32
8.3.6 Formation d'acide céto gluconique.....	32
8.3.7 Production de cellulose.....	32
9. Elaboration du vinaigre.....	32
9.1. Préparation de jus de fruits.....	32
9.2. Elaboration du vinaigre à partir de jus de datte.....	34
9.3. Analyses physico-chimiques.....	34
9.3.1 Détermination de pH.....	34

Résultats et discussion

1. Résultats d'isolement et purification des colonies des bactéries acétiques.....	35
2. Résultats des examens microscopiques des colonies obtenues après isolement.....	36
3. Résultats de la pré-identification des bactéries acétiques.....	38
4. Résultats de l'étude des caractères physiologiques et biochimiques.....	38
4-1 Réalisation de test catalase.....	38
4-2 Résultats de Culture en présence d'ammonium comme seule source d'azote et de 3% d'éthanol.....	39
4-3 Résultats de test Pouvoir cétoène.....	40
4-4 Résultats de test de formation d'acides gluconique.....	41
4-5 Résultat de test de Formation d'acide céto gluconique.....	42
4-6 Résultats de test de Présence d'un pigment sur le milieu d'isolement.....	42
4-7 Résultat de test de production de cellulose.....	43
5. Résultats d'Elaboration de vinaigre à partir des bactéries acétiques et vinaigre de table.....	44
5.1 Résultats des analyses de pH.....	45
Conclusion.....	47
Référence bibliographique.....	
Annexes	

Résumé :

Les bactéries acétiques sont des micro-organismes très importants dans l'industrie alimentaire. Ils peuvent oxyder l'éthanol en acide acétique conduisant à la production de vinaigre.

Notre travail est basé sur l'isolement des bactéries (S1 vinaigre de cidre et S2 vinaigre de datte), suivre des examens microscopiques et des tests biochimiques, Les résultats obtenus permettent de déterminer les caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques des deux souches de type *Acétobacter aceti subsp aceti*.

Pour l'élaboration de vinaigre, un échantillon de jus des fruits y a été ajouté d'Acétobacter et un autre échantillon diffère de la première par l'addition de vinaigre de table.

Les échantillons mis dans des récipients en verre débouché par un tissu aéro-perméable, dans une température de 30° pendant 15 jours.

Les mots clés :

Les bactéries acétiques, micro-organismes, le vinaigre, vinaigre de cidres, vinaigre des dattes, *Acétobacter*

Summray :

Acetic acid bacteria are very important microorganisms in the food industry, they can oxidize ethanol to acetic acid leading to the production of vinegar.

Our work is based on the isolation of bacteria (S1 from cider vinegar and S2 from date vinegar), followed by microscopic examinations and biochemical tests, the obtained results allow the determination of the morphological, physiological and biochemical characteristics of the two strains of type *Acétobacter aceti subsp aceti*.

For the vinegar elaboration, *Acétobacter* was added to a sample of fruits juice, and another sample differs from the first by adding table vinegar.

The samples are placed in glass containers covered with air-permeable fabric at a temperature of 30 degrees for 15 days.

Key words:

Acetic acid bacteria, micro-organisms, vinegar, cider vinegar, date vinegar, *Acétobacter*

المخلص:

تعد بكتيريا حمض الخليك كائنات دقيقة جد مهمة في مجال صناعة الأغذية، بحيث يمكنهم أكسدة الايثانول إلى حمض الأسيتيك مما يؤدي إلى إنتاج الخل. يعتمد عملنا على عزل بكتيريا (س 1 من خل التفاح و س 2 من خل التمر)، ثم الفحوصات الميكروسكوبية والاختبارات البيوكيميائية، تتيح النتائج التي تم الحصول عليها تحديد الخصائص المورفولوجية والفسولوجية والبيوكيميائية للسلاطين من نوع

Acétobacter aceti sub spa ceti

لتحضير الخل، أضيفت الى عينة من عصير الفواكه *Acétobacter* وعينة أخرى تختلف عن الأولى بإضافة خل المائدة. توضع العينات في عبوات زجاجية مغطاة بنسيج نفوذ للهواء في درجة حرارة 30 درجة لمدة 15 يومًا.

الكلمات المفتاحية:

بكتيريا حمض الخليك، الكائنات الدقيقة، الخل، خل التفاح، خل التمر، *Acétobacter*

Index des figures

Figure 01	: Schéma de date et son noyau.....	03
Figure 02	: Structure anatomique générale d'une pomme.....	09
Figure 03	: Production du vinaigre vue leur richesse en sucre.....	14
Figure 04	: Schémad'untonneaupréparépourl'acétificationselonleprocédéD'Orléans.....	15
Figure 05	: Schéma de l'acétification à biomasse fixée sur des copeaux de hêtre.....	15
Figure 06	: Acétator de Frings.....	16
Figure 07	: Protocole expérimentale de fabrication de vinaigre.....	18
Figure 08	: Morphologie d' <i>Acetobacter aceti</i>	21
Figure 09	: Réaction de formation de dihydroxyacétone à partir de glycérol.....	22
Figure 10	: Isolement sur milieu frateur à partir de la solution mère et les dilutions décimales jusqu'à10 ⁻³	27
Figure 11	: Schéma de conservation Courte durée des bactéries acétique purifiées.....	28
Figure 12	: Schéma de conservation long durée des bactéries acétique purifiées.....	29
Figure 13	: Etapes de préparation d'une lame d'examen à l'état frais.....	30
Figure 14	: Déchets des fruits.....	33
Figure 15	: Découpage et ajouter le sucre.....	33
Figure 16	: Bouillante les déchets des fruits.....	33
Figure 17	: Jus des fruits.....	33
Figure 18	: Rebut (Valorisable).....	33
Figure 19	: Aspect des colonies en profondeur sur milieu Frateur.....	35
Figure 20	: Aspect des colonies après une 4 ^{eme} purification des bactéries acétiques sur milieu gélosé de Frateur.....	36
Figure 21	: Aspect des cellules isolées après coloration de Gram sous microscope Optique (Grossissementx100).....	37
Figure 22	: Résultats du test catalase.....	39
Figure 23	: Résultats de la culture sur milieu de Hoyer.....	39
Figure 24	: Résultats d'incubation sur milieu gélosé.....	40
Figure 25	: Résultat de test pouvoir cétogène.....	41
Figure 26	: Résultats de test de formation d'acides gluconique à partir de glucose.....	41
Figure 27	: Résultats de test de formation d'acide céto gluconique.....	42
Figure 28	: Résultat de test de pigmentation.....	43
Figure 29	: Résultat de test de production de cellulose.....	44
Figure 30	: Résultats d'élaboration de vinaigre à partir de bactéries acétique « B », à partir de vinaigre de table « V ».....	44

Index des Tableau

Tableau I	: Caractéristiques biochimiques des groupes des bactéries acétiques.....	23
Tableau II	: Caractères cultureux des colonies apparues sur milieu naturel des différents échantillons.....	35
Tableau III	: Caractéristiques morphologiques des bactéries acétiques après coloration de Gram.....	37
Tableau IV	: caractères physiologiques et biochimiques des souches des bactéries acétiques isolés	38
Tableau V	: Résultats des analyses de jus des fruits et les deux échantillons avant la fermentation	45
Tableau VI	: Résultats des analyses des deux échantillons après 15 jours de la fermentation.....	45

Index des abréviations

Acronyme : Description

F.A.O : Organisation Des Nations Unies Pour L'alimentation Et L'agriculture

S1 : Souche de Vinaigre de Cider.

S2 : Souche de Vinaigre de Datte.

V : Vinaigre de Table.

B : Bactéries Acétiques.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

h : Heure.

g : Gramme.

% : Pourcentage.

ml : Millilitre.

Introduction

Introduction:

Le vinaigre est un produit à multiples usages, essentiel dans la cuisine. Il empêche l'oxydation des fruits et des légumes et prolonge ainsi la durée de vie des aliments.

Ses vertus ont été depuis longtemps reconnus par les anciens médecins arabes qui ont parlé du vinaigre en citant ces effets utiles pour la santé et comme remède pour soigner plusieurs maladies et infections tel que les maux de tête et de gorge, les piqûres des insectes, etc...(Boughnou,1988).

D'après la F.A.O (2010), la production mondiale de dattes est estimée à 7.62 millions de tonnes en 2010. Ainsi l'Algérie place au 4^{ème} rang des pays producteurs de dattes, avec une production de 516 milles tonnes de dattes dont 30 à 50 % sont constituées de déchets et des dattes de faible valeur marchand. Actuellement beaucoup de pays S'intéressent aux industries de transformation Des déchets des fruits ou fruits de faible valeur marchand ou abîmées(dattes et pommes), Pour qu'il puisse être exploité et utilisée raison de leur forte teneur en sucres pour La fabrication de vin , alcool ou vinaigre selon leur état (Sebihi,1996).

On estime la production mondiale de vinaigre à plus de 1600 millions de litres par an d'acide acétique, elle provient d'une multitude de vinaigre à savoir : vinaigre d'alcool, de vin, de cidre ...etc. (Ould El Hadj, Sebihi et Siboukeur, 2001).Ce dernier est obtenu par une double fermentation, la fermentation alcoolique (anaérobie) par l'intervention de levure essentiellement *Saccharomyces* ou le sucre de fruits est transformé en alcool éthylique et par la suite la fermentation acétique (aérobie) par l'intervention des Bactéries acétiques essentiellement *Acétobacter* où l'éthanol est oxydé en acide acétique (Richard et Geneviève, 2014).

L'objectif du présent travail est l'utilisation des déchets et des variétés de faible Valeur marchande de la pommes et dattes comme Substrat de double fermentation pour la production de vinaigre a l'aide de bactéries acétique, après l'isolement et la pré-identification de quelques souches.

Ce travail comporte trois parties d'investigations complémentaires :

- Une première partie relative à l'étude bibliographique comprenant 3chapitres:

Chapitre 1:Généralité sur dattes et pommes.

Chapitre 2: Généralité sur le vinaigre.

Chapitre 3: Les bactéries acétiques.

- La deuxième partie est consacrée à la méthodologie adoptée pour réaliser la partie expérimentale.
- Une troisième partie concernant les résultats et discussions.

En fin une conclusion générale résume les différents résultats obtenus et les perspectives de ce travail.

Revue
Bibliographique

I .1.Généralité sur les dattes

Phoenix dactylifera L. C'est le nom scientifique du palmier dattier (Djerbi, 1994), est une espèce dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des Palmaceae, et à la sous famille des coryphineae. Cette famille compte environ 235 genres et 4000 espèces (Munier, 1973).

I .1.1. Description de la datte :

Le palmier dattier constitue de 3 parties : un système racinaire, un organe végétatif composé du tronc et de feuilles et un organe reproductif composé d'inflorescences mâles ou femelles (Sedra, 2003). La datte, fruit du palmier dattier, est une baie ayant une seule graine communément appelée noyau. L'anatomie montre que ce fruit est constitué de trois tissus (Espiard, 2002 ; Dowson et Aten, 1963; Munier, 1973; Peyron et Gay, 1988). Une enveloppe fine cellulosique, l'épicarpe ou peau, le mésocarpe est plus ou moins charnu et de consistance variable. Il présente une zone périphérique de couleur plus soutenue et de texture compacte ainsi qu'une zone interne de teinte plus claire et de texture fibreuse, l'endocarpe est réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau. Le péricarpe, le mésocarpe et l'endocarpe sont confondus par les conditionneurs sous l'appellation chair ou pulpe (Munier, 1973).

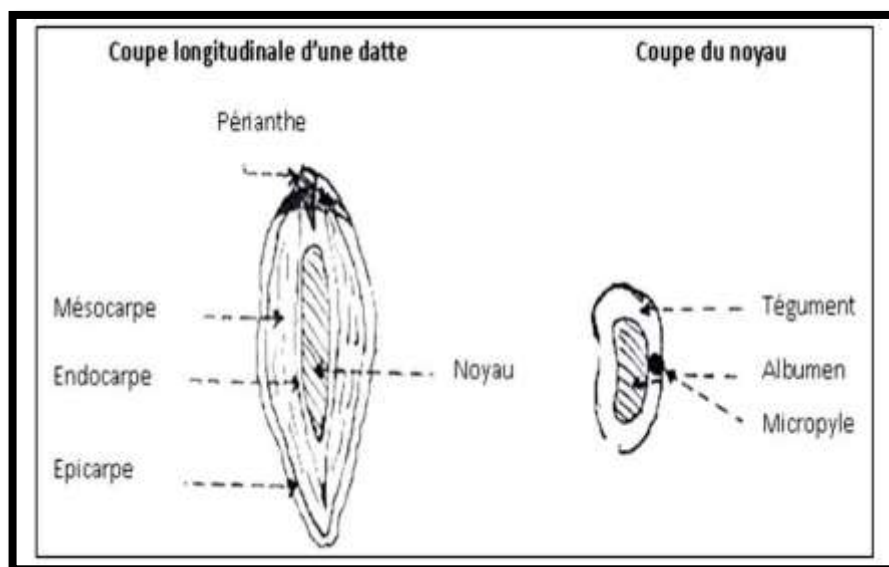


Figure 01 : Schéma de datte et son noyau (Belguedj, 2002).

I . 1. 2. Caractérisation physicochimique des dattes

I . 1.2.1 .pH :

Le pH de la datte est acide, variant entre 05 et 06. Ce pH est préjudiciable aux bactéries mais approprié au développement de la flore fongique. Le pH de dattes est un indice de qualité, qui contribue à la stabilité des dattes pendant la période de stockage. On peut classer les dattes selon leur PH en trois groupes :

- Dattes de mauvais caractère : $\text{pH} < 5,4$.
- Dattes de caractère acceptable : $5,4 < \text{pH} < 5,8$.
- Dattes de bon caractère : $\text{pH} > 5,8$ (Acourene S. et al, 2001).

I . 1.2.2. Acidité titrable :

L'acidité de la datte est faible et varie entre 2,02 et 6,3 g d'acide/Kg (Bessas A., 2008). Une forte acidité est souvent associée à une mauvaise qualité (Booij I. et al, 1992).

I . 1.2.3. Taux de cendres :

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon (Besbes. Set al. (2009) et Ben Thabet I. et al. (2007)

I . 1.3. Classification :

Selon Espirad .E (2002), les dattes sont réparties en trois catégories par rapport à leur consistance:

I . 1.3.1. Les dattes molles : Taux d'humidité supérieur ou égal à 30%, elles sont riches en sucres invertis (fructose, glucose) tel que Ghars, Hamraia.

I . 1.3.2..Les dattes demi-molles : De 20 à 30% d'humidité, elles occupent une position Intermédiaire à l'exception de la Deglet-Nour, datte à base de saccharose par excellence (Cook J.A. et FurrJ.R., 1952).

I . 1.3.3. Les dattes sèches : Dures, avec moins de 20% d'humidité, riche en saccharose. Elles ont une texture farineuse telle que Meche-Degla, Degla Beida.

I . 1.4..Principales variétés en Algérie :

Les variétés de dattes se différencient par la saveur, la consistance, la forme, la couleur, le poids et les dimensions (Djerbi, 1994 ; Belguedj, 2002). En Algérie, il existe plus de 940 cultivars de dattes (Hannachi, Khitri&Benkhalifa 1998). Les principales variétés cultivées sont :

I . 1.4.1 .La Deglet-Nour : C'est une datte demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de datte du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. Variété commerciale par excellence. A maturité la datte est d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présente une texture fine légèrement fibreuse (Kendri S., 1999).

I . 1.4.2. Les variétés communes :

Ces variétés sont de moindre importance économique par rapport à Deglet-Nour. Les variétés les plus répandues sont : Ghars, Degla-Beïda et MechDegla (Kendri S., 1999).

I . 1.5. Les stades d'évolution de la datte :

Après la fécondation, le fruit se forme (nouaison), se développe en changeant de couleur, d'aspect et de consistance, jusqu'au stade Tmar (datte mûre). En même temps, sa composition évolue. Entre la nouaison et le stade final (Munier, 1973). Les stades phénologiques sont les suivants :

A. Stade I «Loulou»:

Stade qui suit immédiatement la pollinisation, la datte est petit et sphérique. Elle a une forme ovoïde de couleur crème avec des traits verticaux de couleur verte (Retima, 2015), le fruit est entièrement recouvert par le périgone et se caractérise par une croissance lente (Chibane, 2008), Ce stade dure de 4 à 5 semaines après la pollinisation (Munier, 1973).

a. **Stade II «Khlal »** :Ce stade se caractérise par une croissance rapide en poids et en volume des dattes, il dure sept semaines environ. Les fruits ont une couleur verte vive et un goût âpre à cause de la présence des tanins (Djerbi, 1994).

b. **Stade III «Bser »** :

Au cours de ce stade, la couleur du fruit passe du vert au jaune clair, puis vire au jaune, au rose ou rouge selon les variétés (Chibane, 2008). Les sucres totaux atteignant son maximum en fin du

stade. La datte atteint son poids maximal au début de ce stade. Il dure en moyenne quatre semaines (Djerbi, 1994).

c. Stade VI «Mretba/Martouba»

Ce stade se caractérise par la perte de la turgescence du fruit suite à la diminution de la teneur en eau et la couleur deviens foncé ou noir, l'insolubilisation des tanins qui se fixent sur l'épicarpe du fruit et l'augmentation de la teneur des monosaccharides qui donne un goût sucré au fruit. Ce stade dure de deux à quatre semaines (Djerbi, 1994).

