REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA

FACULTE DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGÉNIEUR

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etude Supérieur en Biologie

Option : Microbiologie

THEME

Recherche et identification des souches de levures types sahariens issus de la dattes et Du vinaigre traditionnelle de dattes

Présenter par : BOUZEGAG HAMIDA…

Jury:

Président	BENSACI M B A	MACC	Université de Ouargla
Promoteur	OULD EL HADJ M D	MC	Université de Ouargla
Examinateur	MYMOUNI AMINA	MAC	Université de Ouargla

Année universitaire 2006/2007

Remerciements

Avant tout je remercie'Allah' tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et Les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail;

Je tiens tout particulièrement à témoigner ma profonde gratitude à mon promoteur OULD EL HADJ Mohamed Didi, Maître de conférences au Département Biologie de la Faculté des Sciences et Sciences de l'ingénieur à l'université Kasdi Merbah-Ouargla, qui a dirigé ce travail, et pour son aide et ses conseils judicieux;

Mes sincères remerciements vont également aux membres de jury :

Monsieur BENSASSI M. B. A. Maître assistante **chargée** *de cours au Département biologie de la Faculté des Sciences et Sciences de l'ingénieur à l'université Kasdi Merbah-Ouargla d'avoir accepté de présider ce jury;*

M^{elle} MYMOUNI Y; Maître assistant au Département Biologie de la Faculté des Sciences et Sciences de l'ingénieur à l'université Kasdi Merbah-Ouargla - d'avoir accepté d'examiner ce jury;

Au laboratoire de protection des écosystèmes en zone Arides et semi-Aride du département des Sciences Agronomiques delaFaculté des Sciences et Sciencesdel'ingénieur à l'université Kasdi Merbah-Ouargla pour son aide et la pris en charge du mémoire

A tous les enseignants de la faculté des sciences et sciences de l'ingénieur, du département de biologie.

A tout le personnel de la bibliothèque au Département Biologie de la Faculté des Sciences et Sciences de l'ingénieur à l'université Kasdi Merbah-Ouargla pour leur aide;

A l'ensemble du personnel de laboratoire pédagogique du département Biologie de la Faculté des Sciences et Sciences de l'ingénieur à l'université Kasdi Merbah-Ouargla :M^{r} BEGARI EL Aiche, et du laboratoire d'ECOSYS: M^{r}IDDER Abdelhak, M^{em}IDDER Saida, M^{elle} BOUGHABA Latifa et M^{r} SADIN Salah Eddin pour leur disposition permanente :

A tous ceux qui m'ont guidé dans mes recherches notamment Mr FARADJI Nasser, et Mr SBIHI Abdelhafid,

A tout le personnel du bureau « ABLA » de l'informatique

Enfin, à tous ceux qui ont collaboré à ce modeste document.

INTRODUCTION	
Chapitre I : ***Aperçu sur les levures et la production de vinaigre issu d'une bioconversion***	
I.1. - Généralités sur les levures	
I.1.1.- Caractères généraux des levures	
I.1.1.1.- Morphologiques	
I.1.1.2.- Caractères physiologiques et biochimiques	
I.1.1.3.- Croissance	
I.1.1.4.- Métabolisme	
I.1.1.5.- Besoins nutritionnels	
I.1.1.6.- Phénomène de floculation	
I.1.1.7.- Reproduction	
I.1.2.- Effet de quelques paramètres de la fermentation sur les levures	
I.1.2.1.- Effet du glucose sur les levures	
I.1.2.2.- Effet de l'éthanol sur les levures	
I.1.2.3.- Effet du CO2 sur les levures	
I.1.2.4.- Effet de la pression osmotique et de l'activité de l'eau sur les levures	
I.1.2.5.- Effet de pH et de la température sur la croissance des levures	
I.1.3.- Caractérisation et sélection des souches de levures	
I.1.3.1.- Caractéristiques intrinsèques	
I.1.3.2.- Caractéristiques industrielles et choix d'une souche	
I.1.3.3.- Particularités sur les levures sauvages	
I.2.- Quelques aspects sur le vinaigre et sa production	
I.2.1.- Définition du vinaigre	
1.2.2.- Place et importance du vinaigre	
I.2.3.- Processus de fermentation du vinaigre traditionnel de dattes	
I.2.3.1.- Présentation de la matière première: Production de dattes	
I.2.3.2.- Processus de fermentation alcoolique	
I.2.4.- Technique d'élaboration du vinaigre traditionnel	
I.2.5.- Caractéristiques du vinaigre	
I.2.7.- Production de dattes et de vinaigre	
I.7.- Qualité hygiénique du vinaigre	
Chapitre II : Méthodologie de travail	
II- Méthodologie de travail	
II.1.- Choix de matériel d'étude	
II.2.- Principe	
II.3.- Méthode de récolte	
II.4.- Méthodes d'analyse	
II.4.1.- Milieu de culture	
II.4.2.- Purification des souches de levure	
II.4.3.- Identification des souches des levures	
II.4.3.1.- Caractéristiques culturales	
II.4.3.2.- Caractéristiques morphologiques des cellules végétatives	

II.4.3.3.- Caractéristiques physiologiques	
II.4.3.3.1.- Fermentation des sucres (Technique de Guerra)	
II.4.3.3.2.- Assimilation des composées carbonées (méthode d'auxanographique)	
II.4.3.3.3.- Assimilation des composés azotée (nitrates)	
CHAPITRE III: **Résultats et Discussion**	
II- Résultat et discussion	
Conclusion	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
Les Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Pages
Figure 1	Technique d'ensemencement sur milieu OGA à partir de solution mère et des dilutions jusqu'à 10-4	
Figure 2	Différents étapes de purification des levures	
Figure 3	a- Test de fermentation des sucres	
	b- Test dela assimilation des sucres	
	c - Test dela assimilation d'azote	
	(a,b,c) : identification des levures isolées	

LISTE DES PHOTEAUX

Photo	Titre	Pages
1	Méthode d'écouvillonnage	
2	Les cellules rond (G : 10x10)	
3	Les cellules ovoïde (G : 10x10)	
4	Les colonies Crème Brunâtre lisse	
5	Les colonies Jaunâtre- Rugueus	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Pages
1	Caractéristiques des colonies des différents échantillons ensemencés	
2	Caractéristiques et aspect au microscope des levures Issues des différents échantillons	
3	Tests d'identification des souches de levure	

Résumé :

De puis longtemps les dattes possèdent une originalité profonde dans les coutumes et les habitudes alimentaires de l'homme saharien. Elles constituent la matière première pour l'élaboration d'un bon nombre de produits alimentaires parmi les quels le vinaigre. De même, les dattes hébergent naturellement dans les conditions sahariennes des souches de microorganisme, parmi elles se retrouvent les levures. La recherche et l'identification de souches de levures locales de type saharien permet un bonne maîtrise du processus de fermentation dans les bioconversions traditionnelles comme la production de vinaigre de dattes traditionnelle. Les études sur la recherche et l'identification de souches de levures issues du milieu saharien à partir des produits du terroir phoenicicole dont les dattes et le vinaigre traditionnelle de dattes échantillonnés dans trois zones à savoir Ghardaïa, Ouargla et Touggourt, est basée sur les testes de fermentescibilité des sucres recherchant à différencier les souches du genre de *Saccharomyce*. Il apparaît que les sucres testés dont le glucose, le saccharose, le maltose, le lactose et le galactose, seul le lactose est non fermentescible. La dégradation des sucres s'accompagne d'une voile. De même, l'étude de la discrimination des espèces du genre Saccharomyces, leur faculté d'assimilation des sucres et celle des nitrates montre que l'espèce étudiée est *Saccharomyces cerevisia*. Elle assimile remarquablement le glucose, le saccharose, le maltose et le galactose et ne dégrade pas le lactose ainsi que le nitrate de potassium.

Mots clés: Sahara, dattes, vinaigre de dattes, levure, sucres, nitrates.

ملخص الدراسة

تتميز التمور منذ قديم الزمان بمكانة كبيرة ضمن العادات و التقاليـد الغذائيـة لـدى الإنسـان ال .)روا- ,ذ باتت ت+كـ" المادة ا(ولية لت)ضير م#ت'& المنت%ات الغذائية من بينها مادة ال#"! نا يـك 1ن بقية ال%سيمات ال . غيرة الت/ ت)تويها التمور 0/ البيئة ال .)راوية م2" ال#مائر3

ويمكن الب)8 والتعرف& 7'1 م#ت'& ال6بقات المكونة ل'#مائر من ال$5م ال%يـد لعم'يـة الت#4ـر و . ن9 مادة ال#" من التمور ب6ريقة تق'يدية3 وا1تمدت الدراسات ال#ا . ة بالب)8 ومعر0ة 6بقات ال#مائر 0/ البيئة ال .)راوية ان6: قا من التمور ومادة ال#" التق'يد- بعد ت . نيفها ب2: 2ة منـا6 ; نـ ذكر منها> =ردابة و وورق'ة وتقرت! 7'1 ا#تبارات السكريات ال$اد0ـة ل ـ7 ,بـ راز ا#ـ ت: & 6بقـات #مـائر< الساكاروميس?3< ويبدوا ان السكريات الت/ تم ا#تبار ا م2" الغ'يكوز والساكاروز والمـالتوز وال:كتـوز والغاAكتوز A يكون منها سوى ال:كتوز =ير قابل ل'ت#4ر3 و=البا ما يكون ت'& السـكريات م . ـ)وبا بكدرة3 كما تبين الدراسة ال#ا . ة بالتمييز ما بين ا . نا& #مائر < الساكاروميس?< وقدرتها 7'1 اسـتيعاB السكريات والنترات ان ال . ن& المدرو? و < السكاروميس? سيريفيزيا< وانC لديC قـدرة كبيـرة 1'ـ7 استيعاB الغ'يكوز والساكاروز والمالتوز والغ:كتوز وA يت'& ال:كتوز وكذا نترات البوتاسيوم3

<u>الكلمات الأساسية:</u>

ال .)راD! التمور! #" التمور! ال#مائر! السكريات! النترات

Summary

Since the past, dates had have taken deep roots among the sahraoui man feeding habits. They were used a raw material for the preparation of a huge number of feeding products such as vinegar. Dates are also containing microorganisms stock such as yeasts. The research and identification of local saharian yeasts stock have permitted a good understanding of the fermentation process in the traditional bioconversions used to produce traditional vinegar from dates. Studies and researches bearing on identification of yeasts stock derived from saharian environment such as dates and traditional vinegar which were sampled in Ghardaia, Ouargla and Touggourt are based on sugars fermentability aiming at making a differentiation between saccharomyces. It seems that among sugars, which were tested such as glucose, saccharose, maltose, lactose and the galactose, there is only lactose, which is not fermentable. Degradation of sugars is accompanied with a fog. Moreover, the study aiming at differentiating saccharomyces species as well as their capacity of assimilation of sugars and nitrates shows that the studied species is the cerevisia saccharomyces. It assimilates very well the glucose, saccharose, maltose and the galactose and don't decomposes the lactose as well as the potassium nitrate.

key words
Sahara, dates, dates vinegar, yeast, sugars, nitrates.

Introduction

Introduction

Les produits à base de dattes sont nombreux et diversifiés: le sucre liquide, les pâtes de dattes, les jus, les sirops, les boissons gazeuses, la confiserie, la pâtisserie, la biscuiterie, l'alcool, le vinaigre... Toutefois l'éthanol importé en quantité énorme et en devises étrangère à plus de 70% des besoins nationaux, reste un produit important du point de vue économique. C'est un produit utilisé dans des secteurs variés telles que la chimie industrielle et l'industrie agro-alimentaire (matière première pour la fabrication de vinaigre)….. (OULD EL HADJI, 2001).

En fermentation alcoolique, seuls les hexoses sont directement fermentescibles; les autres doivent d'abord être hydrolysés par l'intermédiaire des enzymes (LECLERC et *al*., 1983; NONUS et MINNIAL, 1985). Les sucres constituent la principale composante des dattes. Ils sont diversifiés (MAHTALLAH, 1970; MUNIER, 1973; NIXON et *al*., 1978; SHUBBAR, 1981; SAWAYA et *al*., 1983; AZOUZ et *al*., 1991). On distingue des sucres majeurs à savoir le saccharose, le glucose et le fructose et des sucres mineurs, en très faible quantité, le galactose, l'arabinose et le xylose (SAWAYA, 1983).

La fermentation intervient dans la fabrication de diverses boissons fermentées. Le but est essentiellement la production d'éthanols (JOSEPH- PIERRE-GUIRAUD, 1998). Les levures ont été utilisées par l'homme depuis des millénaires, sans le savoir, en particulier dans la fabrication de boissons alcoolisées et de pain, ce n'est qu'avec les travaux de PASTEUR (1899-1876) que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique est mis en évidence (BOURGEOIS et LEVAU, 1992).

L'Algérie importe la souche de levure «*Saccharomyces cervisiae* » tous les quatre ans; pour la production de levure boulangère. Ceci dans le but de satisfaire les besoins de la population en pain qui sont de plus en plus très élevés, et la demande en levure est proportionnelle (OULD EL HADJ et *al*., 2007). Cependant, De tout temps les populations sahariennes ont eu à fabriquer localement leur propre vinaigre traditionnel de dattes à partir de souches de microorganisme existant naturellement sur la datte (OULD EL HADJ et *al*., 2OOO). Face, à ce constat la présente étude est une recherche et une identification des levures de types Sahariens en vu d'une collection des souches locales ayant des performances industrielles pour une fermentation dirigée. Toutefois, au vu des moyens disponibles, cette étude porte seulement sur l'étude des souches du genre Saccharomyces.

Chapitre I

Aperçu sur les levures

et la production de vinaigre issu d'une bioconversion

Chapitre I : Aperçu sur les levures et la production de vinaigre issu d'une bioconversion

I.1.- Généralités sur les levures

Les levures ont été utilisées par l'homme depuis des millénaires, sans le savoir, en particulier dans la fabrication de boissons alcoolisées et de pain. Ce n'est qu'avec les travaux de PASTEUR (1866-1876) que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique a été mis en évidence (BOURGEOIS et LEVLAU, 1991). Elles sont classiquement définies comme étant des champignons unicellulaires immobiles. Sur milieux gélosés, elles forment habituellement des colonies à surface luisante. La couleur des colonies de levures est généralement crème à brunâtre et parfois rosâtre. Elles sont plates, soit bombées (LARPENT, 1990).

Les levures sont regroupées en deux grandes classes selon leur capacité ou non d'élaborer des organes de reproduction sexuée). Les ascomycètes également appelés «levures vraies» ou encore levures ascosporogènes, forment dans certaines conditions des ascospores à l'intérieur de la cellule. Certaines levures sont capables d'élaborer des spores externes apparentées aux basidiospores; ces levures appartiennent au groupe des basidiomycètes. Les levures «fausses» sont classées dans le groupe des Deutéromycètes. Elles sont incapables de former, dans des conditions habituelles de laboratoire des ascospores à l'intérieur de la cellule ou des basidiospores (externes).

Ces cellules eucaryotes possèdent en plus d'un noyau entouré d'une membrane nucléaire et comportant jusqu'à 17 paires de chromosomes chez les souches haploïdes de saccharomyces, des organites cellulaires telles que mitochondries, microcorpuscules, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi (LARPENT, 1990).

Les levures puisent leur énergie par dégradation de substances organiques variées, ce sont des organismes chimiohétérotrophes. Les cellules de levure sont généralement ovoïdes ou sphériques, parfois cylindriques ou de formes plus spécifiques (BOURGEOIS et *al.*, 1988).

Dans la nature, les levures vont se trouver principalement sur les végétaux riches en sucre directement assimilable. Elles pourront se développer particulièrement au niveau des blessures et des cicatrices qui laissent s'écouler de jus sucré, des fruits sains portent une contamination en levures beaucoup plus faible que des fruits blessés (BOURGEOIS,

LEVEAU, 1991).

Les levures se distinguent des autres champignons par une taxonomie basée à la fois sur des caractères morphologiques et physiologiques. La classification de référence est actuellement celle de KREGRYVANRU (1984) qui présente des changements sensibles par rapport à la précédente classification de LODDER (1971). En particulier de nouveaux critères taxonomiques comme la composition en bases de l'ADN, la structure de la paroi, le type de cœnzyme Q: ubiquinone. Ce composé n'est plus considéré comme une vitamine puisqu' il est synthétise dans l'organisme (KARLSON, 1970). Il intervint comme intermédiaire des oxydations cellulaires (KRUH, 1989) et joue un rôle dans le système transporteur d'électron (DEUG et *al.*, 2001).

La classification actuelle recense 6 genres et 500 espèces. Le critère d'espèce est basé sur l'infertilité où la formation de spores viables pour les souches héterothalliques. Les mycéliums parentaux correspondent à 2 type génétiques morphologiquement identiques, mais différents par le type conjugal ou signe. L'organisme végétal est dit hetérothallique (LARPET, MONIQUE, GOURGAUD, 1970). Pour les souches homothalliques, un mycélium homothallique est un mycélium qui produit des organes sexuels mâles, féminins et des organes masculins compatibles entre eux, dont l'union donne un zygote. L'autofécondation peut avoir lieu (LARPET, MONIQUE, GOURGAUD, 1970). Les souches asporogènes présentent une inaptitude à former des spores, d'origine sexuée (BOURGEOIS, LARPENT, 1996). Les levures se repartissent entre 3 classes de champignons : les Basidiomycètes, les Deuteromycetes et les Ascomycètes. Les Basidiomycètes possèdent des spores ou basidiospores situées sur les patries terminales de leurs ramifications appelées basides (LECLERC et *al.*, 1983). Les Deuteromycetes chez lesquels un mode de reproduction sexuée nettement apparent n'a jamais été mis en évidence (LECLERC et *al.*, 1983). Ils regroupent les formes imparfaites des levures ayant des affinités avec les Ascomycètes ou les Basidiomycètes. Les Ascomycètes ont un mycélium bien développé et cloisonné qui portent leur spore dans des organes en forme de sacs (LECLERC et *al.*, 1983). Les Ascomycètes (Hémiascomycetes) se caractérisée par des asques libres.

La famille de Saccharomycetaceae est divisée en 4 sous familles:
- *Schizosaccharomycetoideae*: Ce sont des levures se divisant par scissiparité et pouvant donner un mycélium.
- *Nadsonioideae*: Ce groupe de levures à bourgeonnement bipolaire contient quelques

espèces intéressantes appartenant au genre Hansemiospora (levures du vin participant au démarrage de la fermentation alcoolique).
- *Lipomycetoïdeae*: Elles présentent un bourgeonnement et donnent des asques en sac. Leur intérêt est moindre, sauf quelques espèces du genre *Lipomyces*.

Les Saccharomycetoideae possèdent des cellules bourgeonnantes et ont des spores non fusiformes. Cette famille est divisée en trois tribus dont la plus importante est celle de Saccharomyceteae à bourgeonnement multipolaire (les bourgeonnements successifs apparaissent à partir d'une cellule naissent toujours en des endroits différents de la surface cellulaire) (LECLERC et *al.,* 1983). Cette tribu regroupe de nombreuses espèces intéressantes pour l'industrie alimentaire et appartenant au genre *Saccharomyces.* Ce sont des levures alcooligènes des industries de fermentation (brasserie, vinification, cidrerie, boulangerie, diététique) ou des contaminants des produits sucrés ou alcoolisés. L'espèce type est la levure de boulangerie *S. cerevisiae.* Cette espèce est utilisée en distillerie et brasserie (levure haute). D'autres espèces ou biotypes jouent aussi un grand rôle. Il s'agit de *S. ellipsoidus* et *S. oviformis* (hautement alcooligène), etc.… (JOSEPH, PIERRE-GUIRAUD, 1998).

Depuis leur facilité de culture et l'innocuité d'un grand nombre d'espèce en ont fait des levures les microorganismes les plus utilisés. Dans certaines fabrications, le développement des levures est souhaite pour transformer une matière première. C'est le cas en panification ou les levures sont utilisées pour faire lever les pâtes, dans l'élaboration des boissons fermentées (bières, vins, cidre….). Elles sont utilisées pour la production d'alcool industriel à partir de jus de betterave ou de canne à suce ou de mélasse ou 'hydrolysat de céréales; mais aussi comme de protéines et de vitamines comme par exemple les vitamines du groupe B sur divers sous-produits industriels comme le lactosérum, les vinasses, etc.…. Les levures participent également à l'affinage de certains fromages. En fin les bonnes connaissances de la biologie moléculaire des levures et les techniques de geni-génitique ont permis d'utiliser des levures pour la production de protéines animales et humaines comme la présure, l'hormone de croissance humaine ou le vaccin contre l'hépatite B et les enzymes (BOURGEOIS, LEVEAU, 1991).

I.1.1.- Caractères généraux des levures

I.1.1.1.- Morphologiques

Les cellules de levures sont généralement ovoïdes ou sphériques, parfois cylindriques. Leur taille va de 2 à 3 microns et même jusqu'à 5 microns chez certaines espèces de levures. Les cellules peuvent après bourgeonnement rester liées les unes aux autres et constituer aussi un pseudomycelium. Plus ou moins différencié suivant les genres ou les espèces. Dans certaines conditions, d'autres levures peuvent produire de mycéliums caractéristiques de champignons filamenteux, comportant des cloisons transversales ou septa et présentant une croissance apicale (BOURGEOIS et *al*, 1988).

I.1.1.2.- **Caractères physiologiques et biochimiques**

Les levures étant dépourvues de chlorophylle sont incapables de produire les composés organiques nécessaires à leur croissance à partir de substrats minéraux comme le font les végétaux supérieurs, les algues et quelques bactéries. Elles sont donc saprophytes et quelques fois parasites. Pour leur croissance, elles ont besoin d'oxygène, de sources organiques de carbone, d'azote minéral ou organique, de divers minéraux, d'une température et d'un pH adéquats. Certaines d'entre elles ont également besoin d'un ou plusieurs vitamines comme par exemple la thiamine (vitamine B_1), biotine (vitamine B_8), inositol (vitamine B_7), acide pantothénique (vitamine B_5) (KARLSON, 1970)) et d'autres facteurs de croissance. Toutes sont capables d'utiliser le D-glucose, le D-fructose et le D-mannose. Certaines levures produisent des lipides (*Lipomyces starkeyi*) d'autre ont une activité lipolytique. Elles utilisent de nombreux substrats carbonés soit uniquement par voie oxydative (Cryptococcus, Rhodotorula), soit pour la plupart, après une phase aérobie de démarrage de la croissance, par métabolisme fermentaire (anaérobie) conduisant à la production d'éthanol et de CO_2.

Les levures ne provoquent pas d'intoxications alimentaires et seules *Condida albicans* et *Ccryptococcus neoformants* sont pathogènes (BOURGEOIS et *al.*, 1988).

I.1.1.3.- Croissance

La croissance en anaérobiose est seulement possible avec les levures sensibles au glucose, mais l'apport d'ergostérol, d'acides gras insaturés et parfois de vitamines (acide nicotinique) est essentiel car les molécules ne sont pas synthétisées dans ces conditions. Dans les cultures de *Saccharomyces cervisiae* développées en anaérobiose seulement 10% du glucose est converti en biomasse et le restant est incorporé dans l'éthanol, le

glycérol et pyruvate parfois même dans le succinate (FIECHTER et *al*, 1981).

I.1.1.4.- Métabolisme

Toutes les levures sont capables d'utiliser le glucose
et le fructose. En ce qui concerne des di-, tri-, ou polysaccharides, ils ne sont fermentés qu'après hydrolyse à l'extérieur ou à l'intérieure des cellules. L'intertase extracellulaire hydrolyse le saccharose en glucose et fructose. Le raffinose est faiblement hydrolysé par cette enzyme en fructose et mélibiose. Ce dernier n'est d'ailleurs pas un substrat utilisé par les souches de *S. cervisiae*.

Le glucose et le fructose pénètrent dans la cellule par diffusion facilitée mais aussi après phosphorylation (FRANKEL, 1982).

Les hexoses intracellulaires sont intégrés dans la voie de la glycolyse après phosphorylation par deux hexokinase et une glucokinase. Les hexokinases sont peu spécifique et peuvent phosphoryler le glucose, le fructose ou le mannose. L'une des hexokinases est une enzyme multifonctionnelle impliquée dans la répression catabolique (ENTIAN et *al*, 1984).

La teneur intracellulaire en ces enzymes va donc conditionner les performances philosophiques des levures (BOURGEOIS et LARPENT, 1989).

Toutes les levures ne sont pas aptes à utiliser des sources d'azotes minéraux en effet, *Condida utilis* assimile les nitrates alors que *Saccharomyces cervisiae* en est incapable. Les levures qui assimilent les nitrates également les nitrites mais la réciproque n'est pas vraie. Parmi les sources d'azote minéral, les sels d'ammoniums donnent les meilleurs résultats et pour les sources d'azote organique, les acides aminés sont essentiellement utilisés en fonction des capacités de désamination des levures. La croissance des levures est pus importante en présence d'acides aminées ou de sels d'ammonium qu'avec des peptides (HAROING et KIRSOP, 1979).

L'urée est utilisée par beaucoup de levure et donne des croissances identiques à celles obtenus avec des sels d'ammonium.

En l'absence d'oxygène, les levures utilisent la voie "Embden, Meyerhof, Parnas"

pour l'oxydation des hexoses, les deux dernières étapes de cette voie comportent la décarboxylation du pyruvate en acétaldéhyde et la réduction de ce dernier en éthanol. Cette voie représente 95% la glycolyse chez *S. cervisiae* et *C. utilis* (BOURGEOIS et LARPENT, 1989).

I.1.1.5.- Besoins nutritionnels

Pour leur développent, les levures ont besoin de composés carbonés, qui procurent à la fois la source d'énergie de composés réduits sous forme d'ammonium. Quelques levures peuvent utiliser les composés azotés oxydés (nitrates) ou organiques pour la synthèse des protéines et des acides nucléiques, et enfin d'éléments minéraux variés. Les besoins en vitamines varient suivant des espèces (BOURGEOIS et LARPENT, 1991).

I.1.1.6.- **Phénomène de floculation**

La floculation des microorganismes est un phénomène qui se rencontre naturellement chez de nombreuses souches et qu'on peut aussi provoquer artificiellement (BOURGEOIS, LARPENT, 1996). C'est une propriété des levures qui se manifeste souvent dans les industries de fermentation alcoolique (brasserie) par l'agglutination (ou floculation) des cellules et par une sédimentation (levure basse) ou un montée (levure haute) (PIERRE-GUIRAUD, 1998). Il s'agit là d'une méthode de rétention séduisante car elle fait appel à la méthode de séparation liquide-solide la plus élémentaire, la décantation (GHOMMIDH et NAVARRO, 1986).

Il est possible de maintenir en activité de 60 à 110 g/l de levure sans contraintes physiques au niveau des microorganismes (BOURGEOIS, LARPENT, 1996).

Les agrégats formés peuvent comporter plusieurs centaines de cellules, les phénomènes de transferts de matières prennent alors une grande important. C'est pourquoi les levures ne doivent pas floculer en cours de fermentation. L'éthanol a une action positive sur la floculation alors que les acides gras insaturés sont plutôt défavorable (BENALLAOUA et BELLAL, 1995). Des températures supérieures à 30 °C inhibent la floculation, il en va de même de l'anaérobiose (BOURGEOIS et LARPENT, 1989).