B. Stade V«Tmar»

C'est le stade final de la maturation de la datte qui perd beaucoup d'eau et devient très concentrées en sucre (Munier, 1973).

I . 1.6. Composition biochimique de la datte :

La datte est constituée de deux parties distinctes : une comestible « la pulpe ou la chair» et un autre non comestible « noyau ».

I . 1.6.1 Composition biochimique de la pulpe :

I . 1.6.1.1. L'eau :

La teneur en eau est en fonction des variétés, du stade de maturation et du climat. Elle varie généralement entre 8 et 30 % du poids de la chair fraîche

I . 1.6.1.2 . Les glucides :

Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélée essentiellement la présence de trois types de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose (Estanove, 1990 ; Acourene& Tama, 1997).et d'autre sucres en faible proportion tels que : le galactose, la xylose et le sorbitol (Favier et al, 1993).

I . 1.6.1.3 . Les protides :

Les dattes présentent des teneurs faibles en composés protidiques, généralement moins de 3% (MS) (Boukhiar, 2009).

I 1.6.1.4 Les lipides :

Les matières grasses sont pratiquement absentes dans la pulpe (moins de 0,5% MS) (Chairaet al. 2007; Benchellah&Maka, 2008).

I . 1.6.1.5. Les fibres :

Les constituants pariétaux de la datte sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (Benchabane.A, 1996).La datte est riche en fibres, elle en apporte 8.1 à 12.7 % du poids sec, (Al-Shahib.Wet Marshall. R.J.,2002).Les dattes fines, comme la Deglet-Nour, ne contiennent qu'une faible proportion des constituants pariétaux, mais des proportions plus élevées atteignant parfois plus de 10 % dans le cas des dattes communes particulièrement fibreuses (Munier P., 1973).

I . 1.6.1.6. Les minéraux :

La caractéristique la plus remarquable des dattes réside dans la présence des minéraux et d'oligoéléments particulièrement abondants dépassant nettement les autres fruits secs (Boukhiar, 2009).

I . 1.6.1.7 . Les vitamines :

La pulpe de dattes contient des caroténoïdes et des vitamines du groupe B en quantités appréciables, mais peu de vitamine C (Meunier, 1973).

I . 1.6.2 Composition biochimique du noyau :

Le noyau présente 7 à 30 % du poids de la datte. Il est composé d'une albumine blanc, dure et corné protégé par une enveloppe cellulosique (Espiard. E., 2002). Les travaux de recherche menés sur la composition des noyaux de certaines variétés de datte d'Arabie Saoudite ont démontré la présence de protéines, de glucides, de lipides, et de minéraux (K, P, Ca, Na, Fe, Mn, Zn, Cu). En plus des protéines, le noyau contient des acides gras tels que l'acide oléique, palmique, laurique, linoléique et palmitique mis en évidence dans l'huile extraite des graines (Al Houti S. et al, 1998).

I . 1.7. Transformation de la datte

Dès l'Antiquité, en Egypte et au Moyen Orient, les populations élaboraient de nombreux produits avec les dattes qu'elles utilisaient pour leur alimentation et leur pharmacopée (Husson, 1931 ; (Barreveld, 1993 ; Al-hooti et al, 1996, Estanove et Reyenes, 1990)

I . 1.7.1 Pâte de dattes :

Les dattes sont généralement cuites à la vapeur, dénoyautés, macérés, et converti en une forme Semi-solide connus sous le nom de patte avec une teneur en humidité d'environ 20-23% et une activité d'eau inférieur à 0,6 (Ahmed et al., 2005).La pâte de datte est utilisée en biscuiterie et en pâtisserie (Espiard, 2002).

I . 1.7.2 Farine de dattes :

Les dattes macérées sont séchées à moins de 5% d'humidité (Barreveld, 1993). On obtient ainsi une farine de couleur claire, d'odeur agréable (Sawaya et al, 1982). Elle est utilisée essentiellement en biscuiterie et en pâtisserie (Barreveld, 1993; Sawaya et al, 1982).

I . 1.7.3 Sirop de dattes :

Selon Espiard E. (2002), Ces produits sont également fabriqués à base de dattes saines car il est important d'éviter tout arrière-goût de fermentation. Le sirop est préparé à base des dattes cuites dans l'eau, puis filtrées. Le jus extrait est concentré par cuisson à feu doux jusqu'à l'obtention d'un liquide coloré et sirupeux. Le sirop contient principalement des sucres dont le saccharose, le glucose et le fructose (Mohamed et Ahmed, 2006; Patzold et Bruckner, 2005).

I . 1.7.4 Alcool de dattes :

Le déchet de datte permet d'obtenir une bonne quantité d'alcool brut. Les quantités de ce dernier obtenues après 72h de fermentation et 1h20mn de distillation (Boulal, Benali & Moulai et al., 2010). L'alcool de datte est utilisé à des fins médicales. On obtient environ 25L d'alcool pur 200 kg de dattes (Reynes, 1997).

I . 1.7.5 Marmelades de dattes :

Les dattes sont dénoyautées puis réduites en pulpe, portées à évaporation après acidification jusqu'à un pH 2,5 (avec de l'acide citrique, acide ascorbique ou acide tartrique).La préparation de la marmelade nécessite tout d'abord de faire un sirop par cuisson du sucre dans 50 % d'eau

jusqu'à consistance visqueuse. Puis le mélange pulpe de datte et sirop est cuit jusqu'à 67° brix par ajout de pectine à la fin de la cuisson (Al-Hooti et al, 1997).

I . 1.7.6. Vinaigres de datte :

Une adjonction d'eau à 35-40°C est réalisée à des dattes écrasées jusqu'à l'obtention d'un liquide ayant une concentration en sucres de l'ordre de 220 g/litre. Après macération, les ferments sont ajoutés. On obtient 300 à 400l de vinaigre à 6_7° pour 100 kg de dattes. Un autre procédé consiste à partir du vin de dattes, à rajouter à ce dernier des bactéries acétiques, l'acétification se poursuit pendant six à sept jours à 30°C (Reynes, 1997).

I . 2. Généralités sur Les pommiers :

La pomme est le fruit du pommier: *Malus domestica* est une angiosperme appartenant à la famille des Rosacées, sous famille des Maloïdées et au genre *Malus*. La pomme est considérée généralement comme une baie contenant des pépins. A maturité, ce fruit est constitué extérieurement de trois zones : Le pédoncule et la cuvette pédonculaire. La cuvette oculaire et l'œil. La partie globuleuse qui s'étend entre les deux zones précédentes (Bondou. P., 1992)

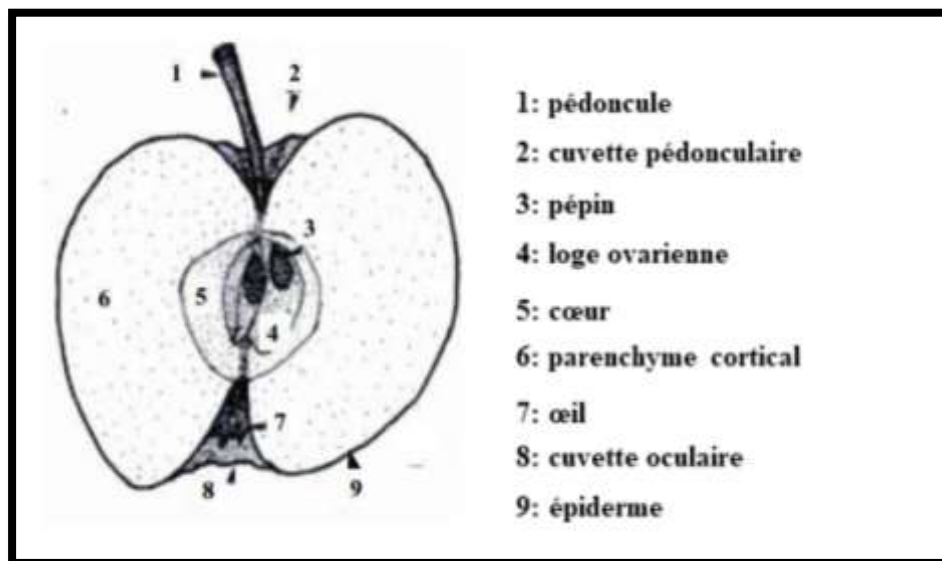


Figure 02 : Structure anatomique générale d'une pomme (Bondou, 1992).

I . 2.1 Composition de pomme :

La pomme fraîche est un fruit de composition variée principalement constitué d'eau (85,6%), et de glucides (13,8%) Elle est particulièrement riche en fibres avec une teneur moyenne de

2,4g/100g, en sels minéraux, vitamines et acides organiques .Par ailleurs, la pomme est reconnue comme un produit ayant des bienfaits pour la santé car en plus de sa teneur élevée en fibres, des composés phénoliques sont présents en grande quantité dans sa chair et dans sa peau (180 mg équivalent acide gallique/100g fruit frais) (Brat et al, 2006).

I . 2.2 Avantages thérapeutiques de pomme :

Parmi les avantages thérapeutiques des pommes ont à :

- Aide à réduire la pression artérielle.
- Contribuent au contrôle du cholestérol et du taux sucre sanguin.
- Aide à prévenir l'intoxication alimentaire
- .Aide au bon fonctionnement de l'intestin.
- Protège le cœur des maladies (Hassan et al, 2015)

I . 2.3 Caractéristiques générales des variétés :

I . 2.3.1 Fuji KiKu :

Variété originaire du Japon, c'est une mutation de la Fuji sélectionnée par Alois Braun, pépiniériste du Tyrol du sud, obtenue en 1990. Arbre au port demi dressé, de fortes vigueurs, productives mais sujettes à l'alternance. Les fruits, d'une forme arrondie à demi-élevée et souvent irrégulière, sont de moyen à gros calibre, striés rouge rubis à lenticelles en étoile. La chair, très croquante, est d'une couleur blanc-verdâtre, juteuse et très sucrée mais peu acidulée et peu parfumée. La récolte se fait à partir de la deuxième décennie d'octobre (+20-25 jours par rapport à la Golden Delicious).

I . 2.3.2. Pinova :

Variété créée par l'Institut de Recherche du Fruit de Dresde (Allemagne) en 1986. Issue du croisement de la Clivia et de la Golden Delicious. L'arbre, de vigueur moyenne, a une production régulière et abondante. Les fruits sont de moyen calibre et homogènes, de forme tronconique élevée et de couleur rouge carmin sur fond jaune. Leur chair est blanc jaunâtre, juteuse, ferme, sucrée, légèrement acidulée et agréablement parfumée et équilibrée. Sa récolte coïncide avec celle de la Golden Delicious.

I . 2.3.3.Falstaff :

Variété obtenue en Grande Bretagne par la Station Expérimentale de East Malling. Arbre de moyenne vigueur, productif et régulier. Les fruits, d'un calibre moyennement gros et de forme plutôt sphérique, sont de couleur rouge strié sur fond jaune et caractérisés par des bosselures de la peau. La chair, d'une couleur jaunâtre, est ferme, juteuse, avec un bon rapport entre acidité et sucres. Sa récolte coïncide avec celle de la Golden Delicious.

I . 2.3.4.Goldrush :

Variété américaine obtenue en 1973 par un croisement de la Coop et de la Golden Delicious.

Arbre légèrement dressé, demi-spur, modérément vigoureux et peu ramifié. Les fruits, d'un calibre moyen et de forme tronconique, ont une couleur vert-jaunâtre persistante avec un lavis bronzé et des lenticelles liées assez distinctes. La chair, juteuse de couleur blanchâtre et d'excellente texture, a une saveur épicée et une forte teneur en sucres et en acides. La récolte se fait à partir de la troisième décennie d'octobre (+30-35 jours par rapport à la Golden Delicious).

I . 2.3.5.Topaz:

Variété sélectionnée par Morgan Diemoz et Ivan Barrel par la Station Expérimentale de Strizovice en République Tchèque par un croisement de la Rubin et de la Vanda en 1984. Arbre moyennement vigoureux à faible, à mise à fruits rapide. Les fruits, rustiques et aplatis, sont de couleur rouge-orangé strié sur fond jaune avec une certaine rugosité au niveau de la cuvette pédonculaire. La chair, de coloration crème, est ferme et croquante, de texture demi-grossière, juteuse, aromatique, douce mais de type acidulée. La récolte se fait à partir de la deuxième à la troisième décennie de septembre (une à deux semaines après la Golden Delicious)

II . 1. Historique

Le vinaigre a été découvert par la plupart des anciennes civilisations. Il est utilisé comme condiment, comme agent de conservation ou il est directement dilué dans l'eau, comme boisson. Il est aussi antique que l'utilisation du vin qui remonte à plus de 10000 ans puisqu'il s'agit d'une maladie du vin. Il a été fabriqué à partir de vin de palme par les Babyloniens 5000 ans avant J-C (Bourgeois &Larpen. 1996).

En 1868 Pasteur fut le premier à démontrer que l'acide acétique provenait bien de l'oxydation de l'éthanol par des microorganismes, à qui il proposa le nom de *Mycodermaaceti* (Boukhair, 2009). Par la suite, Hansen a démontré en 1879 la présence de plusieurs espèces bactériennes. Beijerinck proposa en 1899 le nom du genre *Acétobacter* (Bourgeois &Larpen, 1996).

Louis Pasteur identifie scientifiquement les cinq critères indispensables à sa production.

1-présence d'Alcool : celui contenu dans le vin, le cidre ou autre boisson alcoolisée.

2-présence d'Oxygène : celui de l'air convient parfaitement l'affaire.

3-présence d'un ferment : *Mycodermaacéti*, en fait une bactérie qu'on renommera *Acétobacter acéti*(Tesfaye et al, 2002).

II . 2. Définition :

Le vinaigre, étymologiquement dérive de vin et aigre. C'est un vin rendu aigre par le développement de bactéries acétiques. Par extension, on a appelé vinaigre tout produit obtenu par la fermentation acétique de boissons ou de dilutions alcooliques (Bourgeois et Larpen, 1996).Selon la FAO (1987), le vinaigre est un liquide adapté pour la consommation humaine. Il est produit à partir du matériel approprié d'origine agricole. Il renferme dans sa composition de l'amidon et/ou des sucres, Il contient une quantité indiquée d'acide acétique obtenu par le processus de double fermentation, alcoolique et acétique (Tesfaye et al, 2002).

II . 3.Composition du vinaigre:

Le principal constituant du vinaigre est l'acide acétique. Les composés secondaires, tel que l'acide tartrique, l'acide succinique et les matières azotées, proviennent de la matière première utilisée, des nutriments ajoutés au milieu réactionnel et de l'eau de dilution (Follman, 1983).

Par contre, d'autres composés se forment au cours de la fermentation acétique (produits de fermentation) ou bien résultent de l'interaction des composants entre eux, tel que l'acétate d'éthyle qui contribue à la saveur du vinaigre (Boughnou, 1988).

Les critères de différenciation entre les types des vinaigres sont les taux en extrait sans sucre, en sorbitol en acétoïne, en acide lactique en acide tartrique ou en lactose (Matheis et al, 1995).

- le vinaigre de vin contient l'acide L-tartrique
- le vinaigre de pomme contient l'acide L-malique
- le vinaigre de petit lait (lactosérum) contient l'acide D- et L-lactique
- le vinaigre de citron contient l'acide citrique

II. 4. Type de vinaigre :

Il existe alors plusieurs types de vinaigre selon la matière première utilisée en vinaigrerie et le processus de fabrication. (Clavet, 1912)

- A. Vinaigre de betterave :** s'obtient en soumettant du jus de betterave à l'acétification le, on le mélange d'un égal volume de vinaigre d'alcool (Clavet, 1912 ; cité par Sebihi, 1996).
- B. Vinaigre d'alcool :** fabrication à partir d'éthanol distillé. L'origine de l'éthanol peut être la fermentation ou la synthèse chimique (Hamidi&Slimani, 2008).
- C. Vinaigre du vin :** est le vinaigre du vin est un produit constitué de solution aqueuse riche en acide acétique, et résulte d'une fermentation acétique spontanée ou imposée du vin. Le vinaigre du vin est un vinaigre de couleur blanchâtre, jaunâtre ou rouge suivant la couleur du vin dont il provient. Il est d'une odeur agréable. L'odeur est d'autant plus développée lorsque le vinaigre est conservé longtemps en fût avant d'être livré à la consommation. La saveur est de fabrication acide et ne produit pas de sensation désagréable à la longue. (Suman.V, Rehana.A et Tawheed.A, 2014).
- D. Vinaigre de mélasse :** ce vinaigre est préparé à partir de sirop de sucre ou de mélasse. Il sert à tirer parti des sous-produits de l'industrie du sucre, mais n'est pas beaucoup utilisé (Raspor.P, 2008)
- E. Vinaigre balsamique :** Il est originaire de Modène dans le nord de l'Italie. Il se fabrique à partir de moût de raisins sucrés du cépage. Vendangé tardivement, ce qui lui offre plus de sucre et une saveur incomparable. Il est de couleur brune foncée, d'un parfum intense et sucré (Bouaziz, 2008).