I.1.1.7.- **Reproduction**

La reproduction végétative se fait généralement par bourgeonnement. Dans certaines conditions physico-chimiques d'environnement, les levures sporogènes peuvent se reproduire par voie sexuée.

Reproduction végétative: Lorsqu'on parle de bourgeonnement, cela donne à penser immédiatement aux levures. C'est le processus asexué au cours duquel la cellule mère émet une petite excroissance ou bourgeon qui augmente de taille et s'organise à l'aide d'un partie du matériel nucléaire et cytoplasmique de la cellule parentale (LECLERC et *al.*, 1983). Cette multiplication se traduit, lors de la séparation des cellules, par la formation d'une cicatrice de bourgeonnement sur la cellule mère et d'une cicatrice de naissance sur le bourgeon (BELIN, 1972). Dans le mode de multiplication par bourgeonnement, il ne se forme pas deux bourgeons sur le même site (sauf cas de bourgeonnement bipolaire) le nombre de bourgeons par cellule se trouve donc limité (MILLER, 1983).

Reproduction sexuée: Les levures appartiennent aux Eucaryotes et de ce fait, présentent les caractéristiques de la division méiotique: fusion des deux noyaux haploïdes, formation d'un noyau diploïde. La persistance de la membrane nucléaire pendant la division conduit à une structure en 4 lobes autour desquels se forme une paroi qui entraine la rupture de la membrane nucléaire et l'individualisation des spores.

Certaines levures sporogènes forment des spores sur n'importe quel milieu, en revanche, d'autres exigent des conditions de croissance ou de sporulation bien déterminées. En l'absence de ces conditions, une levure sporogènes peut se multiplier indéfiniment par voie végétative (BOURGEOIS et LARPENT, 1989).

I.1.2.- Effet de quelques paramètres de la fermentation sur les levures

I.1.2.1.- Effet du glucose sur les levures

La concentration critique à la quelle le glucose est métabolisé en éthanol et CO_2 en dépit d'un excès d'air se situé dans l'intervalle 35 à 28 $mg.l^{-1}$. Aux environs d'une concentration de 5 $mg.l^{-1}$ en glucose, il y a inhibition de la synthèse des enzymes respiratoires. Le métabolisme est donc fermentaire quel que soit le niveau d'aération. Ce phénomène est connu sous le nom "effet glucose" ou "effet crabtrée" (BOURGEOIS, LARPENT, 1989).

I.1.2.2.- Effet de l'éthanol sur les levures

Toutes les levures ne présent pas la même sensibilité à l'éthanol. Les plus résistantes sont les Saccharomyces que l'on utilise dans les procédés de fermentation alcoolique pour l'élaboration des boissons ou la fabrication d'éthanol industriel (la tolérance à l'éthanol dépend de la composition des membranes cytoplasmiques des cellules et en particulier des lipides. Cette composition dépendant elle-même du milieu de culture et de la température (LEVEAU et BOUIX, 1986).

I.1.2.3.- Effet du CO_2 sur les levures

Lorsque la concentration en CO_2 du milieu atteint un taux de saturation. Au bout de quelques heures la fermentation s'arrête (LAISNE g. et *al.* 1972). La croissance des levures peut être partiellement inhibée. Dans ces conditions, on observe notamment une diminution de la teneur en esters d'acétate qui a des répercussions sur l'arôme de la bière (KIRSOP, 1981).

I.1.2.4.- Effet de la pression osmotique et de l'activité de l'eau sur les levures

L'effet de la pression osmotique varie d'une souche à une autre. La plupart des souches ne peuvent se développer pour des activités de l'eau inférieure à 0,90. Certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées correspondant à une activité de l'eau de l'ordre de 0,60 mais avec un métabolisme lent (LEVEAU et BOUIX, 1979).

L'influence de la pression osmotique est à relier à la nature des composés du milieu, en particulier les sels qui ont un effet inhibiteur qui s'ajoute à l'effet de la pression osmotique. Par exemple *Zygosaccharomyces rouxii*, la plus xérotolérante des levures, se développe dans des milieux sucrés à une activité de l'eau de 0,60; mais tolère seulement une activité de l'eau de 0,85 dans des milieux salés.

I.1.2.5.- Effet de pH et de la température sur la croissance des levures

L'optimum de pH pour la croissance des levures varie de 4,5 à 6,5 et beaucoup d'espèces tolèrent de grandes variations de pH. Elles peuvent encore se développer à pH 2,8-3,0 et pH 8-8,5.

La température de croissance est comprise entre 5°C et 30-37°C. La levure optimale se situant vers 25°C. Dans certains cas, la multiplication végétative a encore lieu vers 0°C ou légèrement en dessous, mais le taux de croissance est faible (BOURGEOIS et *al* ,1988).

I.1.3.- Caractérisation et sélection des souches de levures

Deux types de levures sont en concurrence pour produire la bière: *Saccharomyces cervisiae* dite de fermentation haute parce qu'elle monte en surface en fin de fermentation, et *Saccharomyces uvarum*, dite de fermentation basse, qui tombe au fond de la cuve en fin de fermentation.

Les travaux de PASTEUR et de HANSEN ont attiré l'attention sur l'intérêt d'utiliser des cultures pures de levures et fait prendre conscience peu à peu de l'importance des caractéristiques des souches. C'était le point de départ des travaux visant à la caractérisation, la sélection et l'amélioration génétique des souches, qui sont actuellement fortement stimulés par les récents acquis du géni génétique.

Le choix de la levure, particulièrement important, implique de connaître les caractéristiques désirées, de disposer de tests permettant de détecte et mesurer ces propriétés et enfin d'avoir accès à une collection de souches susceptible de fournir des souches proches de l'idéal recherché (STELOART, 1974).

Les nombreux tests qui ont été proposés, ont pour objectif de caractériser les souches sur le double plan des conditions rigoureusement standardisées qui permettent de dresser pour la souche une véritable carte d'identité, c'est la caractérisation intrinsèque (MASSCHELEN, 1972).

En second lieu, les résultats des fermentations à échelle réduite et des fermentations en usine fournissent des informations relatives au comportement des souches dans les conditions réalistes : c'est la caractérisation industrielle.

I.1.3.1.- Caractéristiques intrinsèques

Le taux de croissance exponentiel sur milieu standardisé est une caractéristique

utile, mais dépendante de la température et de la composition du milieu et ce critère est donc d'un intérêt limité. Toutefois un taux de croissance élevé va souvent de pair avec d'autres caractéristiques intéressantes notamment une bonne efficacité fermentaire.

L'intensité fermentaire, quantité de CO_2 arrachée à un substrat par n et par g de levure dans des conditions déterminé, est un autre paramètre intéressant. L'intensité fermentaire du glucose, du maltose, les principaux substrats fermentescibles du moût, sont des caractéristiques dont l'influence sur la vitesse de la fermentation est considérable.

La floculence est une autre caractéristique importante sur le plan technologique. Elle caractérise la plus ou moins grande tendance des levures à s'agglutiner et à sédimenter en fin de fermentation. Ce phénomène de la floculation dépend d'une part des caractères génétiques de la souche et d'autre part de la composition du milieu. Les mécanismes de la floculation est encore mal connu (PAMADA et MURATA, 1984; ROSE, 1993). Pourtant la maîtrise de ce phénomène est particulièrement importante en brasserie. D'une part il détermine le degré d'«atténuation» susceptible d'être atteint, une floculation trop précoce réduisant ce degré d'«atténuation»; d'autre part puisque c'est de lui que dépend la quantité de levure en suspension au «traversage», il influe sur la maturation et la clarification en fermentation secondaire.

La résistance à l'alcool est également une propriété importante pour la fermentation de moût à haute densité (CASEY et *al*, 1984, Rose, 1993).

I.1.3.2.- Caractéristiques industrielles et choix d'une souche

Son but est de connaître avec autant de précision que possible le comportement des souches dans les conditions industrielles. Par comportement, nous entendons à la fois les caractéristiques de la fermentation (vitesse d'atténuation au moment de la floculation) et les caractéristiques organoleptiques du produit fabriqué. Alors que les caractéristiques intrinsèques de la souche, les caractéristiques de production d'une souche sont relatives à une méthode de fermentation déterminée.

Dans ces conditions, les informations les plus utiles sont fournies par l'utilisation industrielle elle-même. Des laboratoires qui distribuent des levures à de nombreuses basseries peuvent collecter de telles informations et acquérir peu à peu une bonne

connaissance des levures.

Cependant, il serait important de tester directement à l'échelle industrielle une souche nouvellement isolée et l'on préfère effectuer préalablement une expérimentation à petite échelle dans des conditions simulant au mieux les conditions industrielles.

Le choix d'une levure pour une application déterminée implique de connaître les caractéristiques de nombreuses souches et de faire un choix tenant compte de l'ensemble de ces caractéristiques. BRYAN et COWAN (1979) proposent une méthode pour effectuer le classement des souches et le choix d'une souche convenant à un usage déterminé. Selon ces auteurs, une souche destinée à la fermentation continue, doit être recherchée parmi des souches présentant un haut degré de floculence associé à une forte intensité fermentaire (BOURGEOIS et LARPENT, 1996).

I.1.3.3.- Particularités sur les levures sauvages

Les levures responsables de la contamination des aliments sont souvent des espèces bien connues qui provoquent des changements indésirables dans les produits. Ces changements se manifestent sous deux aspects :
- L'un purement esthétique dû à la présence physique des levures (trouble ou pellicule en surface des liquides), l'autre résultant du métabolisme des levures (augmentation du pH, arômes particulière; etc.….). La composition chimique des produits, la concentration en O_2, la température et des facteurs du stockage rendent les aliments sélectifs vis- à- vis des levures et le nombre d'espèces capables de se développer est limitée à quelques unes. Les levures tolèrent mieux les sucres que les sels, et leur croissance est fortement ralentie aux faibles activités de l'eau. Dans un produit, la phase de latence peut donc être très longue et la croissance peut survenir localement si de l'eau est libérée (MOSSEL, 1977). On distingue deux types d'altération:
- Altération aérobie: Des levures peuvent se développer en surface en créant un voile (fleur du vin) et en dégradant l'alcool en eau et CO_2 (*Condida mycoderma)* (JOSEPH-PIERRE GUIRAUD, 1998).
- Altération anaérobie: Des levures «sauvages» comme le *Brettanomyces* peuvent provoquer une fermentation anormale avec faible degré alcoolique, acidité volatile (acide acétique) et mauvaises qualités organoleptiques.

Des troubles ou des pigmentations, des mauvais goûts et de mauvaises odeurs

peuvent aussi résulter du développement de Zygosaccharomyces, Saccharomycodes, Schuzosaccharomyces, etc.. De l'acétate d'éthyle peut être formé en excès par Koleckera, Hansenséspora et d'autres espèces (JOSEPH- PIERRE- GUIRAUD, 1998).

I.2.- Quelques aspects sur le vinaigre et sa production

On fait remonter à plusieurs milliers d'années la découverte du vinaigre. La fabrication du vin remontre à plus de 10.000 ans**.** On peut imaginer que la production du vinaigre est aussi ancienne, puisqu'il s'agi en fait d'une maladie du vin (DIVIES, 1989). Le vinaigre est décrit dans la bible et il constitue une matière première utilisée par les alchimistes. Les romains aussi développèrent son utilisation comme boisson additionnée d'eau ou d'un mélange d'eau et d'œufs (DIVIES, 1989). Pour en éliminer les impuretés comme par exemple des bactéries et pour la rendre rafraîchissante (CACQE, 2002).

I.2.1.- Définition du vinaigre

Etymologiquement de vin et aigre, c'est du vin rendu aigre par développement de bactéries. Par extension est appelé vinaigre tous produit obtenu par fermentation acétique de boissons ou de dilution alcoolique. La plupart des vinaigres sont fabriqués à partir d'alcools divers mélangés à de l'eau (DIVIE, 1989)

Le vinaigre est un liquide préparé à partir d'une matière appropriée contenant de l'amidon ou des sucres, selon le procédé biologique de la double fermentation alcoolique et acétique (CACQE, 2002).

1.2.2.- Place et importance du vinaigre

Le vinaigre est 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 outre, les anciens médecins arabes ont parlé du vinaigre en citant ses effets utiles et nuisibles pour 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. Sa consommation abusive affaiblit les nerfs et la vue et il jaunit la teinte du vinaigre (KOUDAMA, 1990). Le vinaigre traditionnel de dattes est connu depuis longtemps. Il constitue un produit très intéressant pour les populations sahariennes, en

particulier celle de la cuvette de Ouargla. Car en plus de son utilisation 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.…Il est aussi utilisé pour soigner plusieurs maladies et infections tels que: les maux de tête et de gorge, la constipation, les pellicules, les toux, les piqûres des insectes, les brûlures, etc.… (ARAB et GUEZZOUN; 2003).

I.2.3.- Processus de fermentation du vinaigre traditionnel de dattes

Après triage et lavage des dattes on prend une mesure de celle- ci, on ajoute deux mesures d'eau du robinet, le tout est mis dans une jarre ou gargoulette. Celle-ci est bouchée avec du gypse (Timchemt) ou avec du lif de palmier, le tout est abondonné pendant quarante jours à la température ambiante (OULD EL HADJ et *al.*, 2001) De nos jours, vu la rareté de ce matériel, des récipients en plastique sont utilisés. Ainsi les deux types fermentations alcoolique et acétique se déroulent simultanément. Les vinaigriers ont l'habitude d'enrichir le milieu de fermentation par addition de produits divers, parmi les quels nous citons des grains de blé, d'orge, de Harmel de coriandre. Le tout à raison de sept (7) grains chacun. En plus de cela, certains rajoutent du piment du charbon, un clou, quelques pincées de sel de table (Auteur !!!!) (OULD EL HADJ et *al.*, 2001).