- F. Le vinaigre de céréales :** C'est un vinaigre obtenu sans distillation intermédiaire à partir de n'importe quelle céréale dont l'amidon a été transformé en sucre par d'autres agents que les seules diastases de l'orge maltée (Codex Alimentaires, 1987).
- G. Le vinaigre (de vin) de fruits :** le vinaigre (de vin) de petits fruits et le vinaigre de cidre sont des vinaigres obtenus à partir de vin de fruits ou de vin de petits fruits ou de cidre par fermentation acétique, la concentration maximale prévue pour les acides volatils dans la matière première pouvant toutefois être dépassée. Ces vinaigres peuvent aussi être préparés à partir de fruits (Codex Alimentaires, 2000)
- H. Vinaigre de glucose :** Il est obtenu par l'acétification d'un liquide alcoolique provenant de la fermentation d'une solution de glucose commerciale, ce vinaigre a une acidité 42 à 60,5 % (Benaoun, 2007).
- I. Vinaigre de petit lait :** Fabriqué au moyen du sérum du lait enrichi de la quantité de sucre nécessaire pour obtenir un vinaigre d'acidité normale. C'est un liquide légèrement teinté en jaune ambré avec une saveur agréable (Beneddine & Bentadj, 2009).
- J. Vinaigre de dattes :** Les dattes peuvent être utilisées comme matière première de choix pour la Production de vinaigre vu leur richesse en sucres.

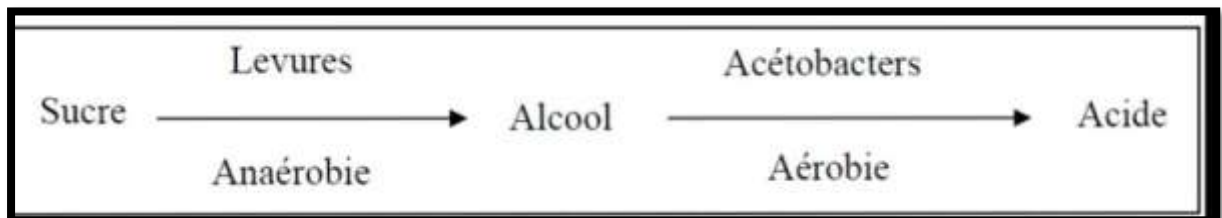


Figure03 : Production du vinaigre vu leur richesse en sucre

II .5.Méthodes de fabrications du vinaigre

Selon Guiraud (1998), les principales procédées de fabrication sont :

II .5.1. Procédé d'Orléans : Le vin est oxydé dans des tonneaux exposés à l'air. Il se forme un voile de bactéries Acétiques. Le soutirage du vinaigre et l'addition de vin se font par le fond du récipient (Dahmani & Rabbouh, 2009).

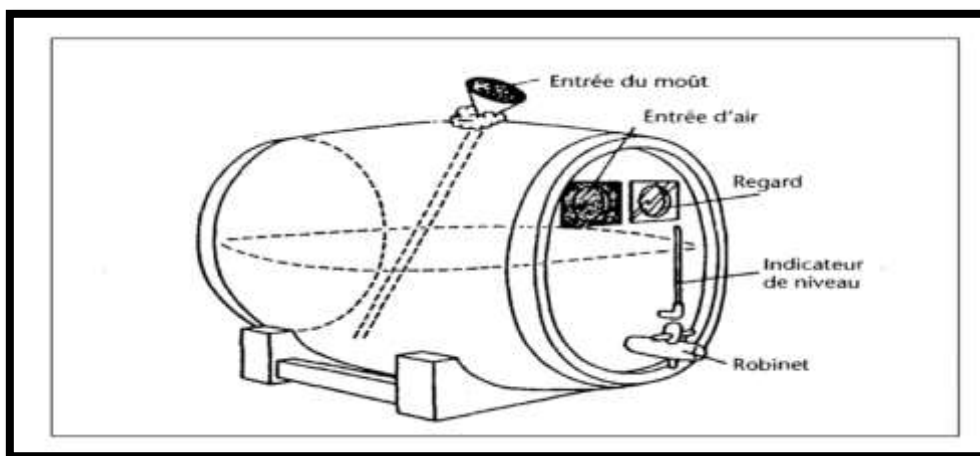


Figure04: Schéma d'un tonneau préparé pour l'acétification selon le procédé D'Orléans (Bourgeois & Larpent, 1996).

II . 5.2. Procédé de schutzenbach : Le vin ruisselle dans des colonnes contenant des copeaux de chêne qui fixent les bactéries acétiques (Beneddine&Bentadj, 2009)

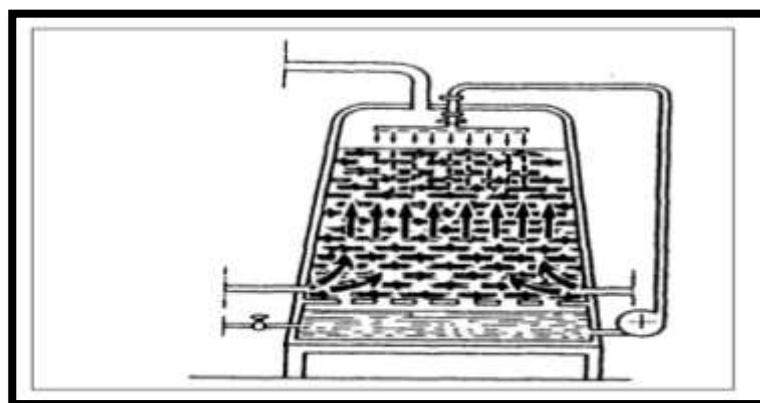


Figure 05 : Schéma de l'acétification à biomasse fixée sur des copeaux de hêtre (Bourgeois &Larpent, 1996)

II . 5. 3. Procédé en culture submergée : S'effectue dans des fermenteurs munis d'un système d'aération forcée (acetatorCavitator). Tous les procédés de production de vinaigre utilisent des flores mixtes d'acetator (Bouaziz, 2008)

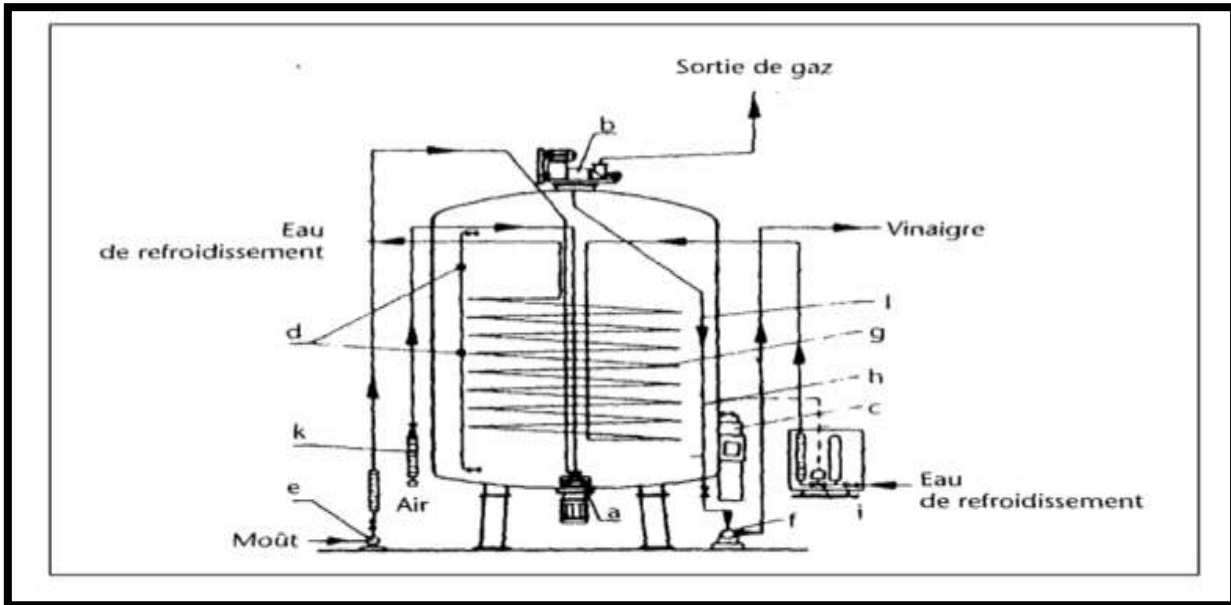


Figure06: Acétator de Frings (Bourgeois &Larpen, 1996)

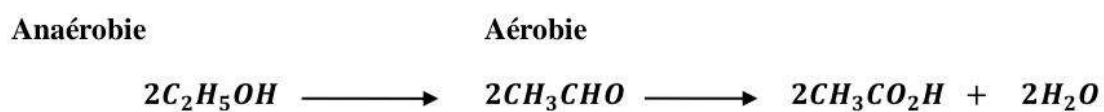
II . 6.Importance de vinaigre:

Les anciens médecins arabes ont parlé du vinaigre en citant ses effets utiles la santé. Il calme les douleurs d'estomac. Il guérit la jaunisse. Il est bon pour la rate. Il étanche la soif. Il prévient les tumeurs. Il facilite la digestion. Il améliore l'appétit. Il calme les brûlures, et il est utile pour les fourmillements (Koudama, 1990 cité par Ould El Hadj M.D., 2001).

Il est également considéré comme un produit essentiel dans la cuisine. Il a de multiples usages. Il sert De condiment. Il empêche l'oxydation des fruits et légumes. Il prolonge la durée de vie des Aliments (CACQE, 2002).En utilisation Le vinaigre comme condiment, antioxydant, conservation d'aliment, etc... Il est aussi utilisé pour soigner plusieurs maladies et infections tel que : les maux de tête et de gorge, la constipation, les pellicules, les toux, les piqûres des insectes, les brûlures, etc... (Arab. H. et Guezzoun K., 2003).

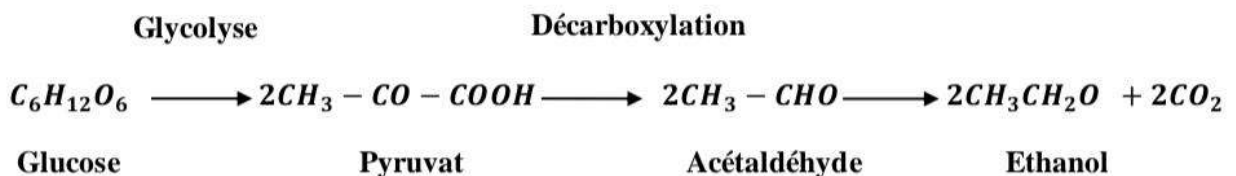
II .7.Technologie du vinaigre:

La technique d'élaboration du vinaigre traditionnelle est basée sur une double fermentation combinée: anaérobie et aérobie. Cette bioconversion utilise des levures et des bactéries acétiques présentes naturellement dans jus fruits. Celles-ci entraînent une production d'éthanol qui est transformé en acide acétique. C'est un procédé où les deux réactions biotechnologiques se déroulent au même temps, bien que les exigences des organismes unicellulaires mis en jeu diffèrent en matière d'oxygène (Bourgeois et Larpent, 1990).



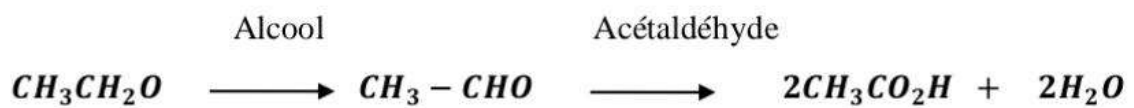
II .7.1 Fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique se déroule en milieu anaérobie. Elle est assurée par des levures du genre *saccharomyces* à la température ambiante pendant quelques jours. Elle est principalement basée sur la transformation des sucres, essentiellement le glucose et le fructose, qui pénètrent dans la cellule de la levure par diffusion facilitée (Bourgeois & Larpent, 1996; Larpent, 1991). La décarboxylation de l'acide pyruvique à la suite de la glycolyse puis réduction de l'acétaldéhyde en éthanol. Cette fermentation intervient dans la fabrication du vin, de la bière, de cidre et divers boissons fermentées, ces derniers peuvent servir de matières premières à la fabrication du vinaigre. Son but est essentiellement fabrication de l'éthanol (Branger, 2008). La réaction se déroule selon l'équation suivante :



II .7.2 La fermentation acétique:

La fermentation acétique assurée par les acétobacters qui oxydent l'éthanol en acide en présence d'oxygène. Les acétobacters sont des bactéries aérobies strictes ou facultatives, donc l'oxygène est nécessaire pour oxyder l'éthanol en acide acétique, et elles tolèrent un pH de 3 à 4. Le degré d'alcool est compris entre 7° et 12°, car au delà de 12°, l'éthanol se transforme en gaz carbonique et en eau ; pour la fermentation acétique (Guiraud et al, 1998).



II .7.3 Protocole expérimentale de fabrication de vinaigre:

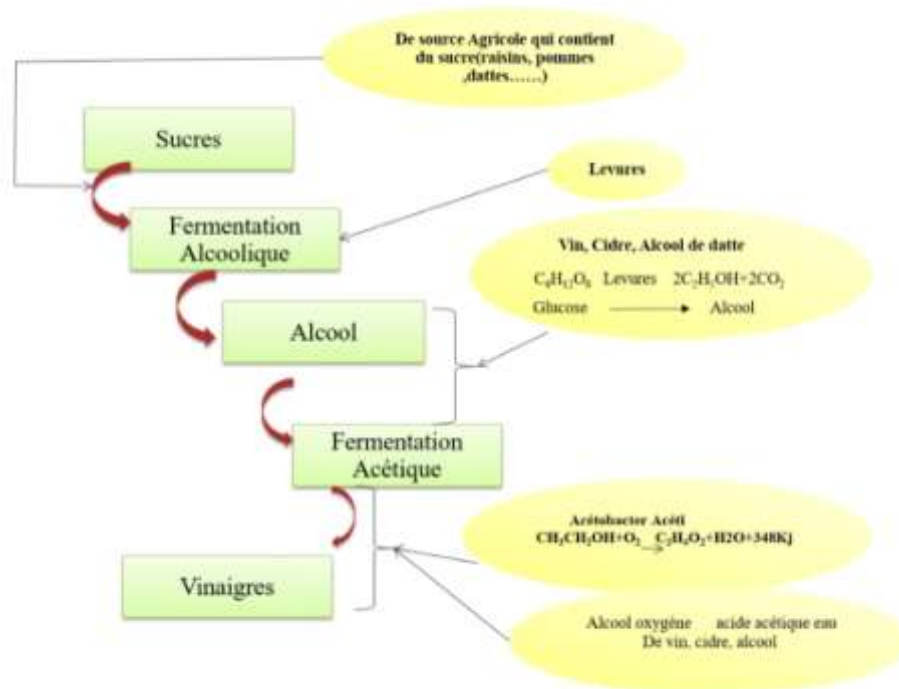


Figure 07: Protocole expérimentale de fabrication de vinaigre (Brewdusud, 2004)

III. 1. Les bactéries acétiques :

Les bactéries acétiques sont présentes naturellement sur les fruits, les légumes, dans l'air, dans les Vins... (Michael et Pleczar, 1982). Elles se présentent au microscope sous forme de petits bâtonnets gram négatifs, aérobies stricts et leur métabolisme est strictement respiratoire où l'oxygène est l'accepteur final d'électron. Souvent groupées en paires et parfois en chaînettes. Elles sont parfois allongées, asporulées, généralement mobiles. Leurs tailles varient de 0,5 à 0,8 µm de large et 0,9 à 4,2 µm de long. Ils sont oxydase négative, ont un métabolisme de type oxydatif. Ce sont les agents de la fermentation acétique qui est une oxydation incomplète de l'éthanol (Guiraud, 2003). Il existe l'existence de deux genres *Acetobacter* et *Gluconobacter*. Le premier contenait des trois espèces *A. aceti*, *A. Pasteurianus* et *A. peroxydans* ; le deuxième comprenait une seule espèce *G. oxydans*. Mais pour la plupart des espèces, des sous espèces étaient différenciées par des caractères phénotypique (Aline et al, 2010). Les bactéries acétiques sont représentées par les genres *Acetobacter* qui peuvent oxyder l'acide acétique et l'acide lactique en CO₂ et H₂O (pouvoir suroxydant alors que *Gluconobacter* qui ne le peut pas). Certains oxydent aussi d'autres composés (glycérol, glucose...) et d'autres matières telles que la cellulose. (Larpent, 1997). Bourgeois et Larpent (1996). Guiraud (2003), ont trouvé que les bactéries Acéti sont capables de transformer 80 % du glucose en acide gluconique à l'aide d'une enzyme glucose oxydase et 20% utilisé comme source de carbone et d'énergie. Ils ont prouvé aussi que cette bactérie est capable d'oxyder le mannitol, fructose, maltose, galactose, lactate de sodium et l'éthanol et l'acétate de sodium.

III. 2. Facteurs influençant sur la croissance des bactéries acétiques :

III. 2.1 Oxygène:

Plusieurs auteurs ont montré que la fermentation acétique était réalisable avec une bonne performance en milieu liquide bien aéré: une remarquable production spécifique d'acide de la population bactérienne utilisée qui est égale à 21 g d'acide produit par gramme de bactéries et par heure à 30 °C. La formation d'un gramme d'acide acétique nécessite tout l'oxygène contenu dans deux litres d'air. à des teneurs élevées l'oxygène entraîne une oxydation de l'acide acétique. Cependant Les arrêts d'oxygénation entraînent la destruction des cellules (Belkacem, 1987).

III. 2.2 Température:

La température augmente la rapidité de l'acétification avec laquelle se déroule la réaction. Est compris entre 15°C et 40°C l'optimum de croissance se situe à 30°C (Aboulala ,2008)

III. 2.3 pH:

Le pH idéal pour réussir un vinaigre va de 3,5 à 5. A pH bas les bactéries se reproduisent encore mais beaucoup plus lentement (Poxixoo, 2003).

III. 2.4 Concentration en éthanol:

Les concentrations en éthanol comprises entre 10 et 13 % sont aisément converties en acide acétique. Pour des concentrations supérieures à 14 % (volume par volume), l'éthanol est oxydé difficilement et incomplètement. De même lorsque la teneur en éthanol est inférieure à 7% (v/v) L'acide acétique formé est oxydé en CO₂ et H₂O (Belkacem ,1987) .

III. 2.5 Acide acétique:

L'acide acétique était activateur de la croissance des acétobacter jusqu'à la valeur de 2°(Bourgeois et Larpent, 1996).

III. 2.6 Lumières:

La lumière diffuse ne permet qu'une fermentation acétique très lente, elle est la plus active à l'obscurité. Les rayons ultra-violetts sont nocifs (Duculot, 1932).

III. 3. Classification :

Hansen en 1878, proposées Plusieurs classifications de ces bactéries, à de nombreux caractères. La plus récente tient compte de leur faculté d'oxyder CH₃COOH en CO₂ et H₂O ou lactate de calcium, de Leur faculté de produire de l'acide gluconique aux dépens du glucose, et aussi de la Présence de catalase, de leur pouvoir cétoène, et de certains caractères cultureux (température optimales, formation de pigments, de voiles utilisable possible de sels ammoniacaux comme seul source d'azote ...etc)(Lambin et German, 1969). En 1957, Bergy's dit que les genres *Gluconobacter*, *Acetomonas* et *Acetobacter* entrent dans la famille des *Pseudomonaceae* et dans la tribu des *pseudomonadae*. Les bactéries acétiques sont classées en quatre groupes (Glazy, 1980).

-Groupe *suboxydans* : représente par *Gluconobactersuboxydans*.

-Groupe *mesoxydans*: représente par *Acétobacter aceti*.

-Groupe *oxydans*: représente par *Acétobacter pasteurianus*.

-Groupe *peroxydans*: représente par *Acétobacter pyroxydans* (Belkacem, 1987).

Généralement la classification d'*Acétobacter* est basée sur les caractères cultureux, morphologiques, structuraux, biochimiques, et physiologiques.

III. 4. Caractères cultureux:

Tous les *Acétobacter* sont caractérisés par leurs propriétés de former des voiles (mère de Vinaigre) plus ou moins importantes à la surface de milieux nutritifs (Lambin et German, 1969). Les colonies d'*Acétobacter* sont blanches, jaunes, irrégulières sur milieu solide de Frateur en boîtes de pétri (Oules El hadj, 2001).

III. 5. caractères morphologie:

Les cellules des bactéries acétiques apparaissent au microscope optique sous forme de petits bâtonnets, souvent groupées et parfois en chaînettes. Leur taille varie de 0,5 à 1 μm de large et 2 à 3 μm de long. Les formes d'involution sont fréquentes (Bourgeois et Larpent, 1990). Elles ont des formes bacillaires, quelquefois ellipsoïdales, il existe des espèces immobiles, et d'autres mobiles avec un cil polaire. Elles croissent bien en général sur autolysat ou extrait de levure additionné d'éthanol et d'autres substances oxydables (Prevot, 1961)

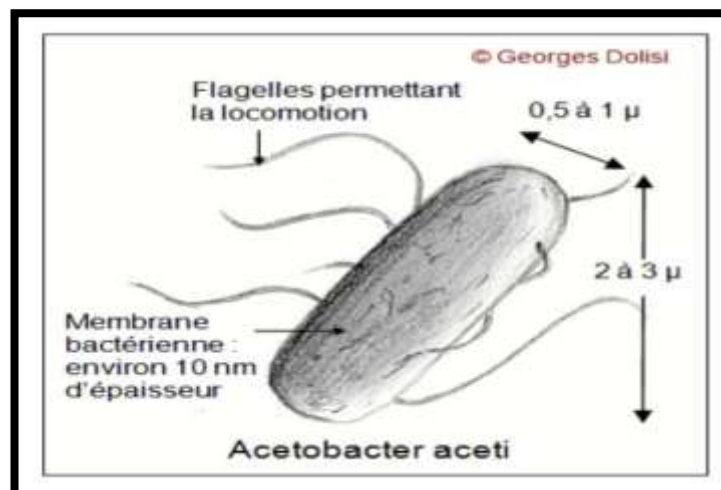


Figure 08 : Morphologie d'*Acétobacter aceti*

III. 6. Caractères biochimiques:

III. 6.1. Transformation de l'alcool en acide acétique :

Toutes les espèces de la tribu d'*Acétobacter* oxydent l'alcool en acide acétique, mais les espèces des groupes peroxydans et mesoxydans sont capables d'oxyder l'acide acétique produit et de la transformer gaz carbonique et eau (CO₂+H₂O) (Girard et Rougieux, 1958).

III. 6.2 Réaction de la catalases :

La présence de cette enzyme dans le microorganisme permet la décomposition de l'eau oxygénée produit en fin de chaîne d'oxydoréduction. Seules les espèces du groupe *peroxydans* sont catalase négatives (Girard et Rougieux, 1958)

III. 6.3 Pouvoir cétoène:

Ce pouvoir se caractérise par la propriété de transformer la fonction alcool secondaire en fonction cétone. Le pouvoir cétoène se rencontre chez les espèces des groupes *Mesoxydans* et *suboxydans*. C'est à partir de glycérol qu'il y a production de Dihydroxyacétone par *Acétobacter xylinum*, *Acétobacter suboxydans* suivant la réaction (Girard et Rougieux, 1958). :

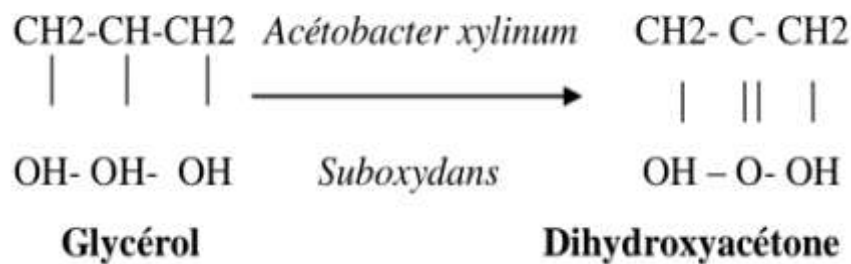


Figure 09: Réaction de formation de dihydroxy acétone à partir de glycérol (Simon et Maunier, 1970)

III. 6.4 Transformation du glucose en acide gluconique :

Cette propriété appartient à toutes les espèces d'*Acetobacter*, sauf à celles du groupe *peoxydans* et *Acétobacter ascendens* du groupe *oxydans* (Girard et Rougieux, 1958), selon la réaction :

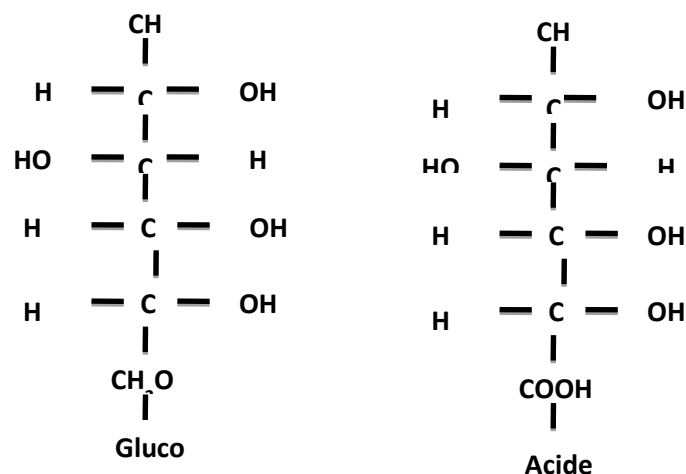


Tableau I : caractéristiques biochimiques des groupes des bactéries acétiques (Girard et Rougieux, 1958)

Groupe	Catalase	Oxydation de l'acide acétique	Oxydation du lactate de Ca formation de CaCO ₃	Formation d'acide gluconique	Pouvoir cétoène
Peoxydans	-	+	+	-	-
Oxydans	+	+	+	+	-
Mesoxydans	+	+	+	+	+
Suboxydans	+	-	-	+	+

III. 7. Caractère physiologique:

L'*Acetobacter* est dit sur-oxydateur, car il peut oxyder l'acide acétique jusqu'au Dioxyde de carbone par son cycle complet des acides tricarboxylique (Gerom et al., 2002). Certaines souches d'acétobacters forment des micro-fibrilles extracellulaires de Cellulose qui entoure la masse des bactéries en division (Gerom et al., 2002). Des cellules non proliférant des bactéries peuvent synthétiser la cellulose en anaérobiose à partir de mannitol de fructose et de glucose (Lambin et German, 1969). La protection des bactéries contre l'acide acétique du milieu est vraisemblablement due à un système membranaire énergétique, couplé au métabolisme de

l'éthanol, car l'arrêt de l'oxygénation et l'absence d'éthanol, entraîne la mort des cellules (Bourgeois et Larpent, 1996).

III. 8. Besoins nutritionnels:

Les besoins nutritionnels d'*Acetobacter* sont fortement liés à la source carbone. La plupart des souches sont auxotrophes pour certaines vitamines, notamment le parabène, la niacine, la thiamine et l'acide pantothénique. Ils peuvent utiliser l'ammonium comme source d'azote. Les bactéries qui subissent une fermentation alcool-acétate peuvent se développer sur des milieux minéraux contenant deux sources de carbone, le glucose et l'éthanol, mais les substrats utilisés industriellement ont des exigences nutritionnelles plus complexes et nécessitent un extrait de levure pour leur croissance (Bourgeois et Laprent, 1996)

III.9. Métabolisme :

III. 9.1. Oxydation des hydrates de carbone:

La majorité des bactéries acétiques est d'oxyder une grande variété de substrats et accumuler quasi intégralement les produits dans le milieu.

III. 9.2. Ethanol:

les bactéries acétiques possèdent des déshydrogénases très actives situées sur leurs systèmes membranaires et intimement couplées à la chaîne cytochromique (Mastushita et al., 1985 ; Bourgeois et Larpent, 1996). A côté des enzymes membranaires, les bactéries acétiques possèdent des éthanol et acétaldéhydes déshydrogénases solubles liées au NAD et au NADP (Kerstens et al., 2006 ; Bourgoi et Larpent, 1996)

III. 9.3. Sucres et Alcools:

Selon Hugeen 1955, De nombreux sucres peuvent être oxydés directement. Le glucose est oxydé en acide gluconique, il peut aussi après phosphorylation être entièrement oxydé en CO₂ et H₂O. On peut retrouver à côté de l'acide gluconique l'acide 2-céto-gluconique, l'acide 5-céto-gluconique et l'acide 2-5-céto-gluconique (Bourgoi et Larpent, 1996). La capacité céto-gène à partir du glucose est très différente selon les souches (Stadler-Szoke et Coll, 1980).

III. 9.4. Oxydation de l'acétate :

Les bactéries du genre *Acetobacter* possèdent toutes les enzymes du cycle tricarboxylique) et donc peuvent suroxyder l'acétate (RAO, 1955). Les bactéries du genre *Acetobacter* (Divies, 1989) oxydent l'éthanol en acide acétique et ensuite oxydent l'acétate lorsque l'éthanol a disparu du milieu de culture. L'éthanol inhibe et réprime les enzymes d'oxydation de l'acétate, l'acide acétique inhibe sa propre oxydation pour des concentrations supérieures à 08° et inférieure à 3° (Bourgeois et Larpent, 1990)

Matériel

Et

Méthodes

IV. 1. L'objectif de travail :

Le présent travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Microbiologie Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Mostaganem Abd El Hamid Ibn Badis, durant la période Mars- Avril -Mai.

L'objectif de notre travail est la recherche, l'isolement et pré-identification de quelques souches des bactéries acétiques isolées de vinaigres traditionnels de dattes et de pommes, extraction jus de fruits à partir des déchets de pommes et datte puis élaboration de vinaigre à l'aide de bactéries acétique.

IV. 2. Echantillonnage :

Les échantillons de vinaigre traditionnel de dattes et de pommes sont récoltés dans des bouteilles en verre stériles

IV. 3. Milieux de culture :

L'isolement des bactéries acétiques en vue de leur identification ou de leur numération peut donc demander l'emploi de milieu sélectif doté de propriétés antibactérienne et si possible antifongique. Le milieu de culture de base pour les bactéries acétiques est un milieu liquide glucose contenant du CaCO_3 (bouillon pour les bactéries acétiques). Pour un isolement sélectif, il est préférable d'utiliser un milieu à l'éthanol du type de ceux décrite pour différencier les *Acétobacter* des *Gluconbacter* et qui permettant à la fois un isolement et une différenciation : milieu gélose de frateur (Guiraud, 2003) (Annexes)

IV. 4. Techniques d'isolement

1 ml de chaque échantillon (1ml de vinaigre de datte, 1ml de vinaigre de pommes) a été pipeté aseptiquement dans 9ml d'eau physiologique et des dilutions décimales ont été réalisés (10^{-1} à 10^{-3}).La technique d'isolement consiste à prélever 0,2 ml de solution mère et 1 ml des dilutions (10^{-1} à 10^{-3}) sontensemencées en profondeur sur boites (1 ml) on utilise boites pour ces dilutions, chaque dilution contient 2boite. Le milieu L'isolement sélectif des bactéries acétiques a été effectué sur milieu frateur, Apres solidification de milieu, les boites de pétri sont incubées à 30°C pendant 48 heures (Aboulala, 2008), (figure10)

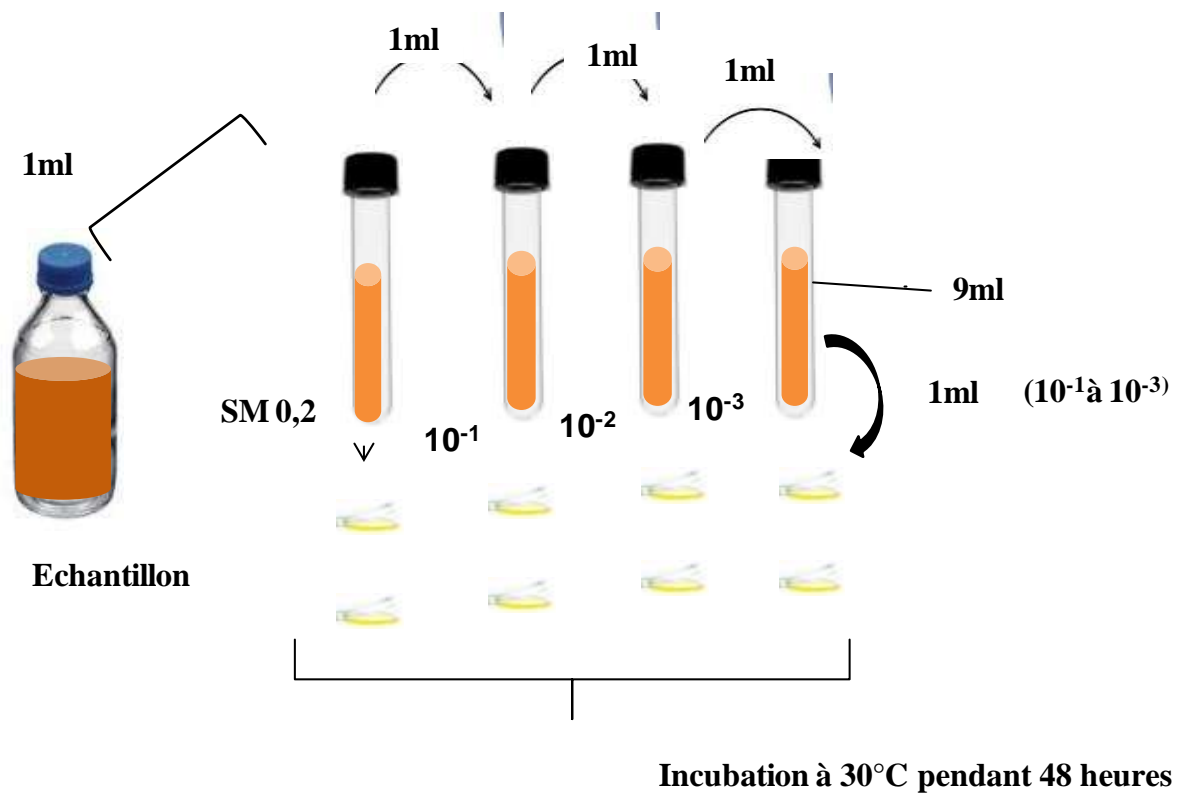


Figure 10 : Isolement sur milieu frateur à partir de la solution mère et les dilutions décimales jusqu'à 10^{-3} (Benaissa.A 2020)

IV.5. Purification des souches

Pour assurer la purification des souches, on fait plusieurs isolements successifs sur milieu Frateur. La vérification de la pureté de la souche s'effectue par plusieurs repiquages du milieu solide sur des boîtes de Pétri. Après l'incubation, l'observation des caractères cultureux permet de désigner la pureté des souches. L'examen microscopique est réalisé à partir des colonies isolées sur milieu de culture. Les colonies issues des derniers isolements sont ensemencées sur des tubes à gélose inclinée (milieu Frateur) (Guiraud, 2012).