Après quarante jours, on débouche la jarre ou le récipient, on procède à un tamisage, le produit ainsi obtenu constitue le vinaigre traditionnel. Certains vinaigriers exposent leurs bouteilles de vinaigre au soleil afin de provoquer le brunissement non enzymatique et donc améliorer la couleur des vinaigres (OULD EL HADJ et *al.*, 2001).

D'une façon générale, vu l'exigence des microorganismes en température l'élaboration se déroule en automne.

Les levures utilisées au cours de cette bioconversion sont très répondues dans la nature. Selon GUIRAUD et GALZY (1980), elles sont présentes à la surface des fruits mais aussi sur les fleurs et feuilles, c'est leur habitat naturel; donc présente sur les dattes. Face à ce constat il semble nécessaire de présenter la matière première qui est la datte.

I.2.3.1.- Présentation de la matière première: Production de dattes

La culture de datte constitue une base alimentaire par excellence en raison de sa grande richesse énergétique (ALOGALDI, 1987). Les principaux produits qu'on peut obtenir à partir du palmier dattier sont la datte, le tronc, le cœur, la sève, les palmes, la fibrine, etc. Parmi les sous produits du palmier, on peut citer: le vinaigre de dattes, l'alcool, le vin, la pâte, la farine, le sirop, le miel, le sucre et la levure alimentaire qui sont tous obtenus a partir de la datte (BEN HAFID, 1990; BRAHIM et KHALIF, 1998). Pour le vinaigre traditionnel, il y à plusieurs sources pour leur fabrication.

Selon la composition en sucre et en eau, il y a 3 types de dattes à savoir les dattes molles, les dattes demi-molles et les dattes sèches.

- Dattes molles (Ghars)

Ces sont des dattes trop humide qui fermente (MUNIER, 1973). La plupart de dattes molles ne contiennent pas de saccharose; 4/5 constitués de glucose (Travaux de l'I.N.R.A.A., 1960 à la station d'El-Arfiane,).

- Dattes demi-molles (Deglet-Nour)

Parfois présente un léger excèdent d'humidité (MUNIER, 1973). Contenir en partie égal du glucose et du saccharose (COOK et FUR, 1953) mais d'après GERARD (1960), elle est une datte à saccharose.

- Dattes sèches

En plantation à la suite de vents secs et chauds dans les régions à climat aride ou semi-aride chaud. Ces dattes devront être réhumidifiées (MUNIER, 1973). Contiennent 1/3 de saccharase et 2/3 de sucre réducteur. La chair de la datte mure est composée de sucres, d'eau, de cellulose, d'éléments minéraux et de produits divers. Les sucres et l'eau sont les constituants les plus importants et ces deux éléments confèrent par leur proportion, la consistance de la chair (MUNIER, 1973)

La pulpe de datte est constituée de 2/3 de sucre, 1/4 d'eau de cellulose, pectine, cendre….etc.

Au stade immature la proportion $\frac{eau}{matiére\ \text{sèche}}$ est très élevée, elle diminue à mesure qu'augmente la qualité de la matière sèche (BELLABACI, 1988).

Il y a 2 classes de dattes selon la valeur marchande. Les variétés de faible valeur marchande sont destinées essentiellement à l'alimentation de bétail. Ces variétés de dattes sont les plus couramment utilisées dans la fabrication du vinaigre traditionnel de datte.

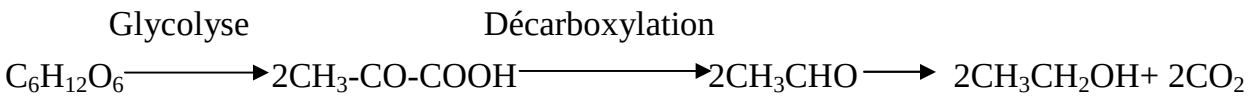
Les variétés à valeur commerciale sont des dattes qui peuvent être d'une commercialisation importante. Les principales variétés sont Ghars, Deglet-Nour. Toutefois, ces dattes sont très appréciées. Et sont aussi largement utilisées en vinaigrerie traditionnelle.

Les Sous produits de dattes selon BOUABDALLAH (1990): les jus de dattes, les sirops de dattes et les sucres liquides, les confiture de dattes-non pasteurisée, les marmelades de dattes, les farine de dattes, les miel de dattes, etc..

I.2.3.2.- Processus de fermentation alcoolique

La production d'alcool éthylique par la levure est connue depuis d'antiquité trois siècles avant notre ère. Les pharaons connaissaient l'alambic qui permettait d'obtenir un liquide concentré en alcool à partir de milieux fermentés. L'alcool de riz est fabriqué dès le 7ème siècle en chine. Il faut attendre le 9ème siècle pour voir ce procédé utilisé en Europe. ARNAUD de VILLENEUVE, au 12ème siècle, invente l'eau de vie. En 1753, GILLES de GOMBERVILLE distille de cidre et invente le "Calvades". Mais c'est à partir de NAPLEON 1er que l'industrie sucrière née de la betterave. Elle sera à la base de véritable industrie de l'alcool qui est tout à fait différente des ateliers artisanaux de production d'eau de vie de fruits (PRESCOTT, HARLEY et KLEIN, 2003). Alors que ces dernières étaient destinées à la dégustation, l'alcool de betterave sera utilisé à des fins chimiques ou dans l'industrie de la parfumerie. Depuis, de nombreuses matières premières ont été utilisées pour produire de l'alcool. La fermentation alcoolique se déroule en milieu anaérobie. Elle est assurée par des levures de genre Saccharomyces qui sont présentes naturellement sur les fruits comme les dattes. Elles sont principalement basées sur transformation des sucres, essentiellement glucose et fructose, qui pénètrent dans la cellule de la levure par diffusion facilitée et subissent une phosphorylation aboutissant à la fin de la fermentation à l'alcool éthylique, mais aussi de la production de différents composés qui

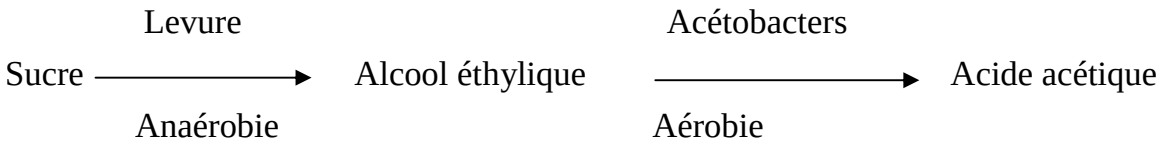
accompagnent cette production d'alcool et jouant un rôle organoleptique majeur sur la qualité du produit (Bourgeois et al, 1989; LARPENT, 1991). La réaction de fermentation alcoolique se déroule selon l'équation suivante :



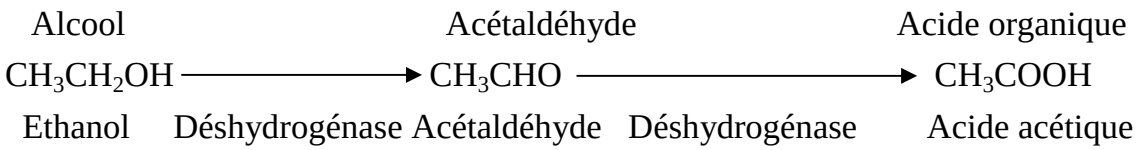
Glucose Pyruvate Acetaldehyde Ethanol

I.2.4.- Technique d'élaboration du vinaigre traditionnel

La technique d'élaboration du vinaigre traditionnel de dattes est basée sur une double fermentation combinée, anaérobie et aérobie. Cette bioconversion utilise des levures et des bactéries acétiques présentes naturellement dans la datte, ce qui entraîne une production d'éthanol qui est transformé en acide acétique. Ce procédé diffère du procédé industriel. Les deux réactions biotechnologiques se déroulent en même temps, bien que les exigences des organismes unicellulaires mis en jeu différent en matière d'oxygène (SEBIHI, 1996).



La fermentation alcoolique se déroule en milieu anaérobie. Elle est assurée par des levures du genre Saccharomyces qui sont présentes naturellement sur la matière première. Le processus de la fermentation acétique intervient dans la fabrication du vinaigre (GUIRAUD, 1998). Elle assuré par les acétobacters qui oxydent l'éthanol en acide acétique en présence d'oxygène. Elle met en jeu des déshydrogénases membranaires liées à des cytochromes (LAFRONL AFOUR, 1979; BOURGEOIS et *al*, 1989) selon la réaction suivante :



I.2.5.- Caractéristiques du vinaigre

L'Arrête interministériel du 25 novembre 1997 relatif aux spécifications techniques et aux modalités et aux conditions de mis à la consommation des vinaigres. Conformément à l'article 02 du décret, la dénomination vinaigre est réserve aux liquidées préparés exclusivement à partir d'une matière appropriée contenant de l'amidon et / ou des sucres. Cette arrêté interdit l'utilisation d'acide acétique, l'acide pyroligneux d'aide minéraux et de vinasse dans la fabrication des vinaigres ainsi que leur addition des ces même produits (CACQUE, 2002).

Le vinaigre n'est pas un aliment dangereux au plan sanitaire en raison de son acidité (pH=3) (GUIRAU, 1998). Cette acidité résultat du métabolisme des micro-organismes acidophiles présents dans le vinaigre qui contribue à la diminution du pH. Parmi ces micro-organismes se trouvent les levures, les moisissures et les bactéries acétiques (MICHEL, 1974).

Le vinaigre doit renfermer au moins 6% d'acide selon le décrit du 28 juillet 1908. Modifier par le décrit du 26 mars 1924 (GUIRAUD, 1998).

Le dosage de l'alcool permet de suivre l'acétification au cours de la fabrication du vinaigre. Les vinaigres artificiels ne contiennent pas d'alcool. Les vinaigres d'alcool ne doivent pratiquement pas en renfermer (0,05 à 20%). Les vinaigres de vin en renferment des quantités variables. Selon la marche de l'acétification des quantités peuvent aller jusqu'à 2,5 pour 100 ml sont fréquemment trouvées. L'absence totale d'alcool permet de conclure à une substitution de vinaigre artificiel aux vinaigres de boissons fermentées. La teneur en extrait sec soluble de vinaigre de vin est 1,3 g/l pour 1% d'acide acétique. Pour les vinaigres de fruits, ils sont de l'ordre 2 g/l pour 1% d'acide acétique. Au moment de la fermentation les sucres forment la principale source de carbone pour les micro-organismes (LARPENT, 1991).

Toutes les levures sont capables d'utiliser le glucose et le fructose pour la production d'éthanol en présence d'oxygène. Les ingrédients facultatifs du vinaigre sont suivant les techniques mais aussi selon la qualité organoleptique recherchée : des herbes condimentaires, des épices et des fruits ou parties ou extrait de ces végétaux (aromatisants), du lactosérum, du jus de fruit, miel et sels alimentaires.

I.2.7.- Production de dattes et de vinaigre

La production mondiale de dattes évaluée par la FAO, faite une pointe en 1996 à 4.492.000 tonnes. Les plus grands producteurs sont l'Iran (765.000 million de tonnes) suivie de l'Egypte (680.000 million de tonnes), l'Arabie Saoudite (597.000 million tonnes), l'Irak (550.000 million de tonnes), le Pakistan (533.000 million de tonnes), l'Algérie (361.000 million de tonnes) puis les Emirats Arabes Unités et d'autres pays (240.000 million de tonnes). Les producteurs significatifs sont la Libye, le Maroc, le Soudan, la Tunisie, la Chine, l'Oman, le Yémen, le Quater, le Bahrayn, les Etats-Unis et la Jordanie.

Cependant les pays européens producteurs de dattes se notent la Turquie et l'Espagne**.**

L'Algérie est l'un des principaux pays phoenicicoles. Les dattes constituent la matière première pour l'élaboration d'un bon nombre de produits alimentaires, parmi les quels le vinaigre *(*BRAHHIM et KHALIF, 1998). La production mondiale de vinaigre est estimée (exclus la Chine et l'ex-URSS) à plus de 1600 millions de litres par an à 10% d'acide acétique (DIVIES, 1989). Cette production provient d'une multitude de vinaigre savoir: vinaigre d'alcool, de vin, de cidre, de poiré, de betterave, de glucose, de petit lait, d'herbe, etc.….. . La production acétique à base de datte reste encore mal connue.

Certains pays avec l'Irak en tête s'orientent vers les industries de transformation des dattes. L'Algérie en dehors des usines de conditionnement ne possède aucune usine de transformation de la datte. Cependant, les dattes possèdent un pouvoir historique et une origine profonde dans les coutumes et les habitudes alimentaires de l'homme saharien. Les dattes constituent la matière première pour l'élaboration d'un bon nombre de produits alimentaires parmi lesquels, le vinaigre.

Certes des études pour la valorisation des dattes communes algériennes ont vu le jour. Citons à cet effet MAATALA (1970). Cette étude laisse apparaître l'utilisation des dattes dans l'élaboration de certains produits comme le vin, l'alcool, le vinaigre par fermentation. CHEICK (1995) étudie la production d'alcool et de vinaigre par quatre variétés de dattes communes (Dégela Beida, Techrwit, Hamraya et Assabri) de la cuvette de Ouargla. SEBIHI (1996) recherche quelques paramètres de la qualité hygiénique et biochimique du vinaigre traditionnel de quelques variétés de dattes de la cuvette de Ouargla. Une étude de ARAB et GUEZZOUN (2003), ont étudie les vertus

thérapeutiques du vinaigre traditionnel. Les qualités hygiéniques et caractéristiques physico-chimiques du vinaigre traditionnel de quelques variétés de dattes de la cuvette de Ouargla, sont rapportées par OULD HADJ, SEBIHI et SIBOUKEUR (2001).