IV. 6. Préparations d'une suspension bactérienne :

On met stérilement de l'eau physiologique dans des tube a essai, puis on prélève les colonies pures et les mettre en suspension, si la suspension est trop trouble, ajuster l'opacité en ajoutant de l'eau physiologique (Guiraud, 2003).

IV. 7. Conservation des souches isolées

IV. 7.1-Conservation des souches isolées à quelques semaines (Courte durée)

La conservation se fait dans des tubes de gélose inclinée (milieu de Frateur) (Bougnou, 1988), selon la méthode suivant :

- 1- prélever la colonie suspecte isolée, A l'aide d'une pipette Pasteur.
- 2-Ensemencer l'inoculum sur milieu Frateur incliné.
- 3-Incuber le milieuensemencé à 30°C pendant 48h.
- 4-conserver la culture à 4°C. (Guiraud, 2003).Figure 11

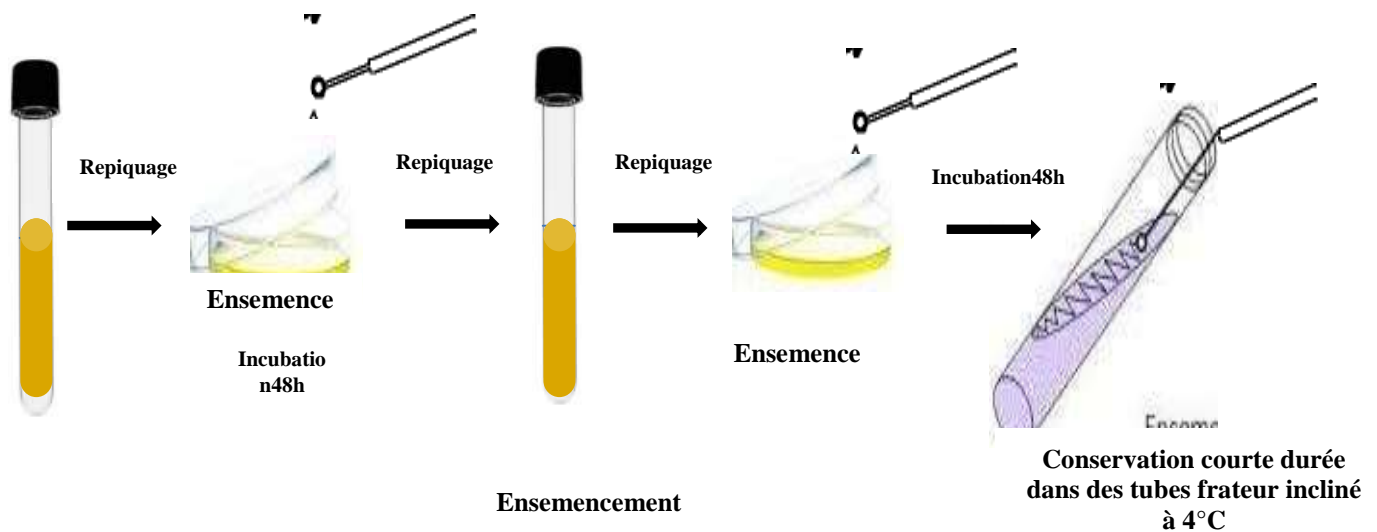


Figure 11: Schéma de conservation Courte durée des bactéries acétique purifiées

IV. 7.2-Conservation des souches isolées à longue durée:

Premièrement les bactéries acétiques isolées sont centrifugée deux fois avec l'eau physiologie puis ensemencées dans des Micro tube Eppendorfs contient milieu de frateur liquide avec le 15% de glycérol, les cultures sont conservées en suspension dense en tubes Eppendorfs à – 4°C, ils étaient conservés une année (Vincent, 1970) (**Figure 12**)

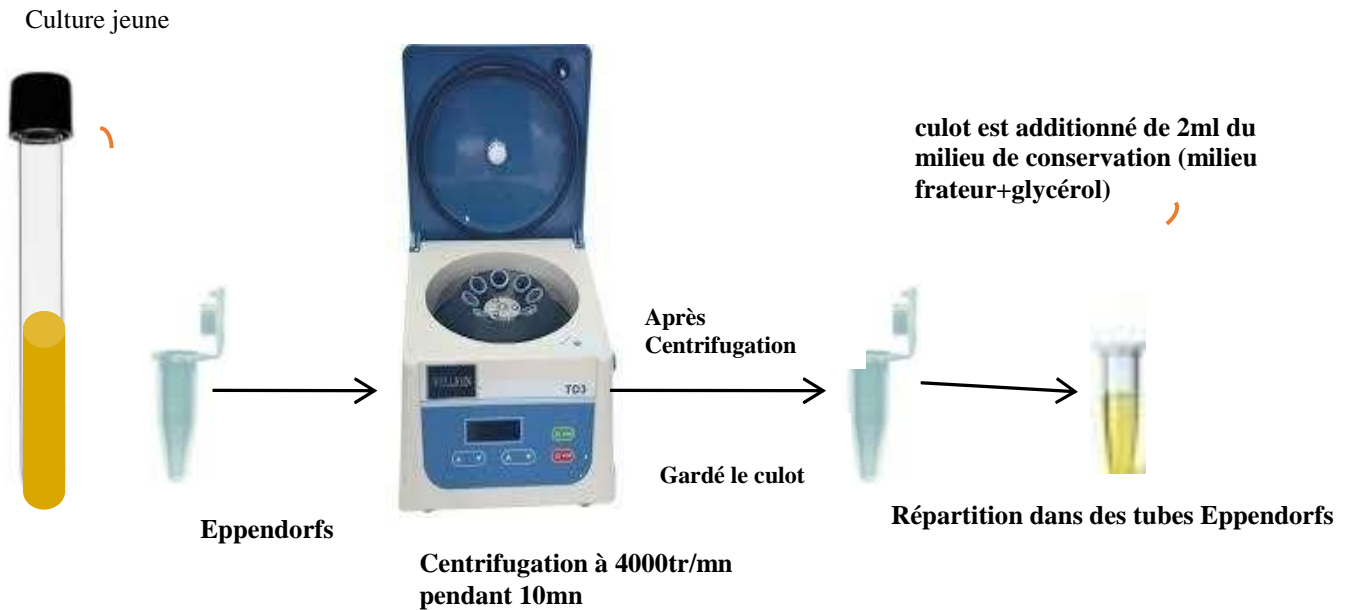


Figure 12 : Schéma de conservation long durée des bactéries acétique purifiées

IV. 8. Pré-identification des bactéries acétiques

L'identification des souches pures de bactéries acétiques, fait appel à des caractères cultureux, morphologique et physiologiques. (Aboulala, 2008).

IV. 8.1-Etudes des caractères cultureux

Il s'agit de noter l'aspect des cultures en milieu solide gélosé de Frateur, les cultures sont incubées à 30° C pendant 48 heures (Tekkouk, 1997). On notera la forme, la couleur, la taille et l'aspect des colonies (Aboulala, 2008).

IV. 8.2-Etudes des caractères morphologiques

Elles permettent d'observer la morphologique, la taille, le mode de regroupement, le mode de multiplication et la mobilité des cellules bactériennes. Cette étude comprend des examens microscopiques à l'état frais, puis des examens microscopiques après coloration sur frottis fixés (coloration de gram) (Guiraud, 2012).

a. Réalisation des examens microscopiques

Après Purification les souches ont été retrouvées par l'examen macroscopique. Elles sont microscopiques utilisées sont de deux types : Etat frais et frottis (Aboulala, 2008).

b. Examen à l'état frais

En microbiologie, une préparation à l'état frais consiste à enfermer entre lame et lamelle une suspension de microorganismes vivants (Figure 13). Il permet alors d'observer : la forme des cellules, leur mode de groupement, leur mobilité et le nombre approximatif des bactéries par champ microscopique. Toutes ces informations définissent la morphologie bactérienne ce qui constituent les premières critères d'identification. Un microscope optique est utilisé pour effectuer la mise au point avec un objectif grossissant x40 (Gr x100 ou Gr x400).



Figure 13:Etapes de préparation d'une lame d'examen à l'état frais. (Benaissa.A 2020)

c. Frottis (la cellule est morte)

La réalisation du frottis nécessite d'avoir un frottis fixé, soit par de l'alcool durant 5 minutes (et rinçage à l'eau) ou plus classiquement en effectuant une fixation simple de l'eau distillé et à la flamme. Pour cette dernière étape, sur une lame on dépose une goutte d'eau distillé; puis ajouter à l'aide d'une anse de platine stérilisée la colonie isolés qu'il faut étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15minutes (Guiraud, 2012)

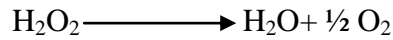
d. Coloration de Gram:

les isolats ont été soumis à la coloration de Gram qui nécessite de déposer quelques gouttes de violet de gentiane sur un frottis fixé pendant 1 min, après rinçage, le lugol est déposé pendant 30 sec, la préparation est décolorée à l'alcool 90% et rincé à l'eau distillée. Comme une dernière étape, quelques gouttes de fuchsine sont versées sur la lame en la laissant agir 1 min. La lame est ensuite lavée à l'eau distillée. Après séchage à l'air libre, la lame est passée à l'observation microscopique, avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x1000) (Guiraud, 2012)

IV. 8.3. Etudes des caractères physiologiques et biochimiques:

IV. 8.3.1 Test de catalase:

Par le processus d'oxydation la catalase dégrade l'eau oxygénée. Selon la réaction suivante :



Sur une lame mets une goutte d'eau oxygénée et reparte un peu de culture en milieu solide, 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).

Formation de bulle d'air \longrightarrow la bactérie possède la catalase \longrightarrow Catalase positive (cat⁺).

Pas formation de bulle d'air \longrightarrow la bactérie ne possède pas l'enzyme \longrightarrow catalase négative (cat⁻) (Guiraud, 2003).

Il ne faut pas utiliser d'anse de platine, car elle réagit avec H₂O₂ et donne un faux positif. Il est déconseillé de faire ce test à partir d'un bouillon de culture ensemencé, car le résultat est moins net. En cas de doute sur le résultat, refaire avec une plus grosse colonie (Guiraud, 2003).

IV. 8.3.2 Pouvoir cétoïque:

Certaines bactéries acétiques ont la capacité de transformer le glycérol en dihydroxy acétone, qui peut être mise en évidence par la liqueur de Fehling. Un milieu gélosé au glycérol est coulé en boîte de pétri et ensemencé par touches. Après 48 heures d'incubation à 30° C, une colonie des bactéries a prélevé et inséré dans un tube contenant une solution de Fehling, puis chauffer jusqu'à l'ébullition. Un halo d'oxyde de cuivre rouge se développe autour des colonies à pouvoir cétoïque (Guiraud, 1998).

IV. 8.3.3 Culture en présence d'ammonium comme seule source d'azote et de 3% d'éthanol:

Elle est mise en évidence sur le milieu de liquide de Hoyer-Frateur. Une à trois gouttes de suspension bactériennes pour l'incubation de milieu à 30 ° C, pendant une période allant de 2 à 14 jours. Il y a une formation d'une membrane de couleur blanche, ce résultat doit être comparé à un milieu Témoin sans ammonium (Guiraud, 1998).

IV. 8.3.4 Présence d'un pigment sur le milieu d'isolement:

Certaines souches de bactéries acétiques possèdent un pigment rose ou brun. Pour réaliser le test de pigmentation on utilise un milieu glucose carbonate solide ; les souches sont ensemencées et incubées à 30° C, pendant 48 heures. On remarque la présence ou l'absence de pigmentation (Guiraud, 2003).

IV. 8.3.5 Formation d'acide gluconique à partir du glucose:

Le test de formation d'acide gluconique se réalise en utilisant le milieu gélosé carbonaté solide, les souches sontensemencées et incubées à 30° C, pendant 48 heures. Le développement s'est traduit par l'apparition des zones claires autour les colonies (Guiraud, 2003).

IV.8.3.6 Formation d'acide cetogluconique:

Elle est mise en évidence sur le milieu de Haynes. Les souches sontensemencées dans les tubes et incubées à une température de 30° C, pendant 48 Heures. La révélation se fait à l'aide du réactif de Bénédict avec 10 minutes de chauffage au bain- Marie à 100°C. S'il y a formation d'acide ctogluconique à partir de glucose, on note l'apparition d'un précipité rouge orangé (Guiraud, 2003).

IV.8.3.7 Production de cellulose:

Le test de production de cellulose par les bactéries acétiques se réalise en utilisant le bouillon. Après l'ensemencement et l'incubation à 30° C pendant 48 heures. Il y a une formation d'un Pellicule à la surface du milieu, est prélevée et placée dans une capsule ou sur une lame et recouvert de réactif iodé (lugol) puis l'acide sulfurique à 60% (Guiraud, 2003). Le développement des fibres d'une couleur bleue signifier une production de cellulose (Gibbs et Shapton, 1968).

IV. 9.Elaboration du vinaigre:

IV. 9.1.Préparation de jus de fruits:

L'extraction de jus de Fruits passe par plusieurs étapes, selon la méthode de Acouréne et al,2001, Tout d'abord les dattes et pommes sont lavées et enlevées le noyau et découpées en petites morceaux dans le but d'augmenter la surface de contact avec l'eau et afin d'extraire le maximum de jus, ensuit nous avons mis 1kg de ce mélange dans un récipient et on l'ajout 1500 ml d'eau et 100g de sucres et sont portés à la bouillante pendant 30 min pour ramollir les parois puis au broyage. Enfin filtrés avec un chiffon à pores fins pour les éliminer des impuretés et des fibres grossières pour obtenir du pur jus de fruit.



Figure 14 : déchets des fruits



figure 15 : Découpage et ajouter le sucre



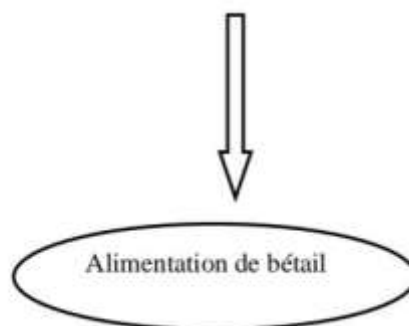
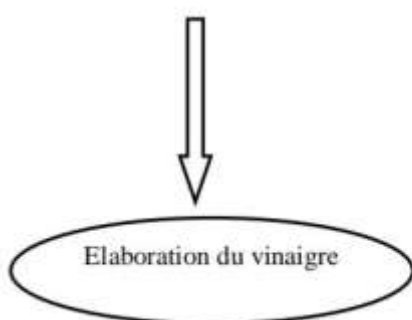
Figure 16 : Bouillante les déchets des fruits



Figure 17 : jus des fruits.



Figure 18: Rebut (Valorisable)



IV. 9.2.Elaboration du vinaigre à partir de jus de datte:

Le jus des fruits obtenus nous le divisons en deux échantillons :

Le premier échantillon de 250 ml on l'ajoute 20 ml de vinaigre de table et on le met dans un récipient fermé avec une couverture qui permet l'entrée de l'air et éviter l'entrée d'insecte puis est placé dans l'incubateur dans une température de 30° pendant 15 jours dans un endroit sombre.

Le deuxième échantillon de 250 ml on l'ajoute les bactéries acétiques et on le met dans un récipient fermé avec une couverture qui permet l'entrée de l'air et éviter l'entrée d'insecte puis est placé dans l'incubateur dans une température de 30° pendant 15 jours dans un endroit sombre.