I.7.- Qualité hygiénique du vinaigre

Selon GUIRAUD (2003) pour qu'un microorganisme vive ou se développe, il doit trouver dans le milieu les éléments nécessaires à ses synthèses. Le vinaigre contient peut de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions. Il s'agit essentiellement de levures, de bactéries acétiques. Les bactéries acétiques sont des bacilles Gram négatif (-), parfois allongés, asporulés, généralement mobiles. Elles sont aérobies strictes (GUIRAUD, 2003).

Pour les levures, elles sont des microorganismes eucaryotes unicellulaires. Elles provoquent la fermentation alcoolique (*Saccharomyces cervisiae),* leur but essentiellement est la production d'éthanol qui sert comme substrat d'élaboration de vinaigre.

Toutefois, les moisissures qui arrivent à se maintenir dans le vinaigre, conduisent en général à une modification de la qualité nutritionnelle et de la qualité organoleptique (LARPENT, 1991).

Le vinaigre subit rarement une analyse microbiologique. L'analyse de la qualité hygiénique se base sur la connaissance de la flore microbienne existante dans le produit alimentaire. De nos jours l'analyse de la flore microbienne reste la meilleure méthode d'appréciation de la qualité d'un aliment (PETRANSXIENE et *al,* 1981).

Cependant, il peut être intéressant d'étudier la nature de la flore active ou éventuellement contaminant. Les contaminants les plus gênants sont des levures et des bactéries oxydant l'acide acétique.

Le vinaigre n'est pas un aliment dangereux au plan sanitaire en raison de son acidité. Il est donc intéressant de déterminer son titre acétique (JOSEPH. PIERRE

Chapitre II
Méthodologie de travail

II- Méthodologie de travail

II.1.- Choix de matériel d'étude

Pour la présente étude notre matériel d'étude se compose de quelques variétés des dattes, car les souches de levures de type saharien existent naturellement sur la datte. Les cultivars de dattes sur lesquels a porté notre choix, sont celles couramment utilisés en vinaigrerie traditionnelle de dattes du Sahara septentrional Est Algérien.

Les variétés de dattes proviennent de 3 zones connues dans la production du vinaigre traditionnel de dattes. Il s'agit de la localité de Touggourt, de Ghardaïa et de Ouargla. Afin de multiplier notre probabilité de rencontre de plus de souches sauvage de levures, dans chaque habitat de récolte 3 cultivars de dattes sont choisis. Ainsi à Touggourt les variétés Degla- Bayda, Hchef-Deglet-Nour et Hamraya sont retenues. Les variétés Deglet-nour, Degla-bayda et Hamraya sont recoltés à Ghardaïa. Pour Ouargla ce sont les variétés Deglet-Nour, Techerweit et Harchaya.

De même sachant que les levures subsistent dans le vinaigre traditionnel de dattes; de chaque localité est récolté du vinaigre traditionnel de dattes. Dans la localité de Touggourt les vinaigres traditionnels échantillonnés sont produits à partir de Degla Bayda, Hchef Deglet Nour et Hamraya. Les vinaigres traditionnels de dattes de Deglet-nour, de Degla bayda et de Hamraya sont récoltés à Ghardaïa. Pour Ouargla, ce sont les vinaigres traditionnels de Deglet Nour, Techerweit et Harchaya.

II.2.- Principe

La présente étude porte essentiellement sur la recherche et l'identification des souches de levures du terroir phoenicicole de quelques zones du Sahara septentrional Est Algérie. Elle concerne l'étude de la faculté de certaines espèces du genre Saccharomyces à dégrader substrats quels que des sucres simples ou les nitrates.

II.3.- Méthode de récolte

Sachant que nous tentons d'isoler des souches locales dans conditions ambiantes, les dattes sont récoltées séparément dans des sachets en papier kraft et entreposées dans les conditions du laboratoire.

Les échantillons de vinaigres sont récupérés dans des flacons en verre stérile de contenance allant de 100 ml. Les flacons sont entreposés à la température ambiante.

II.4.- Méthodes d'analyse

L'analyse microbiologique comporte la recherche des souches de levures locales issues des dattes ou des vinaigres traditionnels récoltés, leur isolement, la purification des souches de type saharien. Il sera question de la conservation des souches isolées et purifiées. Une étude teste va permettre de déterminer le caractère industriel des souches.

A cet effet, pour l'isolement et principalement l'identification des levures de type saharien, dans le cas des vinaigres traditionnels des dattes, à partir de la solution mère, il est procédé la méthode de dilution. Pour les dattes la méthode de d'écouvillonnage de la surface est utilisée pour le prélèvement. Cette méthode consiste à l'utilisation d'un écouvillon de coton hydrophile stérilisé. Avant prélèvement l'extrémité de l'écouvillon est trempée dans une solution stérile d'eau. Le prélèvement est ensuite effectué par frottement sur une surface déterminée. Après avoir balayé la surface délimitée, l'écouvillon est alors trempé et agitée dans un tube contenant 10 ml de milieu de culture. L'analyse sera effectuée à partir de la suspension ainsi réalisée (GUIRAUD, 1998).

Photo 1: Méthode d'écouvillonnage

Il est réalisé des dilutions de 1 ml d'échantillon (suspension mère issue de dattes ou de vinaigre de dattes) est ajouté 9 ml d'eau distillée stérile. Après homogénéisation, la solution mère d'étude à 10^{-1} est prête. Il est procédé une seconde dilution allant jusqu'à 10^{-4}. Pour cela dans 4 tubes à essais stériles contenant chacun 9 ml d'eau distillé stérile nous effectuons des dilutions de 10^{-1} jusqu'à 10^{-4} à partir de la solution mère issue des vinaigres de dattes de même que pour les solutions mères issues des dattes par la méthode d'écouvillonnage de la surface.

II.4.1.- Milieu de culture

La plupart des denrées alimentaires contenant des levures renferment également des bactéries et parfois des moisissures. L'isolement des levures en vue de leur identification ou de leur numération peut donc demander l'emploi de milieu sélectif doté de propriétés antibactériennes et si possible antifongiques. Les milieux à base d'extrait de levure ou de malt sont utilisés.

Les milieux gélosé sont principalement milieu à oxytetracycline (OGA), milieu à moût de bière gélosé et moût de raisin gélosé (GUIRAUD, 1998).

La technique d'isolement consiste à prélever 0,2 ml de solution mère et 0,1 ml des dilutions l'aide d'une pipette pasteur pour ensemencer un milieu OGA coulé dans une boite de Pétri. Les boites sont incubées à 25 °C, pendant 48 heures (Fig. 1).

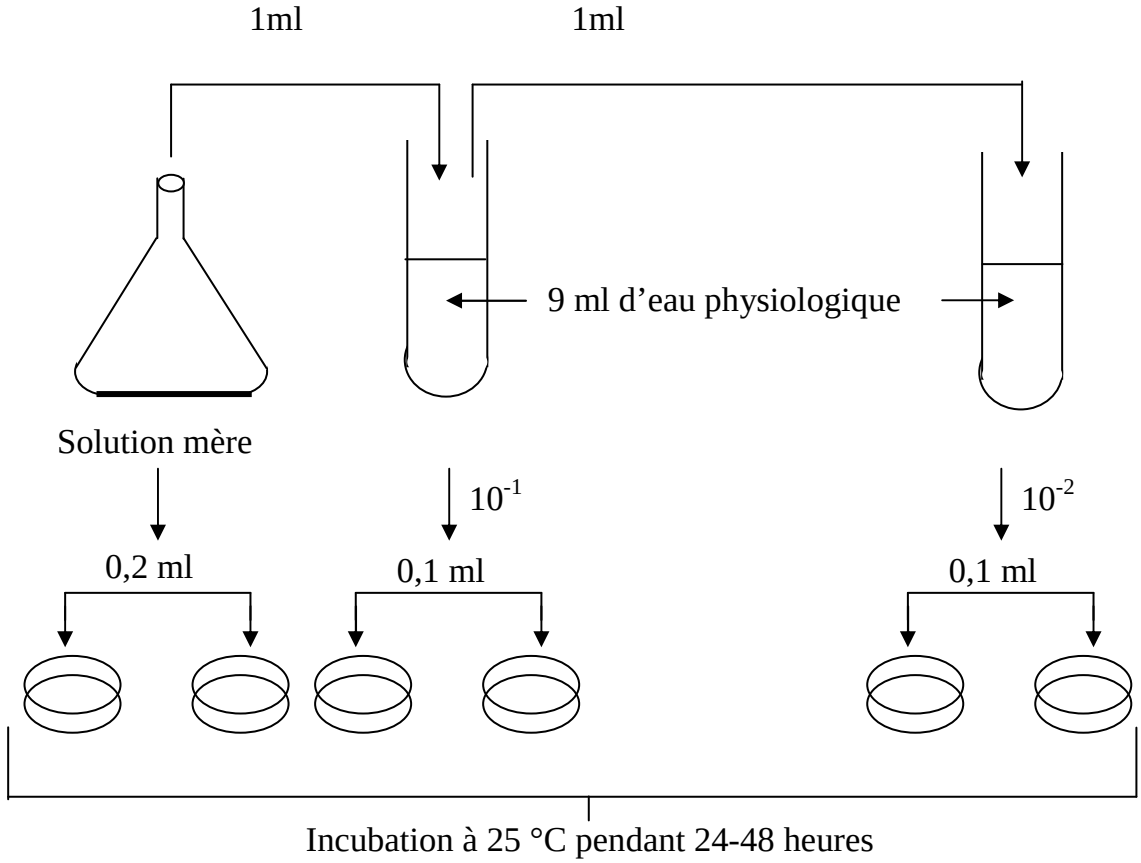


Figure 1- Technique d'ensemencement sur milieu OGA à partir de solution mère et des dilutions jusqu'à 10^{-4}

II.4.2.- Purification des souches de levure

Pour assurer la purification des souches, fait appel à des isolements successifs sur milieu OGA. Les colonies issues des derniers isolements sont ensemencées sur tube à gélose incliné. La vérification de la pureté de la souche s'effectue par plusieurs repiquages sur tube incliné en milieu solide.

Après l'incubation, l'observation des caractères culturaux permet de désigner la pureté des souches. L'examen microscopique est réalisé à partir des colonies suspectes isolées sur milieu de culture précédent (Fig. 2).

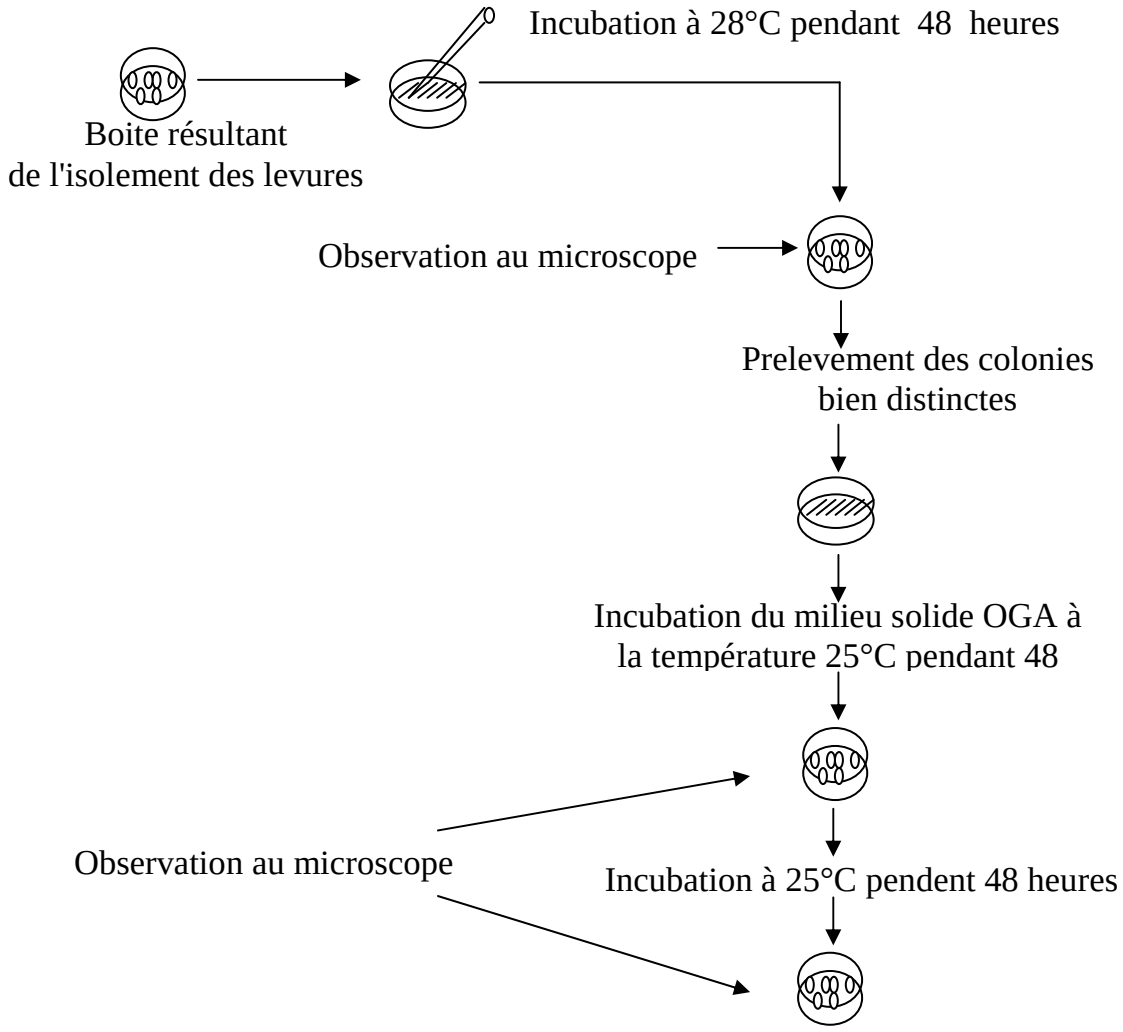


Figure 2- Différents étapes de purification des levures

II.4.3.- Identification des souches des levures

L'identification ne peut être effectuée que sur une souche en culture pure préalablement isolée sur un milieu gélosé pour levure. Les critères d'identification des levures peuvent être répartis en 4 groupes :

- Caractéristiques culturales,
- Caractéristiques morphologiques des cellules végétatives,
- Caractéristiques sexuelles,
- Caractéristiques physiologiques (BOURGEOIS, LEVEAU, 1980).