IV. 9.3.Analyses physico-chimiques:

IV. 9.3.1Détermination de pH:

Le suivi du pH est essentiel pour le contrôle de la fermentation microbienne. Sa variation renseigne sur l'activité métabolique de la microflore. Le pH est déterminé par la lecture directe sur un PH mètre

Résultats
&
Discussion

V. 1. Résultats d'isolement et purification des colonies des bactéries acétiques :

Les résultats d'isolement des bactéries acétiques à partir des échantillons du vinaigre traditionnel de dattes et pommes sur milieu naturel gélosé, sont résumés dans (tableau II)

Tableau II : caractères culturaux des colonies apparues sur milieu naturel des différents échantillons

Colonie Échantillons	Forme	Couleur	Aspect	Taille
Vinaigre de datte	Ronde irrégulière	Blanche, brunâtre	Lisse, bombée	Moyenne
Vinaigre de pomme	Ronde irrégulière	Blanche	Lisse, bombée	Petite



Figure19 : Aspect des colonies en profondeur sur milieu Frateur (originale 2023)

Observé après isolement des bactéries acétiques sur milieu Frateur, des colonies irrégulières de différentes tailles entre (1mm- 4 mm), Lisse, bombée, se présentent de couleurs variables. Les colonies de couleur blanche brunâtre s'observent pour l'échantillon vinaigre de datte, Les colonies de couleur blanche s'observent pour l'échantillon vinaigre de Pomme .Selon Zahoor et al. (2006), dans le cas des échantillons de jus de canne à sucre, de décharge d'eau et de pomme pourrie, la plupart des colonies étaient petites, blanches, sphériques, ponctuées, surélevées et blanc cassé. , le diamètre des colonies à la surface des boites de milieu standard (GYC) ne dépasse pas 3 mm .pour Albornoz (2012), la taille varie entre 0.4à 1mm.

Les bactéries acétiques issues de la mangue jeté étant lisses et d'autres visqueuses, irrégulières et étalées (Ndoye et al, 2007). Toutes les colonies issues des différents échantillons de

vinaigres de dattes ont un contour irrégulier de diamètre de 1 à 5 mm. Les caractères morphologiques et culturels des colonies présentes des profils caractéristiques correspondent probablement aux bactéries Acétiques (Ould El Hadj ,2001).

On a réalisé plusieurs purifications successives sur milieu Frateur, pour vérifier l'homogénéité des colonies, après la purification on a distingué 02 souches (figure 20)

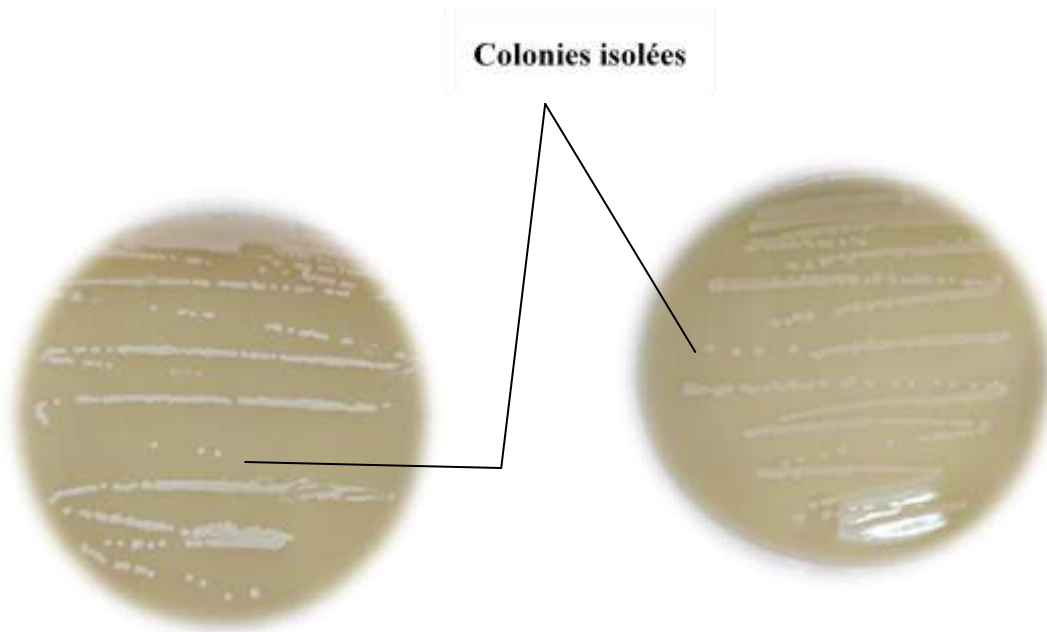


Figure20 : Aspect des colonies après une 4eme purification des bactéries acétiques sur milieu gélosé de Frateur(original 2023)

V .2. Résultats des examens microscopiques des colonies obtenues après isolement :

L'examen microscopique des souches à l'état frais, montre que les bactéries sont mobiles Elles présentent une mobilité modéré, qui est due à la présence des flagelles péri triches ou polaires (Mamlouk et Gullo, 2013).les Cellules sont filamenteuses, longues, et présentent des renflements fusiformes. Après la coloration de Gram, les bactéries apparaissent sous microscope en forme Coccobacille de taille variable, de couleur rose indique que ce sont des Gram négatifs et elles Se regroupent en amas, en chaînette, isolés, ou en diplocoques.

(Figure 21) (Tableau III).

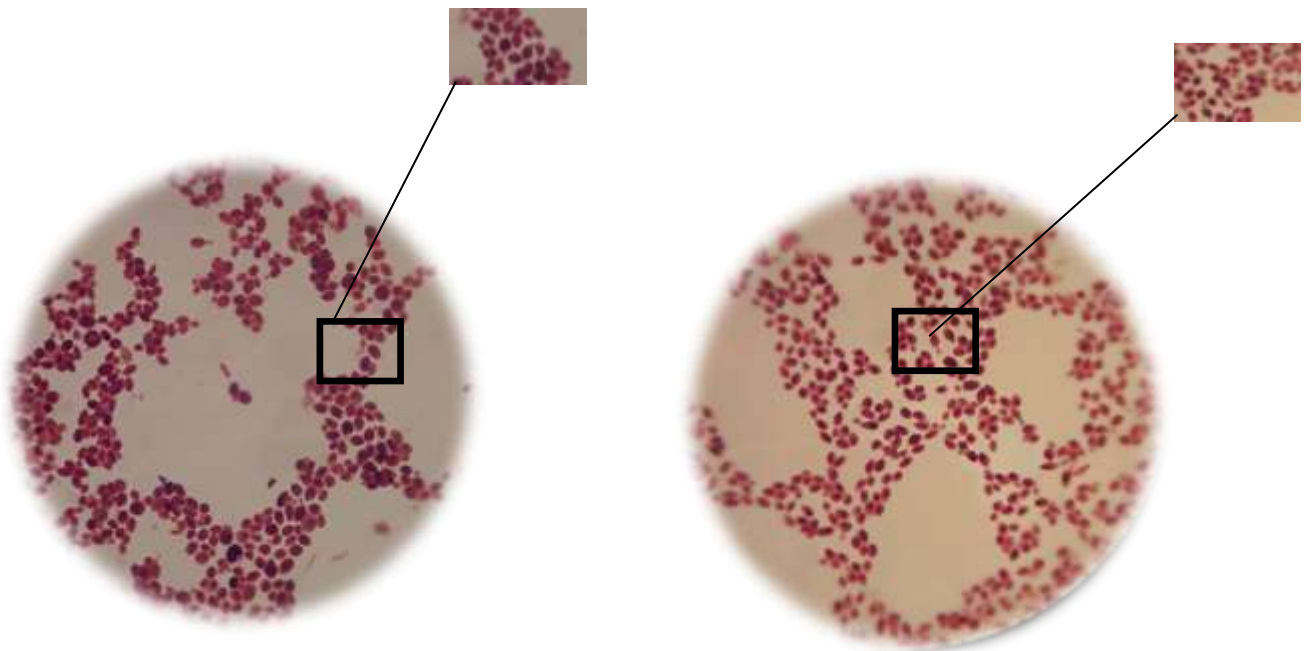


Figure 21 : Aspect des cellules isolées après coloration de Gram sous microscope Optique (Grossissement x100). (Originale 2023)

Tableau III : Caractéristiques morphologiques des bactéries acétiques après coloration de Gram

Echantillons	Morphologie des cellules	Mode de regroupement	Gram	Mobilité
Vinaigre de datte	Coccobacille	Amas, Diplocoques, chaînette, isolés	-	+
Vinaigre de pommes				

Selon Kadere et al. (2008) et Arifuzzaman et al. (2014), les souches d'*Acétobacter* et *Gluconobacter* de vin de noix de coco et de bagasse de canne à sucre, jus de canne à sucre, eau de traitement du jus de canne à sucre, sol, pommes pourries, raisins rouges pourris et raisins blancs pourris respectivement sont des Gram négatifs. Beheshti-Maal et Shafiee (2010), ont identifié des bactéries du genre *Acétobacter* de forme cocci ou coccobacille, regroupées en diplo ou bien isolées. Ils ont trouvé quelques *streptobacilles* Gram négatif. Pour Ghariani et al. (2017), les bactéries acétiques retirées de la sève du palmier tunisien (lagmi), sur milieu gélosé GYPG (Glucose, extrait de levure, peptone), sont blanches, crèmes, pales, de forme circulaire bombée ou convexe, étoile,

rugueuse, lisse, plate, de taille petite, moyenne et grande. Le Gram est négatif à variable, bacille simple, paire en chaînette, cocci, coccobacilles. Les bactéries acétiques de vinaigre de fruits excédentaires sont mobiles en raison de la présence des flagelles péri triches ou polaire. Pour Soheir(2012), l'examen microscopique des colonies bactériennes acétiques isolé dans le thé de Kombicha en Egypte, donne la même forme, regroupements et Gram avec nos résultats

V. 3.Résultats de la pré-identification des bactéries acétiques:

Les résultats de la pré-identification des souches pures isolées à partir des échantillons du vinaigre traditionnel de datte et pomme, selon les caractéristiques physiologiques et biochimiques sont présentés dans le (Tableau IV).

Tableau IV : caractères physiologiques et biochimiques des souches des bactéries acétiques isolés.

	EVD				EVP			
	SM	-1	-2	-3	SM	-1	-2	-3
Test de catalase	+	+	*	*	+	+	*	*
Culture sur M Hoyer (NH4)	+	+	*	*	+	+	*	*
Pouvoir cétoènes	+	+	*	*	+	+	*	*
Formation d'acide Gluconique	-	-	*	*	-	-	*	*
Formation d'acide Cétogluconique	-	-	*	*	-	-	*	*
Test de pigmentation	-	-	*	*	-	-	*	*
Cellulose	-	-	*	*	-	-	*	*
Numéro de souche	02	01	*	*	02	01	*	*

* : Test indisponible.

+ : Test positive.

- : Test négative.

V. 4. Résultats de l'étude des caractères physiologiques et biochimiques:

V. 4-1 Réalisation de test catalase:

Après la réalisation de test catalase, nous avons remarqué production d'O₂ et l'apparition de bulles cela montre que nos souches sont de catalase positive. (Figure22).



Figure 22 : Résultats du test catalase (originale 2023)

L'enzyme catalase permet la décomposition de l'eau oxygénée (H₂O₂) produit en fin de la chaîne d'oxydoréduction en O₂ et H₂O (Guiraud, 2012). Pour Khelif (2016), les isolats d'Acétobacter issues du vinaigre traditionnel de dattes (Hamraya et Déchet Daglet-Nour) d'Ouargla, présentent un catalase positive. Les bactéries acétiques des genres *Acetobacter* et *Gluconobacter* indigènes provenant de pommes, figes, raisins, abricots, dattes, nectarines, prunelle, pêche et poire, isolé, caractérisé et optimisé par Beheshti-Maal et Shafiee (2010), sont pourvues de catalase.

V. 4-2 Résultats de Culture en présences d'ammonium comme seule source d'azote et de 3% d'éthanol:

La culture sur le milieu de Hoyer pendant 14 jours à 30° induit le développement d'une membrane blanche a la surface de milieu et une turbidité dans les cultures des souches cela indique que le test Hoyer positive. (Figure 23)

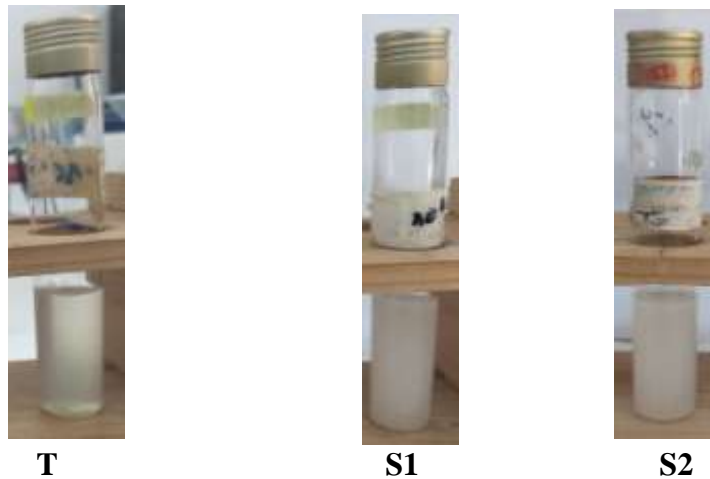


Figure 23 : Résultats de la culture sur milieu de Hoyer (originale 2023)

On remarque aussi dans les cultures de ces souches en absence d'ammonium (témoin) il n'y a pas de variation ce qui permet de conclure alors que ces souches peuvent se développer en présence d'ammonium comme seule source d'azote et de d'un peu d'alcool (3% d'éthanol). Les bactéries acétiques isolées par Kadere et al. (2008), issues de boisson de noix de coco peuvent se développer en présence d'ammonium comme seule source d'azote.

V. 4-3 Résultats de test Pouvoir cétonique:

Après le prélèvement des cultures sur le milieu gélosé au glycérol et inséré dans des tubes destinés à être chauffés et contenant la liqueur de Fehling, On note l'apparition d'un halo rouge autour de colonies résultant de la précipitation de l'oxyde de cuivre donc le pouvoir cétonique est positif. Ce pouvoir se caractérise par la propriété de transformer la fonction alcool secondaire en fonction cétonique. Grâce à cette propriété les bactéries acétiques sont utilisés industriellement pour produire des acides cétoniques comme l'acide ascorbique (vitamine C). Stasiak et Blazejak (2009) rapportent que les souches exercent un pouvoir cétonique, disposent d'une enzyme membranaire qui s'appelle la glycérol-déshydrogénase (GLDH) capable d'oxyder le glycérol en dihydroxy acétone. (Figure 24 .et 25).



Figure 24 : résultats d'incubation sur milieu gélosé (originale 2023)

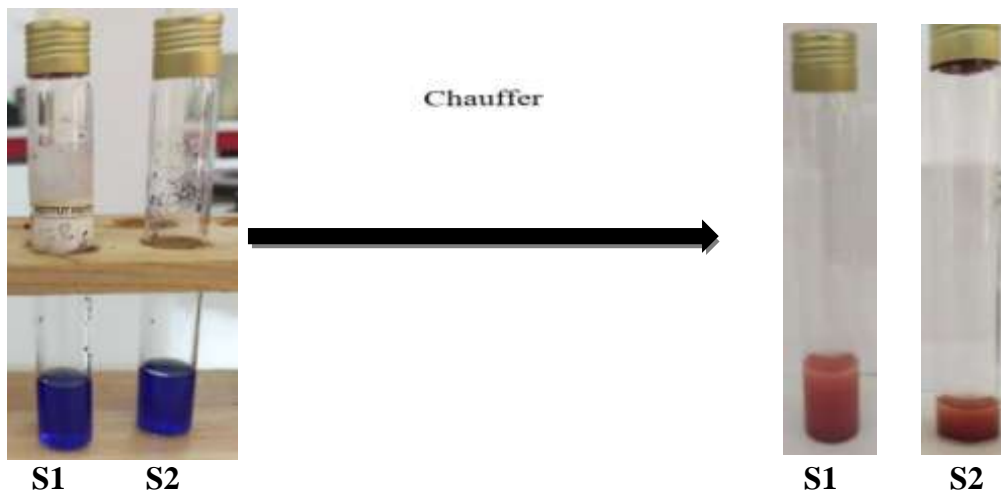


Figure 25 : Résultat de test pouvoir cétonique (originale 2023)

V. 4-4 Résultats de test de formation d'acides gluconique:

Pour les souchesensemencées dans le milieu glucosé carbonaté après une incubation de 48 heures, les zones claires n'apparaissent pas autour des colonies cela montre que ces souches ne peuvent pas produire l'acide gluconique à partir de glucose rendant alors ce test négatif (figure 26).



Figure 26 : Résultats de test de formation d'acides gluconique à partir de glucose (Originale 2023)

Pour certains isolats d'Acétobacter du vinaigre traditionnel de dattes (Hamraya et Déchet Daglet-Nour) d'Ouargla, le test de formation d'acide gluconique à partir du glucose sur milieu gélose carbonate de calcium donne un résultat négatif (Khelif, 2016).