II.4.3.1.- Caractéristiques culturales

Il s'agit d'examiner l'aspect des cultures en milieu liquide et sur milieu solide, après incubation à 28 °C après 3 jours ou plus. Les caractéristiques des cultures sont notées. Elles font appel à la taille, la forme et la pigmentation des colonies de levures (BOURGEOIS, LEVEAU, 1980).

II.4.3.2.- Caractéristiques morphologiques des cellules végétatives

Les caractéristiques morphologiques des cellules végétatives sont étudiées d'après des préparations microscopiques effectuées entre lame et lamelle à partir de cultures en milieu liquide et en milieu solide (BOURGEOIS, LEVEAU, 1980). L'examen à lieu à partir du milieu liquide ou du milieu solide à partir zones au moins. Pour l'observation microscopique utilisée des préparations à l'état frais au grossissement x10 puis x40 (JOSEPH- PIERRE et GUIROD, 1998). L'étude microscopique permet de défini:

- La forme soit sphérique, ovoïde, allongée ou la taille des cellules en milieu liquide et sur milieu solide;
-Le mode de reproduction végétative par scissiparité ou bourgeonnement et dans le cas le nombre et la position (polaire, latérale) du (ou des) bourgeon (s) sur la cellule mère (BOURGEOIS, LEVEAU, 1980).

II.4.3.3.- Caractéristiques physiologiques

II.4.3.3.1.- Fermentation des sucres (Technique de Guerra)

Les sucres à étudier concernent le glucose, le saccharose, le lactose, le maltose et

galactose. Cette étude nécessite la présence d'un témoin. Reparti le milieu d'enrichissement pour le développement des levures (voir annexe) dans des tubes à essai. Pour chaque boite de Pétri d'isolement de culture pure, 6 tubes à essai remplis sur une hauteur de 5 cm environ sont utilisés. Les sucres testés sont le glucose, le saccharose, le lactose, le maltose et le galactose, le 6ème sert de tube témoin. Ajouter par tube 5 gouttes d'une solution stérile à 30% de l'un des 5 sucres à étudier plus le tube témoin qui sera sans sucre. Il faut ensemencer en profondeur chaque souche de levure sur une gamme de cinq tubes plus un témoin. Ajouter à la surface du liquide de chaque tube quelques gouttes de paraffine molle fondue et stérile qui, en se refroidissant, former un bouchon. Il faut incuber les tubes à l'étuve à 25°C. Après 24 heures au moins constater les résultats. Le test d'un résultat positif se manifeste le soulèvement plus ou moins du bouchon de paraffine, suivant le pouvoir fermentaire de la souche étudiée (GUIRARD, ROUGIEUX, 1958).

II.4.3.3.2.- Assimilation des composées carbonées (méthode d'auxanographique)

La méthode auxanographique a été mise au point par BEI-JERINCK pour l'étude de la consommation de différents métabolites par des microorganismes en cultivant ceux-ci sur un milieu nutritif synthétique solide auquel est ajouté, par endroit le produit à essayer. Dans le cas de l'étude de l'assimilation des composés carbonés, est utilisé pour le milieu minéral synthétique gélosé qui ne contient pas d'aliments carbonés. Verser dans une boîte de Pétri stérile, 2 ml de suspension de levure dans de l'eau de levure puis couler un tube à essais de milieu minéral synthétique fondu et ramener à 40 °C, mélanger. Porter la boîte à l'étuve à 25 °C jusqu'à ce que la surface de milieu soit sèche.

Déposer en différents points les composés carbonés à tester: glucose, saccharose, lactose, maltose, galactose.

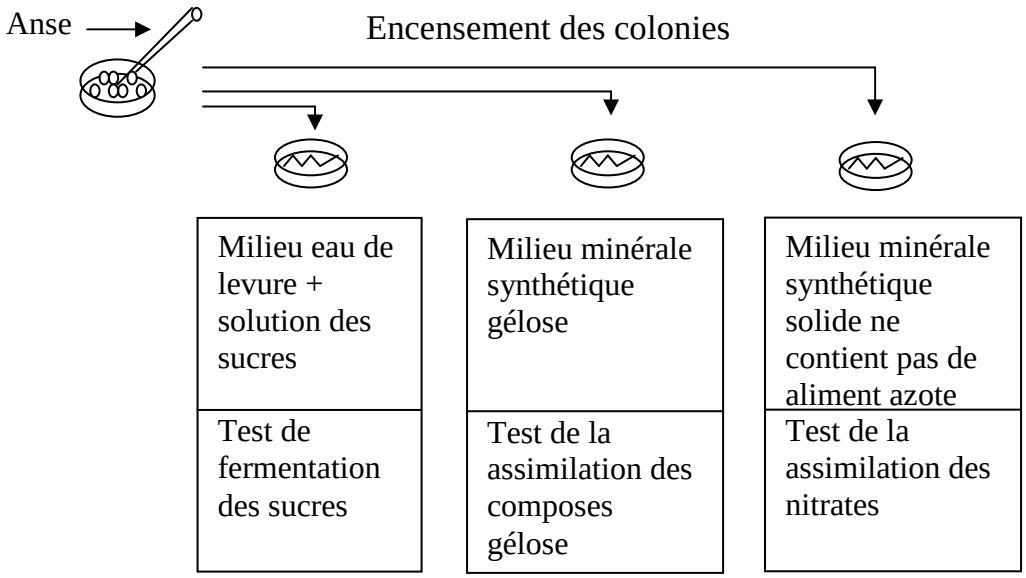
Mettre les boites munies de leur couvercle à incuber à 25°C, examiner après 24 à 46 heurs. Autour des dépôts du composé à tester (glucose, saccharose, lactose, maltose, galactose). Il y a développement de colonies de levures, si le test est positif (GIRARD, ROUGIEUX, 1958).

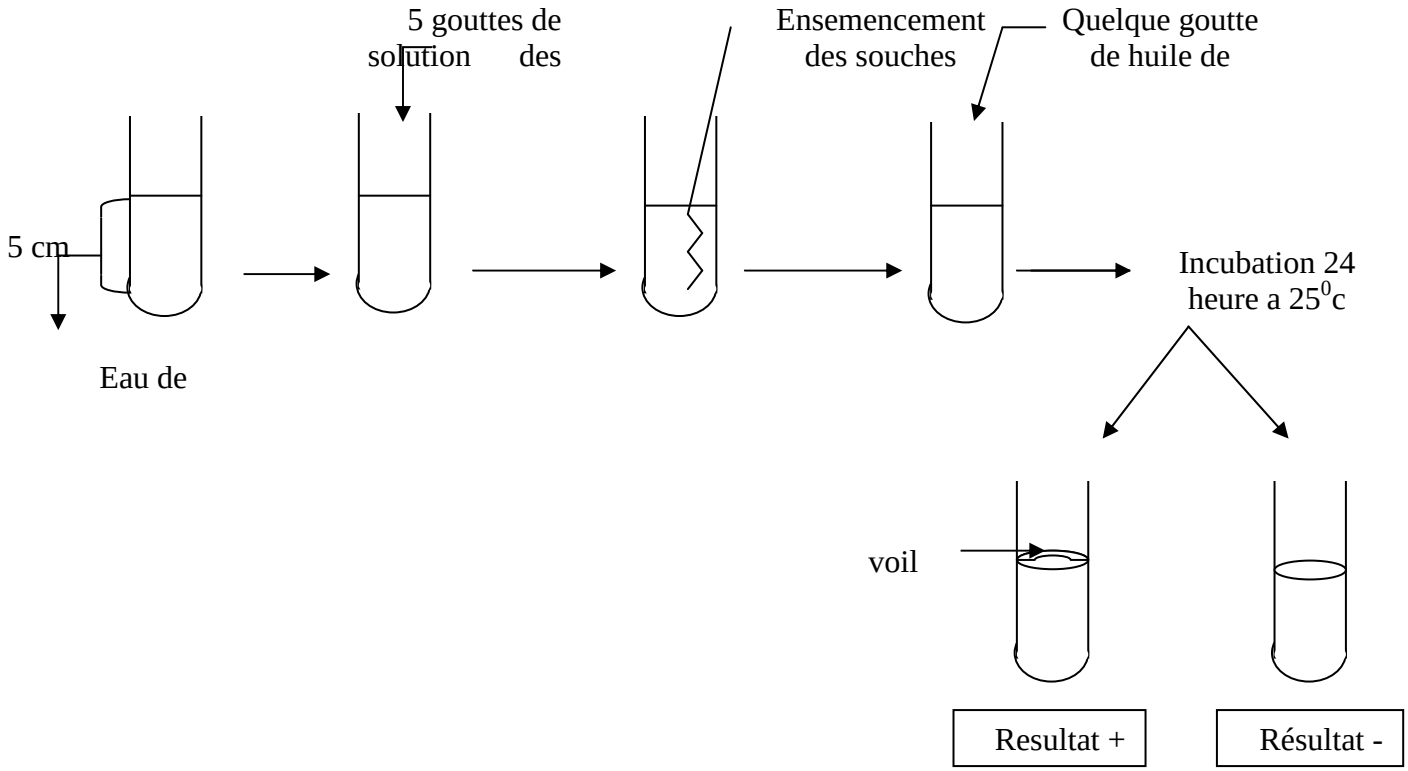
II.4.3.3.3.- Assimilation des composés azotée (nitrates)

La méthode est similaire à la méthode d'auxanographique seulement le milieu minéral synthétique solide de composition suivante, ne contient pas d'aliment azoté.

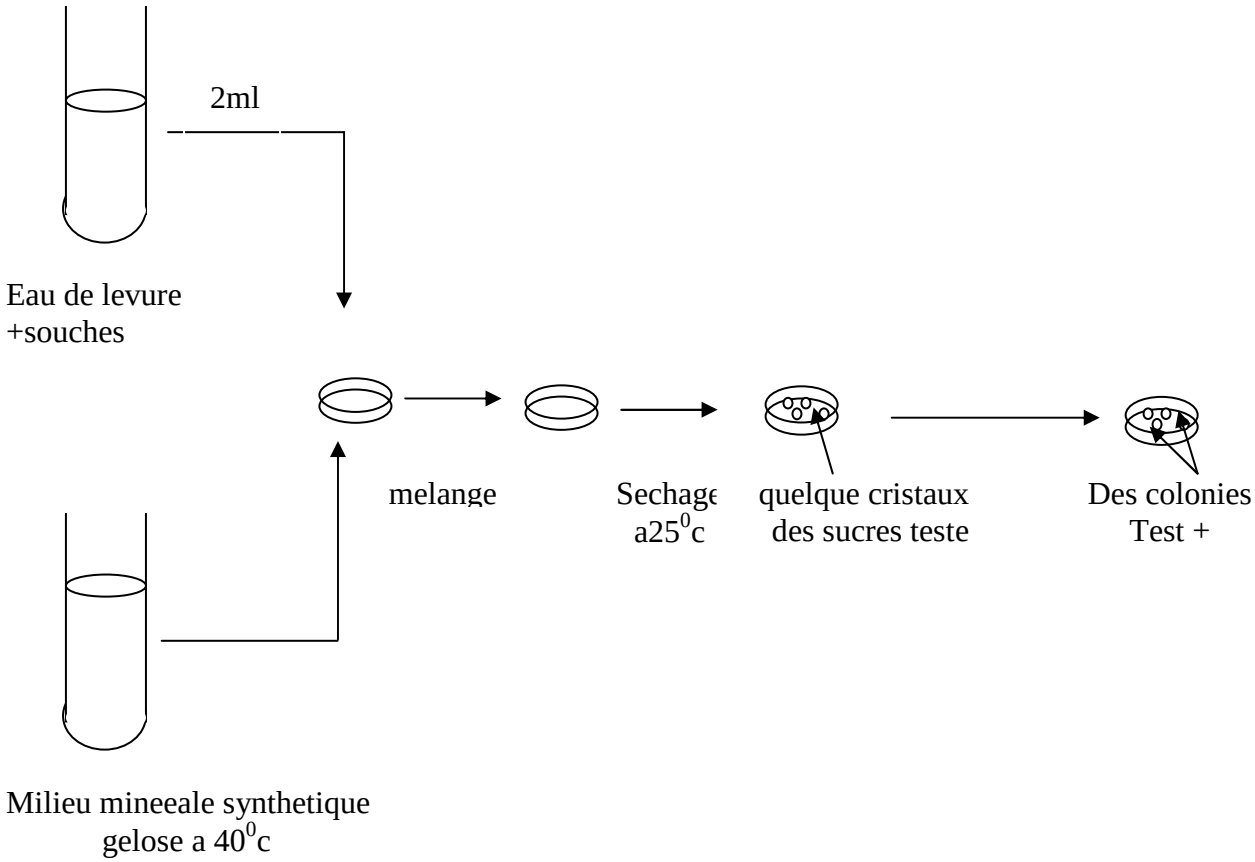
Après, ensemencement de la boite de Pétri par 1 ml de suspension de levure et solidification, il est déposé en différents points et séparément des traces de nitrate de potassium ou de sodium et de sulfate d'ammonium.