V. 4-5 Résultat de test de Formation d'acide céto gluconique:

Le test de formation d'acide céto gluconique est négatif car après l'ensemencement des souches sur le milieu Haynes liquide et l'incubation 48 heures à 30°C, la révélation à l'aide de réactif de Bénédic avec 10 minutes de chauffage au bain-marie à 100°C. On n'observe pas une apparition d'un précipité rouge orangé Donc les souches d'acétobacter ne produisent pas l'acide céto gluconique (figure 27).

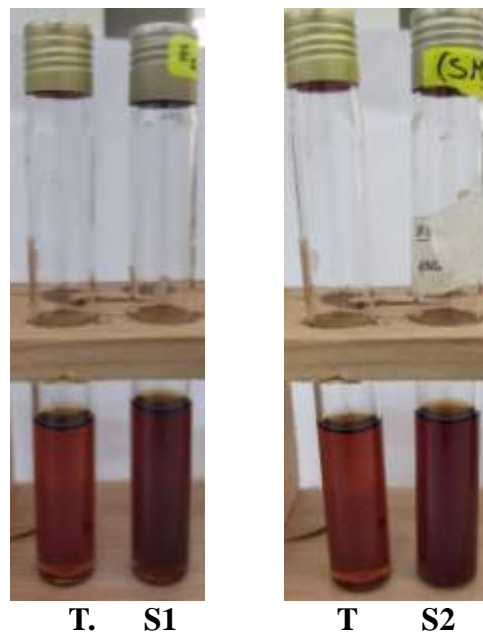


Figure 27 : Résultats de test de formation d'acide céto gluconique (originale 2023)

Les travaux de Li et al, (2012), de l'isolement et l'identification des bactéries acétiques issues des dépôts abricot, montre la présence des bactéries acétiques qui ne peuvent pas former l'acide céto gluconique.

V. 4-6 Résultats de test de Présence d'un pigment sur le milieu d'isolement:

Concernant le test de pigmentation sur le milieu glucose carbonate solide, il n'y a aucune apparition de pigments (test négative)(Figure 28).

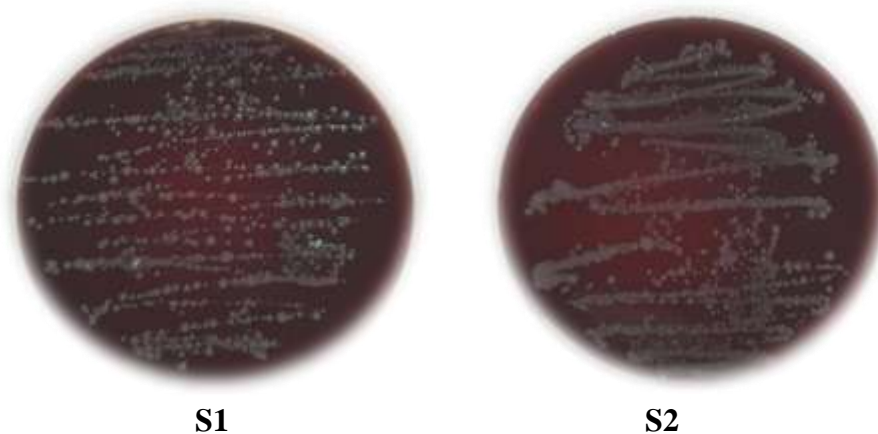


Figure 28 : Résultat de test de pigmentation (originale 2023)

D'après Aboulala (2008), le test de pigmentation sur milieu glucose carbonate solide, montre que la sous-espèce de l'espèce *Acetobacter aceti* issues du vinaigre traditionnel des dattes DagletNour et HchefDaglet-Nour de Ouargla, Ghardaïa et Touggourt présente un résultat négatif. Pour (Kadere et al., 2008), tous les isolats d'*Acetobacter* issues du vin de noix de coco de zones de Mtwapa et Kikambala de la région côtière du Kenya, les résultats de test de formation de pigment brun sur milieu GYP (Glucose, Extrait de levure et peptone) étaient négatifs. Les bactéries acétiques issues de la canne à sucre et des fruits pourris, isolés par Arifuzzaman et al. (2014), présente un résultat négatif de pigmentation brune sur milieu GYP.

V. 4-7 Résultat de test de production de cellulose:

Pour les souches ensemencées sur le bouillon et incubées pendant 48 heures, on prélève la pellicule formée à la surface de milieu et lorsque on ajoute lugol et l'acide sulfurique à 60%, la couleur devient violette, absence des fibres de couleur Blue. Donc ces souches ne peuvent pas produire la cellulose. (Figure 29)

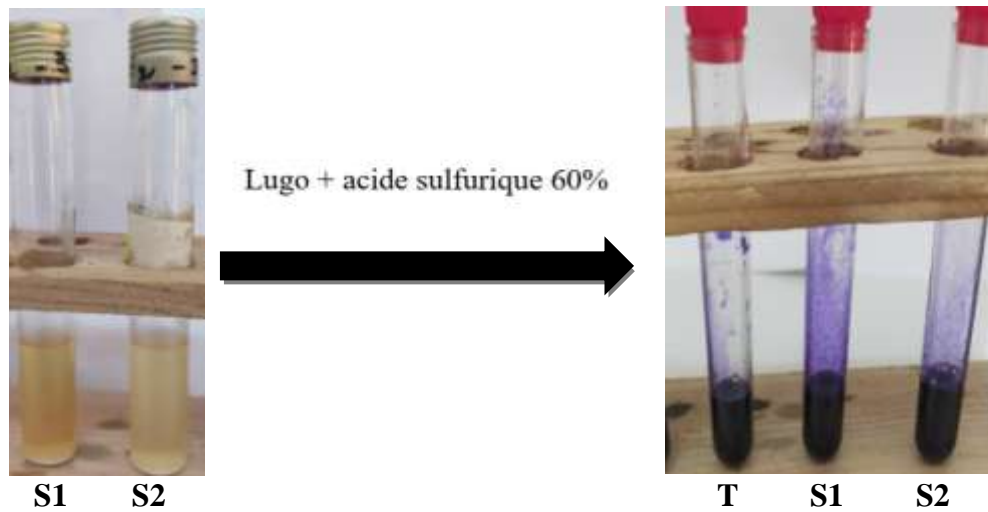


Figure 29 : Résultat de test de production de cellulose (originale 2023)

Romero-Cortes et al, (2012) trouvent dans les études d'isolement et caractérisation des bactéries acétiques dans la fermentation des souches bactérienne acétique ne produisent pas la cellulose. Le test de production de cellulose présente un résultat négatif pour certains isolats d'*Acétobacter* issues des vinaigres des dattes Daglet-Nour et HchefDaglet-Nour de Ouargla, Ghardaïa et Touggourt (Aboulala, 2008) et des dattes Hamraya et Déchet Daglet-Nour de Ouargla (Khelif, 2016).

V. 5. Résultats d'Élaboration de vinaigre à partir des bactéries acétiques et vinaigre de table :

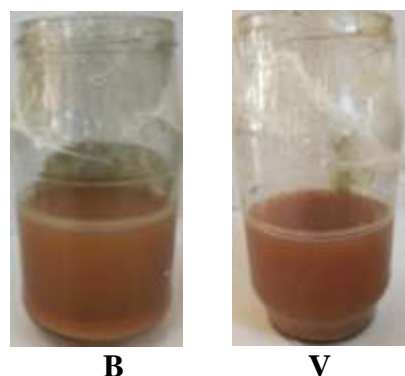


Figure 30 : Résultats d'élaboration de vinaigre à partir de bactéries acétique « B », à partir de vinaigre de table « V » (originale 2023)

Après 15 jours on obtient le vinaigre, on note les suivantes :

- Des changements de couleur et l'odeur.
- L'apparition de couche d'eau.
- Le liquide devient acide.

Le vinaigre est issu de deux réactions chimiques ; la fermentation alcoolique et la fermentation acétiques, le sucre contenue dans le jus de fruit au contact de l'air et de certains micro organismes est transformé en alcool après débute la fermentation acétique sous l'action d'acétobacter qui transforme l'alcool en acide acétiques (Chapin S., 2011).La couche d'eau est un voile léger a une consistance gélatineuse due lorsque les bactéries acétiques rassemblent à la surface de vinaigre (Chapin S.,2011).

V. 5.1 Résultats des analyses de pH:

Les résultats des analyses de pH sont présentés dans le(tableau V et VI)

Tableau V : résultats des analyses de jus des fruits et les deux échantillons avant la fermentation :

	Jus des fruits (témoin)	Jus des fruits + V	Jus des fruits + B
pH	5,35	5	5.35

V : vinaigre de table.

B : bactéries acétiques.

Tableau VI: résultats des analyses des deux échantillons après 15 jours de la fermentation :

	Vinaigre A	vinaigre B
pH	4.00	3.90

Vinaigre A : vinaigre obtenue à partir l'addition de vinaigre de table au jus des fruits.

Vinaigre B : vinaigre obtenue à partir l'addition des bactéries acétiques au jus des fruits.

Après 15 jours de la fermentation, On remarque que les vinaigres obtenus à partir l'addition de bactéries acétique et vinaigre de table ont des PH proche avec de légères variations. Les valeurs obtenues 3,90 chez les vinaigre à partir de bactéries acétique et 4.00 chez les vinaigre à partir de vinaigre de table. Ces résultats sont comparables à ceux évoquées par Bouaziz (2009), rapportent des pH de 3,40 à 3,65 pour le vinaigre Traditionnel de datte ces résultats est concorde aussi avec à celle rapportés par Beneddine et Ben TadjJ en 2009, soient 3,41 ; 3,42 ; 3,49 pour les variétés de Harchaya, H'Chef Deglet Nour et Degla Beida.

Sur la base de ces résultats, nous pouvons dire que l'ajout de bactéries acétique « Acétobacter » jus de fruit dans Température 30 °C (une température appropriée pour la croissance des bactéries acétiques) accélère le processus de fermentation.

Les mesures du pH informe sur l'évolution de l'acidité du milieu, fonction du métabolisme des micro-organismes acidophiles. Ces valeurs se situent entre 3 et 4 ; donc le milieu est fortement acide. Ce sont des milieux favorables pour les germes acidophiles (Ould EL-Hadj et al, 2001). L'activité des microorganismes acidophiles, abaisse le pH du milieu, suite aux processus de fermentation acétique (Bouaziz et al, 2010).

Conclusion

La datte et la pomme constituent la matière première pour l'élaboration des produits alimentaires, parmi lesquels, le vinaigre qui est utilisé comme agent aromatisant des aliments et conservateur alimentaire, aussi dans la médecine traditionnelle, il traite le surpoids, le diabète, les maux de tête et de gorge...etc.

L'extraction des bactéries acétiques se fait à partir du vinaigre de pomme et de dattes par dilution décimale et l'isolement dans le milieu sélectif, qui nous a permis de détecter la différence entre les caractères culturels des deux échantillons. Ils sont similaires dans l'aspect et la forme mais diffèrent au plan de la taille et de la couleur. Après la purification des souches, l'examen microscopique dans cette étude permet d'affirmer que les bactéries des deux échantillons sont identiques dans les caractéristiques morphologiques.

Grâce aux tests biochimiques nous avons pu conclure que :

Les bactéries acétiques possédant l'enzyme catalase, peuvent transformer le glycérol en dihydroxy acétone, se développent en présence d'ammonium comme seule source d'azote.

Les bactéries que nous avons étudiées n'ont pas la capacité de produire l'acide gluconique et céto-gluconique et ne produisent pas la cellulose.

La deuxième étape dans notre travail est l'addition des bactéries acétiques extraites au jus des fruits pour obtenir le vinaigre, le rôle de ces bactéries est d'accélérer le temps de fermentation.

Le jus est fabriqué à partir des déchets de fruits de mauvaise qualité ce qui correspond à un recyclage. Le vinaigre fabriqué à partir des bactéries acétiques présente un pH acide qui est défavorable pour le développement des microorganismes pathogènes ; le changement de couleur et l'odeur de jus parmi les indices de succès du processus de fermentation.

Nos travaux ouvrent d'autres perspectives qui sont :

- ❖ L'amélioration des techniques traditionnelles pour produire le vinaigre biologique à l'échelle industrielle.
- ❖ Optimisation des conditions de fabrication de ce produit par l'application d'une oxygénation intensive et thermostatation de température.
- ❖ On peut étudier la qualité hygiénique de vinaigre ce qui concerne son activité antioxydante.
- ❖ Bénéficier des déchets de fruits ou des fruits à faible valeur marchande en les recyclant en vinaigre pour lutter contre le gaspillage et la pollution.

Références

&

Bibliographiques

- **Aboulala. S, (2008).** Recherche et identification de quelques souches de bactéries acétiques issues de vinaigre traditionnel de datte, et l'étude d'une propriété technologique : pouvoir acidifiant. Mémoire de la fin d'étude pour l'obtention diplôme d'ingénieur d'état en biotechnologie. Université d'Oran. P 22.
- **Acourene S. ; Buelguedj M. ; Tama M. ; Taleb B., (2001).** Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des ziban. *Revue Recherche Agronomique*, N° 8. Ed. INRAA, pp19-39.
- **Acourene, S.,Tama, M. (1997).** Caractérisation physico-chimique des principaux cultivars de la région des zibans. *Recherche Agronomique*, Vol. 1, 59-66.
- **Ahmed. J, Ramaswamy. H S et Khan. A R, (2005).** Effect of water activity on glass transitions of date paste. *Journal of Food Eng.* **66** : 253–258.
- **Albornoz H., et Esteban C., 2012.-**Microbiological analysis and control of the fruit vinegar production process. Doctoral Thesis to receive the degree of Doctor with International Mention. Rovira I Virgili University, Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Oenology Tarragona, Spain, 281p
- **Al-Hooti S.; Sudhus S. et Gabazard H.,(1998).** Chemical composition of seeds of date fruit cultivars of United Arab Emirates. *J.FoodChem.Technol.* 35: 44-46.
- **Al-Hooti J.S.; Sidhu; Qabazard.,(1997).** "Physico-chemical Characteristic of Five Date Fruit Cultivars Grow in The United Arab Emirates". *Plant Foods for Human Nutrition.* Vol 50. p 101-113.
- **Aline. L F, Vincent. R et Pirre. S, (2010).** Microbiologie du vin, bases fondamentales et Applications .Ed. TEC et DOC. Paris. P 140-142.
- **Al-shahib W. et Marshall R. J., (2002).** Dietary fibre content of dates from 13 varieties of date palm Phoenix dactylifera L. *Inter .J .Food .Sci and Tech.* 37: 719-721.
- **Anonyme, 2002.** Rencontres technique .Ed laboratoire régional de Constantine
- **Arab H. et Guezzoun K.,(2003).** Contribution à l'étude des caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du vinaigre traditionnel de dattes de la cuvette de Ouargla : vertu thérapeutique. Mémoire DES, université de Ouargla : 19-20.
- **Arifuzzaman M., Zahid Hasan M., Badier Rahman S. M., et Kamruzzaman Pramanik M., (2014).**-Isolation and characterization of *Acetobacter* and *Gluconobacter* spp from sugarcane and rotten fruits. *BioSciences*, 8 (9): 359-365
- **Barreveld. W H, (1993).** Date palm products. FAO Agricultural Services Bulletin N°101. Fao food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome.

- **Beheshti-Maal K., et Shafiee R., 2010.-** Isolation and characterization of an *Acetobacter* strain from Iranian white-red cherry as a potential strain for cherry vinegar production in microbial biotechnology. *Asian Journal of Biotechnology*, 1: 53-59.
- **Bouaziz. S., Ould EL Hadj, M. D. (2010).** Contribution à l'étude des caractéristiques physico-chimiques et biochimiques de quelques types de vinaigres traditionnels de dates obtenues à partir de quelques variétés de la région de Ouargla. *Annales des Sciences et Technologie*, 2 (1) , 81 -80.
- **Belguedj, M. (2002).** Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies du Sud Est Algérien. *Revue : Les Ressources Génétiques du Palmier Dattier*, 245 – 251.
- **Belkacem. M, (1987).** Contribution à la production d'acide acétique à partir du lactosérum. Thèse Ing INA, El Harrach, p 21-25
- **Ben Thabet I.; Hamadi A.; Besbes S.; Deroanne C.; Francis F.; Drira N.E.; Christophe B., (2007).** Physicochemical and Functional Properties of Typical Tunisian Drink: Date Palm Sap (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Food Biophysics*, Vol. 2, pp. 76–82.
- **Benaoun, N. (2007).** Recherche d'identification des maladies traitées par le vinaigre traditionnel de datte à El-Oued. Mémoire de licence en Microbiologie, Université de KasdiMerbeh, Ouargla.
- **Benchabane A.,(1996).** Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte". In *Options méditerranéennes, série A, N° 28. Séminaires méditerranéens*. Ed. IAM, Zaragoza, Spain. pp 205-210.
- **Benchelah, A.C., Maka, M., (2008).** Les Dattes, intérêt et nutrition. *Phytothérapie (ethnobotanique)* Springer, vol N°6, 117-121.
- **Beneddine, D., Bentadj, S. (2009).** Recherche des substances toxiques dans le a. vinaigre traditionnel de datte. Mémoire de licence en Biochimie non publier, Université de KasdiMerbeh, Ouargla.
- **Besbes S.; Drira L.; Blecker K.; Deroanne C.; Hamadi A.,(2009).** Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): compositional, functional and sensory characteristics of date jam. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 112, pp. 406-411. *Biochimie et analyse de bioproduit non publier*, Université KasdiMerbah, Ouargla.
- **Bondou, P. 1992.** Maladies de conservation des fruits à pépins. Pommes et poires, Editions INRA.