Après 1 ou 2 jours apparaît le développement plus ou moins intense des colonies de levure autour des dépôts de nitrate. Le développement est à celui du produit autour des dépôts de sulfate d'ammonium (GIRARD, ROUIGIEOX, 1958) (Fig. 3).

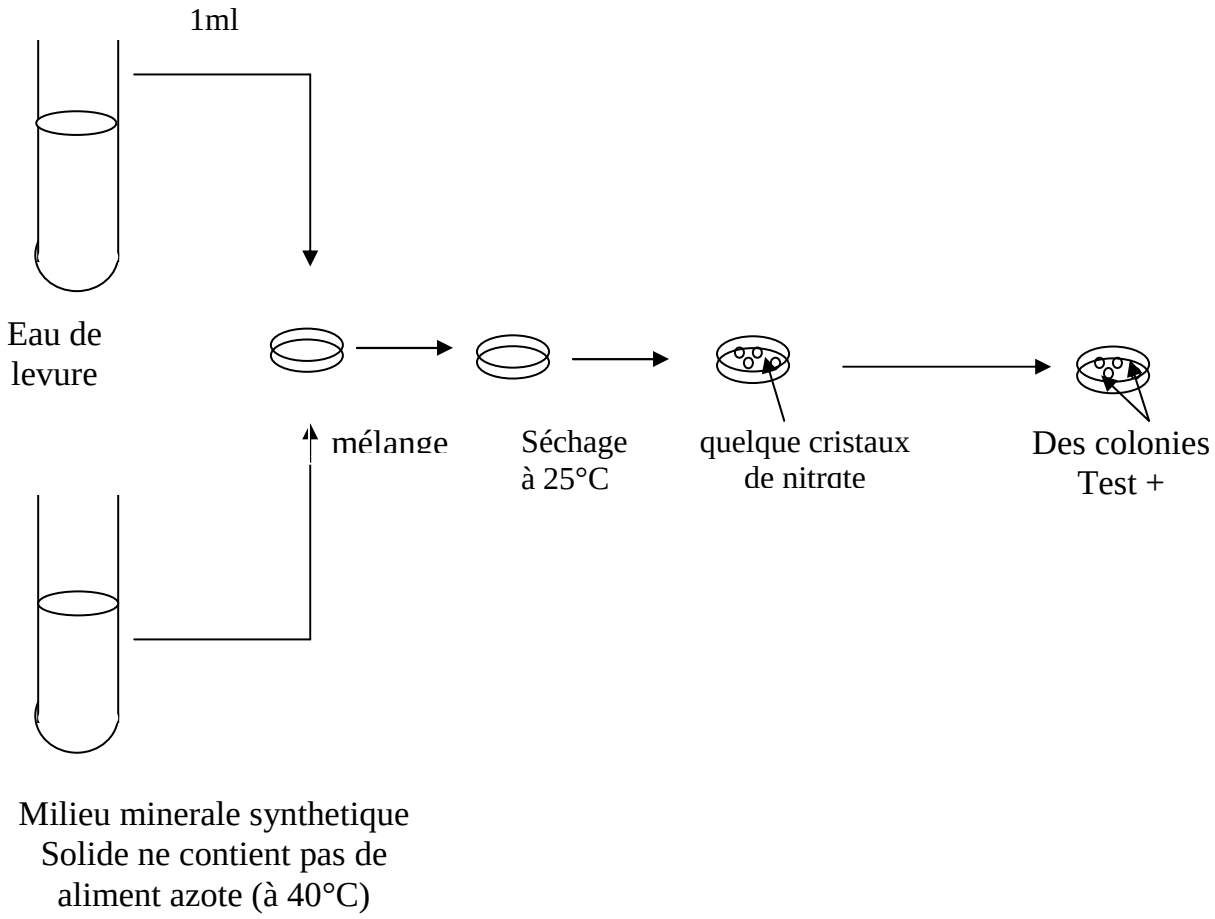




a- Test de fermentation des sucres



b- Test dela assimilation des sucres



c - Test dela assimilation d'azote

Fig 3 (a,b,c) : Identification des levures isolées

CHAPITRE III
Résultats et Discussion

II- Résultat et discussion

Au vu des résultats regroupés dans le tableau 3 suite à la lecture des différentes boites ensemencées sur milieu OGA à l'oxytétracycline pour favoriser le développement des levures en inhibant celle des bactéries, il apparaît deux types colonies de souche de levures suivant la taille. Les colonies du type 1 sont de petite taille contrairement à celles du type 2 qui sont de grandes tailles.

Il est à noté que les colonies issues du types 1 sont lisses. Elles présentent une coloration de couleur crème brunâtre. Celles du type 2 sont de forme rugueuse ayant une coloration jaunâtre. Ces différentes caractéristiques de la morphologie des levures est remarquable pour les différentes dilutions des levures. Pour GUIRAUD et GALZI (1980), les propriétés morphologiques des colonies varient avec les espèces de levures, mais aussi peuvent intervenir les conditions de culture (température, pH, milieu....). De même pour LECLERC et *al*. (1983) Les colonies rugueuses sont formées par les levures ayant séjournées longtemps dans les milieux de culture ou isolées après plusieurs passages en cultures ou par les levures traditionnelles domiciliaires des ateliers de fermentation.

Tableau 3- Caractéristiques des colonies des différents échantillons ensemencés

Dilution	Type de colonies	
	Type 1	Type 2
10^{0}	Colonie de petite taille, lisse de couleur crème brunâtre	Colonie de grande taille, rugueuse, de couleur jaunâtre
10^{-1}	Colonie de petite taille, lisse de couleur crème brunâtre	Colonie de grande taille, rugueuse, de couleur jaunâtre
10^{-2}	Colonie de petite taille, lisse de couleur crème brunâtre	Colonie de grande taille, rugueuse, de couleur jaunâtre
10^{-3}	Colonie de petite taille, lisse de couleur crème brunâtre	Colonie de grande taille, rugueuse, de couleur jaunâtre
10^{-4}	Colonie de petite taille, lisse de couleur crème brunâtre	Colonie de grande taille, rugueuse, de couleur jaunâtre

L'examen microscopique des souches de levures prélevées des différentes colonies, au grossissement 10x10, laisse apparaître des levures de forme ronde ou ovoïde.

Elles se groupent en amas, mais aussi en chaînette ou en paires sous forme de bourgeonnement. Il semble en reproduction végétative d'où une multiplication intense. De même les levures se montrent sous formes isolées comme le montre les photos : 1, 2 et 3.

Les résultats du tableau 4 relatifs à l'isolement des levures, confirment les différentes formes rencontrées après observation microscopiques. Certaines souches de levures des échantillons analysés, laissent apparaître des colonies de petites tailles condensées après une incubation sur boites de Pétri pendant 48 heures à 25°C. Cela dû certainement à la dilution, mais aussi au temps d'incubation.

Tableau 4 – Caractéristiques et aspect au microscope des levures
Issues des différents échantillons

Zone	Produit	Aspect des colonies	Mode de groupement	Couleur des colonies	mobilité
Touggourt	Vinaigre de Hamraya	rond	Amas, Chaînette Paires	Crème Brunâtre Lisse	Immobile
	Vinaigre de Degla Beyda	rond	Amas Chaînette Paires	Crème Brunâtre Lisse	Immobile
	Vinaigre de Hchef Deglet Nour	Rond	Amas Chaînette Paires	Crème Brunâtre Lisse	Immobile
Ghardaïa	Vinaigre de Deglet Nour	Rond	Amas Chaînette Paires	Crème Brunâtre Lisse	Immobile
	Vinaigre de Degla Beyda	Rond	Amas Chaînette Paires	Crème Brunâtre Lisse	Immobile
	Vinaigre de Hamraya	Rond	Amas Chaînette Paires	Crème Brunâtre Lisse	Immobile
	Vinaigre de Degla Beyda	Rond	Amas Chaînette Paires	Crème Brunâtre Lisse	Immobile

	Vinaigre de Techerwiet	ovoïde	Amas Chaînette Paires	Jaunâtre-Rugueuse	Immobile
	Vinaigre de Harchaya	ovoïde	Amas Chaînette Paires	Jaunâtre Rugueuse	Immobile

Les résultats du tableau 4, montre que tous les échantillons de vinaigre de dattes en provenance des différentes localités du Sahara Septentrional Est, présentent des aspectes des colonies de levures plus ou moins uniformes. La couleur des colonies va de crème brunâtre à jaunâtre. La forme de colonies est de même ronde à ovoïde aux contours (photo ???).

Au Sahara la température subsiste un facteur pour le développement des levures.
La plupart des levures ne sont actives qu'entre 15°C et 35 °C. Certaines recherchent des températures élevées se situant entre 40° et 45 °C., et d'autres à des températures plus basses de 0 °C. ou de 15° à 20 °C. peuvent se développer (FOULONNEAU, 2002). Néanmoins, certaines souches de levures peuvent bien se maintenir dans cette zone aride. Des souches de levures issues de la région de Ouargla se développent parfaitement sur milieu OGA et donnent des colonies apparaissant en deux types (photo 4, 5).

Tableau 5 – Tests d'identification des souches de levure

Genre	Test de fermentation des sucres					Assimilation des nitrites
	Glucose	Saccharose	Lactose	Maltose	galactose	
Saccharomyces	+	+	-	+	+	-

Les sucres sont en premier fermentés par les levures en liquide. Appelée aussi fermentation éthanoïque, la fermentation alcoolique est définie comme une fonction anaérobie générale du monde vivant (BUGNICOURT, 1995). Cependant, le métabolisme des levures et l'activité fermentaire dépendent de la présence ou de l'absence d'O_2 dans le milieu. En aérobiose les levures se multiplient d'autant plus que la quantité d'O_2 disponible est importante, utilisant les sucres pour produire de nouvelles cellules plutôt que de l'alcool. En anaérobiose les levures prolifèrent difficilement en quelques générations de plus en plus dépeuplées qui sont par contre, particulièrement aptes à transformer le sucre en alcool et en CO_2 (FOULONNEAU, 2002). Toutefois, comme tout être vivant, la levure a besoin selon la souche d'éléments organiques et minéraux pour

assurer son métabolisme. Il s'agit plutôt d'éléments minéraux, des substances azotes et de vitamines, d'acides aminées, etc. (FOULONNEAU, 2002; OTENG-GYANG, 1984).

Les testes de fermentescibilité des sucres recherche à différencier les différentes souches du genre de *Saccharomyce*. Les résultats du tableau 5, révèlent que les différents sucres testés dont le glucose, le saccharose, le maltose, le lactose et le galactose, seul le lactose est non fermentescible. Il apparaît que la souche de levure étudiée peut fermenter quatre sucres dont le glucose, le saccharose, le maltose et le galactose. Ces caractéristiques fermentaires indiquent que la souche en présence semble être *Saccharomyces cerevisia.* (tableau 5). De même, cette affirmation se confirme par la formation d'une voile au cours de la dégradation des sucres étudiés (photo 6). Parallèlement, l'étude de la discrimination des espèces du genre Saccharomyces, leur faculté d'assimilation des sucres et celle des nitrates montre que l'espèce étudiée est *Saccharomyces cerevisia*. Car il est à remarquer que cette espèce de levure fait l'assimilation des quatre sucres sauf le lactose, mais n'assimile pas le nitrate de potassium (tableau 6). La photo 7 montre l'aspect des colonies qui n'assimile pas le nitrate de potassium. Pour BOURGEOIS et LARPENT (1996), les procédés de fermentation qui reposent sur l'utilisation des levures ne mettent en jeu que trois espèces : *S. cerecivisiae* (brasserie, vinification, distillerie, panification), *Candida utilis*, *kluyveromyces fragilis* (levures aliment) et plusieurs autres espèces sont rencontrées en vinification.
Toutes les levures sont capables d'utiliser le glucose et le fructose. Concernant, les di-, les tri- ou les polysaccharides, ils ne sont utilisés qu'après hydrolyse à l'extérieur de la membrane plasmique. Chez certaines levures le saccharose, le maltose ou le lactose peuvent être transportés à l'intérieur de la cellule par transport actif impliquant un transporteur et de l'énergie. Le D-glucose, le D-fructose et le D-galactose pénètrent chez *S. cerevisiae* par un transporteur mais sans apport d'énergie. Les sucres simples sont phosphoryles lors de leur entrée dans la cellule (BOURGEOIS et LARAPENT, 1996).

La glycolyse constitue la première grande étape de la fermentation alcoolique des levures (SCRIBAN, 1999). Il faut noter que malgré la différence qui apparaît au niveau des aspects cellulaires à l'observation microscopique et des colonies issues des différents échantillons de variétés de vinaigre, il apparaît que les résultats des tests de fermentation des sucres et de l'assimilation des sucres ou des nitrates sont les même pour tous les vinaigres de dattes étudiés quelle soit leur provenance. Tous les vinaigres traditionnels des différentes variétés de dattes renferment l'espèce *saccharomyces cerevisiae*

Conclusion générale

Conclusion

La contribution à la recherche des différentes souches de levures sur les dattes et dans les vinaigres traditionnels échantillonnés au niveau de trois zones d'étude à travers le Sahara septentrional Est Algérien révèle la présence d'un seul genre représenté par Saccharomyces. La présence de ce genre est noté aussi bien sur les différentes classes biochimiques des dattes investies que dans les différents vinaigres issus du savoir faire local des différentes localités dont Touggourt, Ouargla et Ghardaïa.