- **Booij I.; Piombo G. ; Risterucci A. M.; Coupe M.; Thomas D.; Ferry M., (1992).**" Etude de la composition chimique des dattes à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmiers dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Fruits*.Vol 47. N° 6. P 667- 678.
- **Bouaziz, S. (2008).** Caractérisation physicochimique et biochimique de quelques a. vinaigres traditionnels de dattes de la région d’Ouargla. Mémoire de magistère en
b. Biochimie et analyse de bioproduit non publier, Université KasdiMerbah, Ouargla.
- **Boughnou N. (1988).** Essai de production de vinaigre à partir de déchets de dattes.Thèse magister, INA. El- Harrach, Alger, 82.
- **Boukhiar, A. (2009).** Analyse du processus traditionnel d’obtention du vinaigre de dattes tel qu’appliqué au sud algérien : essai d’optimisation. Mémoire magister en technologie alimentaire non publier. Université M'Hamed Bougara. Boumerdés.
- **Boulal, A., Benali, B., Moulai, M., Touzi, A.(2010).** Transformation des déchets de dattes de la région d’Adrar en bioéthanol. *Rev. Energies Renouvelables*. 13(3). 455 – 463.
- **BOURGEOIS C. M, LARPENT J. P,(1990),** Microbiologie alimentaire. Tome II les fermentations alimentaires .Ed technique et documentation. Paris:121-140.BOURGEOIS CM et LEVEAU, Techniques d'analyse et de contrôle microbiologique. Volume III ,Ed.techniqueetdocumentation, APRIA, Paris, p67.
- **Bourgeois C. M., Larpent T. P., (1996) :** Microbiologie alimentaire. Aliment fermentés et fermentation alimentaires. Tome 2 éme Edition et documentations, 352- 623p
- **Bourgeois. C M et Larpent. J P, (1990).** Microbiologie alimentaire. Tome II les fermentations Alimentaires. Ed. Technique et documentation. Paris. P 121-140,171-176.
- **Bourgeois. C M et Leveau. J Y, (1980).**Technique d’analyse et de contrôle microbiologique.Volume III. Ed. Technique et documentation. Paris. P 63-65.
- **Branger, A. (2008).** Fabrication de produits alimentaires par fermentation l'ingénierie.f3501, Paris-France, Vol. 1, 1-16.
- **Brat P., George S., Bellamy A., Chaffaut L. D., Scalbert A., Mennen L., Arnault N.et Amiot M. J.(2006).** "Daily PolyphenolIntake in France from Fruit and Vegetables." *J. Nutr*. 136(9) : 2368-2373. CACQE :11-17.

- **Chaira, N., Ferchichi, A., Mrabet, A., Sghairoun, M. (2007).** Chemical composition of the flesh and the pit of date palm fruit and radical scavenging activity of their extracts. *Journal of Pakistan journal of Biological Sciences*, Vol. 10 (13), 2202-2207.
- **Chapin S., 2011.** A la découverte du vinaigre. Ed : Eyrolles. Vinaigre : un concentré d'astuces, 25p
- **Chibane, H. (2008).** Aptitude technologiques de quelques variétés communes des dattes : formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse doctorat,
- **Clavet. (1992).** Alcool méthylique. Vinaigre. Ed, Béranger, Paris et Liège
- **Codex alimentaire. (1987).** Norme codex pour le vinaigre. Norme régionale africaine. Codex. STAN. Commission du Codex Alimentarius, « Norme régionale révisée pour le vinaigre » (2000)
- **Cook J.A. et Furr J.R., (1952).** Sugars in the fruits of soft, semi-dry and dry commercial date varieties. *Date Growers Inst. Rept. N° 29.* 3-4 p.
- **Dahmani, S., Rebbouh, I. (2009).** Etude comparative des caractéristiques physicochimiques de différents types de vinaigres : le vinaigre traditionnel de datte (DegletNour, Degla Beida, Tacherwit), vinaigre de pommes et vinaigre vendu en épicerie. Mémoire de licence en Biochimie, Université de KasdiMerbeh, Ouargla. Dihydroxyacetone via le cycle pentose dans *suboxydans Acetobacter*. *J. Biol. Chem.* Vol.214 : 11-26
- **Divies. C, (1989).** Le vinaigre Microbiologie alimentaire. Les fermentations alimentaires. El.Tec et doc. Lavoisier .vol 2 : 121-136.
- **Djerbi, M. (1994).** Précis de phoeniciculteurs. F.A.O.Rome.
- **Dowson. V B W et Aten. A, (1963).** Composition et maturation. Récolte et conditionnement des dattes. Collection FAO, Rome, cahier N°72 : 1-394.
- **Dr Hassan Saleh Kamel et autres, (mercredi 18 février 2015),** La relation entre l'alimentation et le cancer, Centre d'études environnementales et de recherche, Université d'Assiout, p 1-3.
- **Duculot. H, (1932).** C, H, B Beall 175 *Acetobactereaacea* (orto-epiade eliotjohen et du bartasGoulatGallica, etudes en philogy, XIII, 1946. P 255-262.
- **Espiard E.,(2002.)** Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc. Lavoisier, Paris. pp 147-155.
- **Estanove, P. (1990).** Note technique : Valorisation de la datte. Option Méditerranéennes. Série A. N° 11. Les systèmes Agricoles Oasiens. Ed IRFA-CIRAD France.

- **Estanove. P, (1990).** Note technique: Valorisation de la datte. In Options méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens. Ed. CIHEAM. PP 301- 318.
- **Favier J.C. ; Ireland R.J. ; Laussucq C. et Feinberg M.,1993.** Répertoire général des aliments. Table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III, Ed. ORSTOM , Lavoisier, INRA. 27-28 p.
- **Follman H. (1983).** « Acetic-Acid ». Vol 5. Chap 3. P 388-407.
- **Gerome. J, James. T et Stephen. L, (2002).** Microbiologie. Cours et questions de divisions. Ed. Dunod. Paris. P 437-438
- **Ghariani M., Hamdi M., Beneduce L., Capozzi V., et Massa S.,(2017).**- Identification of acetic acid bacteria isolated from Tunisian palm sap. African Journal of Microbiology Research, 11(15): 596-602
- **Gibbs. B M et Shpton. D A, (1968).** Identification methode for microbiologists. Ed. Academic press london. P 1-7.
- **Girard., Rougieux. (1958) :** Technique de microbiologies agricole. Ed. dunod, Paris ,307-320p.
- **Glazy. P et Guiran. D J, (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaire. Ed.L'usine nouvelle. Paris. P 239-245
- **Guiraud J., Galzy P.(1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. Paris. 615 P
- **Guiraud J.P.(2012) :** Microbiologie alimentaire. Ed .Dunod. Paris, 267-270p
- **Guiraud. J P, (1998).**Microbiologie alimentaire. Edition Dunod. Paris.p116-117,163, 209, 615.
- **Guiraud. J, (2003).** Microbiologie alimentaire. Ed. RIA Dunod. Paris. p270, 300.
- **Hanachi, S., Khitri, D., Benkhalifa, A., Brac De La Perriere, R.A. (1998).** Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. Université des Sciences et de Technologie Houari Boumedienne, Unite de Recherche sur lrs Zones Arides U.S.T.H.B., U.R.Z.A.
- **Hauge J.G., King T.E., Cheldelin V.H. (1955) :** Oxydation de a. Dihydroxyacetone via le cycle pentose dans *suboxydans Acetobacter*. J. Biol. Chem. Vol.214 : 11-26
- **Kadere, T.T., Miyamoto, T., Oniango, R.K., Kutima, P.M., Njoroge, S.M., (2008):** Isolation and identification of the genera *Acetobacter* and *Gluconobacter* in coconuttoddy (mnazi). African Journal of Biotechnology, 7: 2963-2971.
- **Kendri S.,(1999).**Caractéristiques biochimiques de la biomasse *Saccharomyces cerevisiae*" produite à partir des dattes "Variété Ghars".

- **Kerstens. K, Lisdiyanti. P, Komagata. K et Swings. J, (2006).** The family Acetobacteraceae : The Genera *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, and *Kozakia*. *Journal of Prokaryotes* 5. Chapter 3.1.8. PP 163-200
- **KHELIF F. (2016)** : Recherche et identification des quelques souches des bactéries acétiques issues de Vinaigre traditionnel des dattes du Sahara Septentrional Est Algérien: Etude du pouvoir acidifiant. Mémoire de Masters en Microbiologie. Université KasdiMarbah Ouargla.
- **Lambin. J P et German. A, (1969).** Précis de microbiologie. Tome 1. Ed. Masson et cie. Paris. P 515, 629-635.
- **Larpent J.P. (1997)** : Microbiologie Alimentaire : techniques de laboratoire. Edition Tec & Doc, 1073 p
- **Larpent, J.P. (1991).** Biotechnologie des levures. Ed Masson, Paris
- **Li. F, Fuxian. Z et Bin. Z, (2012).** Isolation and Identification of Acetic Acid Bacteria. Department of Biology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China. P 4.
- **Mamlouk D., et Gullo M.,(2013).**- Acetic acid bacteria: physiology and carbon sources oxidation. *Indian Journal of Microbiology*, 53 (4): 377-384
- **Matheis W., Bourgeois, J., Caperos, J., Feusi, J., Girard, J.-M., Helbling, J., Hischenhuber, C.,(1995).** Vinaigre de fermentation. MSDA (manuel suisse des denrées alimentaires). Midolo et al, 1995
- **Michael. J et Pelczar. J R, (1982).** Elements de microbiologie. Ed. H RW. P 457-459
- **MORGAN DIEMOZ et IVAN BARREL ,NOUVELLES VARIÉTÉS DE POMMES ,** *L'Institut Agricole Régional , 5 nouvelles ,p3-4.*
- **Munier, P. (1973).** Le palmier dattier. Paris: Maisonneuve et Larose.
- **Ndoye B., Cleenwerck I., Engelbeen K., Dubois-Dauphin R., Guiro A.T., Van Trappen S., Willems A., et Thonart P.,(2007).**- *Acetobacter senegalensis* sp. nov., a thermotolerant acetic acid bacterium isolated in Senegal (sub-Saharan Africa) from mango fruit (*Mangifera indica* L.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57: 1576-1581
- **Ould El Hadj. M D et Sebihi. A H. et Siboukeur. O, (2001).** Qualité hygiénique et caractéristiques physicochimiques du vinaigre traditionnel de quelques variétés de dattes de la cuvette d'Ouargla. *Rev. Energ. Ren. Production et valorisation – Biomasse*, pp. 87-92, 88, 164-169.

- **Patzold. R et Bruckner. H, (2005).** Mass Spectrometric detection and formation of d' aminoacids in processed plant saps, syrups, and fruit juice concentrates. *J. agric. foodchem*, **53**, 9722-9729.
- **Peter Raspor and Dušan Goranovič, (2008),** Biotechnological Applications of Acetic Acid Bacteria, *Critical Reviews in Biotechnology*, 28:101–124, pp112-113.
- **Peyron. G et GAY. F, (1988).** Contribution à l'évaluation du patrimoine génétique Egyptien : Phénologie du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L). CIRAD-DSA.
- **Prevot. A R, (1961).** Traité de systématique bactérienne. Tome I. Ed. Dunod. Paris. P 61, 64.
- **Retima, L. (2015).** Caractérisation morphologique de quelques cultivars du palmier dattier dans la région de Foughala. Mémoire Magister en science agronomique non publiée, Université Elhadj Lakhdar, Batna.
- **Reynes, M. (1997).** Influence d'une technique de désinfestation par micro-ondes sur les critères de qualité physico-chimique et biochimique de la datte. Thèse de Doctorat en Biotechnologies et industries alimentaires, Institut National Polytechnique de Lorraine [INP]. France.
- **Romero-Cortes. T, Robles-Olvera. V, Rodriguez-Jimenes. G et Ramirez-Lepe. M, (2012).** Isolation and characterization of acetic acid bacteria in cocoa fermentation. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(2), pp. 339-347. P 344.
- **Sawaya. W N, Khatchadourian. H A, Khalil. J K, Safi. W M et Al-Shalhat. A, (1982).** Growth and compositional changes during the various developmental stages of some Saudi Arabian date cultivars. *J. Food Sci*, **47** (5).
- **Sedra, M.H. (2003).** Le palmier dattier base de la mise en valeur des oasis du Maroc: Technique phoenicoles et création d'oasis (1^{ère} ed). Maroc: Institut national de recherche en agronomie (INRA), Rabat-Instituts Maroc.
- **Simon. P et Meunier. R, (1970) :** Microbiologie industrielle et génie biochimique. Ed. Masson et Cie ED. Paris. P 13-26
- **Soheir. S A , (2012).** 16S rRNA Gene Sequence Detection of Acetic Acid Bacteria Isolated From Tea Kombucha. *New York Science Journal*, 5(3). P 57
- **Stadler-Szoke. A, Nyeste. L et Hallo. J, (1980).** Les études sur les facteurs affectant Gluconiques et 5 acides céto gluconique formation par *Acetobacter*. *Acta Aliment.* (9) : 155-172.

- **Stasiak L., et Blazejak S., 2009.**-Aceticacidbacteria - perspectives of application in biotechnology - A review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 59: 17–23.
- **Suman Vikas Bhat¹, Rehana Akhtar¹ and Tawheed Amin, Dec.(2014),** An Overview on the Biological Production of Vinegar , International Journal of FermentedFoods, India ,v.3.n.2, PP-145-146
- **Tekkouk. F, (1997).** Contribution à l'étude de quelques paramètre de la qualité hygienique et biochimique du vinaigre traditionnel de quelques variété de dattes de cuvette de Ourgla. ThèseIng, I.N.F.A.S .Ouragla. P 7-45
- **Tesfaye W., Morales, M.L., Garcia-parrilla., Troncoso, A.M.(2002).** Winevinegar: technology, authenticity and qualityevaluation; Journal of Trends in Food Science &Technology, Vol. 13, pp. 12-21.
- **Vincent. J M, (1970).** A manual for the practicalstudy of the root-nodule bacteria.IBPhandbook N°15. Blackwell Scientific Publishers, Oxford.
- **Zahoor T., Siddique F., et Farooq U.,(2006)** Isolation and characterization of vinegar culture (*Acetobacteraceti*) fromindigenous sources. British Food Journal, 108: 429-439.

Annexes

Annexe des milieux de culture

1. Milieu Frateur :

Ingredients	Composition
Extrait de levure	30 g
Carbonate de calcium	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 g

Après autoclavage de 110°C pendant 10 mn

On ajoute 100 ml d'alcool éthylique à 15%.

2. Milieu gélosé au glycérol: test de pouvoir cétogène

Ingredients	Composition
Extrait de levure	30 g
Glycérol	30 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

Après autoclavage de 15°C pendant 10 mn

On ajoute 100 ml d'alcool éthylique à 15%

3. Milieu de test de Hoyer:

Ingredients	Composition
Sulfate d'ammonium	1 g
Phosphate di potassique	0.1 g
Phosphate mono potassique	0.9 g
Sulfate de magnésium	0.025 g
Perchlorure de fer	0.02 ml
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage 15 mn à 120 C°.

Avant l'emploi, ajouter dans chaque tube de milieu 1 ml d'une solution stérilisée par filtration d'éthanol à 30%.

4. Milieu test de pigmentation:

Ingredients	Composition
Extrait de levure	30 g
Carbonate disodique anhydre	20 g
Glucose	20 g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage 120C° pendant15 mn.

5. Milieu gélosé carbonaté solide (milieu de test d'acide gluconique):

Ingredients	Composition
Extrait de levure	10 g
Carbonate de calcium	20 g
Glucose	100 g
Agar	25 g
Eau distillée	1000 ml

Après autoclavage à 110°C pendant10mn
On ajoute100 mld'alcooléthyliquesà15%.

6. Milieu de Hayenes (milieu test de formation d'acide cet gluconique):

Ingredients	Composition
Extrait de levure	1 g
Peptone	1,5 g
Phosphate dipotasuime	1 g
Glucose	40 g
Eau distillée	100 ml

Autoclavage 120 C° pendant 15mn.

7. Bouillon pour les bactéries (milieu teste de production de cellulose).

Ingredients	Composition
Extrait de levure	10 g
Carbonate de calcium	20 g
Glucose	100 g
Eau distillée	1000

Autoclavage : 120 C° pendant 15 mn.

8. Eau physiologique:

Ingredients	Composition
Chlorure de sodium	9 g
Eau distillée	1000

Autoclavage : 120C° pendant 15 min.

9. Réactif de Bénédict:

Ingredients	Composition
Sulfate de cuivre	17.3g
Carbonate de sodium	100g
Citrate de sodium	173g
Eau distillée	1000 ml