Les tests biochimiques ont permis d'identifier la présence de présence de *Saccharomyces cerevisiae.* Cette souche levure se maintient naturellement au Sahara quelles que soit les conditions extrêmes du milieu. Elle se retrouve sur la datte au niveau du palmier mais aussi après la récolte. Elle a été durant des millénaires domptée par les populations de cette zones arides dans l'élaboration de nombreux produits fermenté notamment en bioconversions dans l'élaboration du vinaigre traditionnel de dattes.

La présence d'un seul genre sur les dattes et dans le vinaigre traditionnel confirme l'avantage de faciliter la possibilité de retrouver une souche à caractère industriel parmi les autres souches non identifiées. A cet effet, il est important de mieux connaître le métabolisme, la physiologie et la génétique de Saccharomyces de manière à maîtriser leur utilisation.

De plus en plus de nos jours, la politique industrielle de l'Algérie s'oriente, vers les biotechnologies au vu des avantages offertes par le secteur. Il s'avère indispensable une mise au point ou la recherche de ferments performants.

Parmi les industries agro-alimentaires, les industries de fermentation avec la production d'alcool éthylique rechercher dans les domaines thérapeutiques, et de vinaigre pour dans la cuisine ou comme condiment, gagnent de plus en plus une place de choix.

Références Bibliographiques

Référence Bibliographiques

1. ALOGGAIDI H.K.H.1987.Datesand microbial biotechnology ED.F.A.O.BAGHDAD: 318-319.

2. AMARA S., BENYAMMA Z., 2005. Contribution à l'étude des caractéristiques physico-chimique du vinaigre traditionnel de dattes (variété Hamraya) de la cuvette de ouargla. Mémoire DES, université de Ouargla: 4-5.

3. ARAB H., GUEZZON 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.

4. AZZOUZ A ., DAHBAOUI B.1992.Analyse des glusides par CCM et APLI.Application à l'étude des miels et des dattes Thèse ingenieur.USTHB ,ALGER.143-144.

5. BELLIN J .M. 1972. A Study of the budding of Saccharomyces uvarum beijerink withe scanning electron microscoping Antoine van Leeuwenhoek ,J.microbiol.341-349.

6. BENALLAOUA S ., BELLAL M .,1995. L'enveloppe des levures .office des publications universitaire Alger: 1-60

7. BENHAFID H .,1990.Contribution à l'analyse des problémes technico-administratifs de l'office national des dattes .Mimoire technicien Supérieur .iTAS.

8. BLEVEAN Y ., BOUIX .,1986 .Rôle des microorganismes dans la éleveur des aliments les boissons fermenté (bière) vin, cidre, arra, a cdiupa séries synthèse bibliographiques numéros15

9. BOUABDLLAH A .1990. Principes fondamentaux pour l'amélioration commerciale des dattes en quantité et en qualité, Thèse DIS.ITAS.Ouargla : 58-59.

10. BOULANGER ., POLONOVSKI J ., 1959 .Biochimie générale.Les vitamines. Masson et de éditeurs .PARIS : 186-235.

11. BOURAS H., BOUREGA A., KHINECHE S., 2006. Influence des facteurs physiologiques et nutritionnels sur la production de la biomasse microbienne (levure boulangère). Mémoire, DES, université de Ouargla: 24-25.

12. BOURGEOIS C. M., LARPENT J. P., 1996. Microbiologie alimentaire. Tome II aliment fermenté et fermentations alimentaires. Ed. Technique et Documentation lAVOISIER, APRIA, Paris: 100-450.

13. BOURGEOIS C. M., LARPENT J., P., 1989. Microbiologie alimentaire. Tome II les fermentations alimentaires. Ed. Technique et Documentation. LAVOISIER apria, Paris: 20-24.

14. BOURGEOIS C. M., LEVEAU J. Y., 1980. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires. Volume III, Ed. Technique et Documentation, apria, Paris: 133-170.

15. BOURGEOIS C. M., LEVEAU J. Y., 1992. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires. Volume III, Ed. Technique et Documentation lAVOISIER, APRIA, Paris: 206- 219.

16. BOURGEOIS C.M ., MESLLE J. F ., ZUCCA J ., 1988. Microbiologie alimentaire.Tome I. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire.Ed.Technique et Documentation, LAVOISIER, APRIA, Paris: 161-169.

17. BROWN A .D. 1978.Copactble Solutes and Extreme Water Stress in Eukaric microorganism .adv.Microbiol.physiolo: 17-40.

18. BUGNICOURT .1995 dictionnaires de microbiologie générale ED marketing S-A , lavis: 45-46

19. CACQE ., 2002 .Rencontres technique .Ed laboratoire régional de Constantine:11-17.

20. CHEIKH M ., 1994. Contribution à l'étude de la production à l'alcool et de vinaigre par quatre variétés de dattes communes (Degla-Beidha, Techerwit, Hamraya et assabri) de la cuvette de Ouargla. Thèse, ING, université de Ouargla: 21-26.

21. DEUG .,1999 .Biologie cellulaire .ED. Dunod. Paris: 205-209.

22. DIVIES C .,1989.Le vinaigre Microbiologie alimentaire.Les fermentation alimentaires .ED.Tec et doc .Lavoisier .vol 2 :121-136.

23. ENTAN K .D. FROHLICH .K.U., MECKE D., 1984.Regulation of enzymes and isoenzymes of carbohydrate metabolism in the yeast saccharomyces crevisiae .Biochim-biophys.acta: 181-186.

24. FRANKEL D .G., 1982.Métabolism and Gene Expression. The molecular biology of the yeast Saccaromyces.Edité par J.N Strathern .E.W.Jones et J.R.Broach.cold spring harbor, New York: 1-37.

25. GHOMMIDH C., NAVARRO J.M .,1986.floculation-fermentation In Bioréacteurs. Ed.G.Gowa.S.F.M.

26. GIRARD H., ROUGIEUX R ., 1958.Technique de microbiologie agricole. Ed. Dunod, Paris: 123-125.

27. GIRARD.H ., ROUGIEUX R .,1960. Essais de production des levures de boulangerie et de levures alimentaire avec du jus de dattes C.R.HEB domadaire des séances de l académie d Algérie d agriculture de France 46-47.

28. GIRAUD J .,GALZY.,1980.L'analyse microbiologique dans les industries agro-alimentaires.Les éditions de l'usine nouvelle.paris :70-73.

29. GIRAUD J. P., 1998. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod Paris: 116-486.

30. GUIAUD .2003. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris: 116-486.

31. GUESSOUM S., TALEB AHMED K., 2005. Recherche d'acétobacters à caractères industriels dans le vinaigre traditionnel de dates. Mémoire DES, université de Ouargla: 17-18.

32. GUIRAUD P .,2003., Microbiologie alimentaire.Dunod Paris: 25-40.

33. HAMDOUD I .,1994. Essai de production de levure boulangerie (*Saccharomyces Cerevisiae*) sur les moûts de trois variétés de dattes communes (Assabri, Dégela Beida, Techerwit). These, ING, Université de Ouargla: 3-4.

34. HARDIN G .S.A., KIRSOP B.H .,1979.Regulative Signification of oxygen and other nutrients as fermentation regulation in Saccharomyces cerevisiae.J.Inst.B rew.85-171.

35. HARLEY ., KLEIN .,2003 .Microbiologie 2éme édition Français 983-984.

36. JACQUE KRUH .,1989.Biochimie .Ed.Harman.Paris18-22.

37. KARLOSN P.1971. Bonhomie 2 ^{eme}. ED.DOIN et DEREN Franc 117-200.

38. KIRSOP B. H., 1982.Developpements in Beer fermentation .dans topics in enzyme and fermentation biotechnology Ed par A. Wiseman .Ellis Horwoord limited.chichester.79-131.

39. LAISNE G., BROWN.1972. Compatible solutes and Extreme water stress in eukaryotic Microorganisms .Adv.Microbiol.phusiol:101-242.

40. LARPENT J. P., 1991 Biotechnology des levures. Ed. MASSON, Paris: 335-336.

41. LARPENT J. P., LARPENT M., GOURGAUD.1958.Manuel pratique de microbiologie. Hermaun collection méthodes.Paris : 153-154

42. LARPENT J.P., 1997.MicrobiologieAlimentaire.Techniquesdelaboratoire.Ed. technique et Documentation; LAVOISIER, Paris: 468-470.

43. LECLERC H *al* ., 1983. Microbiologie générale .doin éditeurs paris : 27-36

44. LEVEAU J. Y., BOUIX M., 1979.Biology and actives of yeast .Academic press-New York.

45. MAATALLAH S., 1970.Contribution a la valorisation des dattes algériennes.These Ing.ina elharach: 102-103.

46. MICHEL J .,1974.Conservation des aliments .ED.Doudin.Paris: 22-23.

47. MOSSEL D.A.A., 1977.Microbiology of foods. Occurrence prevention and monitoring of hazards and deterioration .The university of Utrecht, of Utrecht.

48. NIXON RW., CARPENTER B., 1978.Growing dates in United States .united states department of agriculture information bullein prepared by science and education administration: 44-45.

49. PETRANSXIENE D., LAPIDED P., 1981. Quality bactériologique du lait et des produits laitiers analyse et test. 2 éme ED. Paris: 228-229

50. PRESCOTT., HARLEY., KLEIN 2003 .Microbiologie .2 eme edition français:983-984

51. SAWAYA w n., KELIL ., SAFI.,1983 .Sugars ,tamins and Some vitamins contents of date cultivars at the kali land tmar stage first symposium .The date palm held at king Faissal university Ac.Hassa Saoudia tabia.

52. SBIHI A., 1996. Contribution à l'étude de quelques paramètres de la qualité hygiénique et biochimique du vinaigre traditionnel de quelques variétés de dattes de la cuvette de Ouargla. These, King. Université de Ouargla: 7-8.

53. SHUBBAR R., 1981.Sugar extraction from date's formely with regiproject for palm and dates .Research centre in the wear Est. and Word Africa date palm J: 61-78.

54. STEWART G.G., 1974.Advan.APPLI-Microbiol.33-264.

55. ZITA A.., ZITA H., 2006. Évolution qualitative du procédé de fabrication traditionnelle du vinaigre de dattes obtenues à partir de quelques variétés de la région de Ouargla. Mémoire DES, universités de Ouargla: 2-6.

Annexes

Annexe 1

1- Milieu d'isolement :

Milieu Oxytétracycline Glucose Agar (O.G.A)

Composition :

Extrait de levure	5g
Glucose	20 g
Agar	16g
Eau distillée	1000ml

pH= 6,8-7

Stériliser 20mn à 115°

Ajouter au milieu refroidi à 50°c une solution d'Oxytétracycline (terramycine). La concentration en Oxytétracycline doit être de 0 ,10 mg/ml de milieu de culture. Incubation ; 20à 25c° pendant 2 à 5 jours.

2- Milieu d'identification

Milieu eau de levure

Composition :

Extrait de levure	5g
Eau distillée	1000 ml

Ajuster à pH= 7

Stériliser 20mn à 120c°

Milieu minérale synthétique gélosé

Composition :

$SO_4 (NH_4)_2$	0,5 g
PO_4KH_2	0,1g
$SO_4Mg_7H_2O$	0,05 g
Gélose lavée	2 g
Eau distillée	100 ml

Se milieu est stérilisé pendant 15 minutes à 110c°.

Milieu minéral synthétique ne contient pas d'aliment azoté

Composition:

PO_4KHM_2	0,1g
$SO_4Mg_7H_2O$	0,05 g
Glucose	2 g
Gélose	2 g
Eau distillée	100 ml

Solutions stériles de sucre :

- préparé des solutions 30 p. 100 ml dans l'eau distillée. Des sucres suivants : glucose, maltose, galactose, saccharose, lactose.

- Réparation tubes de 17 à raison de 10 ml par tube.

- Boucher au coton.

- Stériliser 15 minutes à 10^5- 10^7c°.

- Solution de saccharose est doublé à l'autoclave.

Eau physiologique :

Composition :

Chlorure de sodium : 8,5g

Eau distillée : 1000ml

Stériliser après mélanger à l'autoclave pendant 15 minutes à 120 c°

Annexe 02

1- Méthode traditionnelle de fabrication de vinaigre de datte la région de Ouargla et Touggourt

- Après le tirage des dattes, on remplit le tiers d'une jarre d'argile les (Zir) d'une capacité d'environ 50 litres et on complète les deux tiers avec de l'eau de robinet. An bouche la jarre par du life du palmier et du gyps (timchemt). On laisse le mélange ainsi obtenu durant 40 jours à la température ambiante Au 41^{éme}. An débouche la jarre à l'aide d'un tami à mailles fines. On filtre le contenu le filtra ainsi obtenu est le vinaigre traditionnel.

Les autres déchets sont séchés et donnés aux betailles, le vinaigre obtenu est distribué dans des bouteilles et prêt a être consommer.

- Ces variétés de dattes couramment utilisées sont : Techerwit , Degla Beidha, Hamraya, Horra, Harchaya et Assabri.

- Ces variétés sont dites communes et une faible valeur marchande. La plupart de temps, elles sont utilisées comme sous produits du palmier dattiers et destinés à l'alimentation de bétail. Toutefois, des recettes traditionnelles mentionnent l'utilisation d quelques additifs : cariande, org, blé, piment, charbon, harmal.

L'orge et le blé sont utilisés pour activer la fermentation. Le cariande ; le harmal et le piment sont des additifs d'aromatisation, ils donnent un bon goût et saveur au vinaigre.

Le charbon est utilisé pour la clarification. Les quantités sont utilisées d'une manière empirique traditionnellement, la couleur rouge du vinaigre est la plus recherchée si an a un vinaigre jaune, en l'expose a le lumière pour qu'il recuit, ceci s'explique par le déclenchement d'un processus biochimique : le brunissement, certains a joutent quelques gouttes d'huile à la bouteille de vinaigre pour bien s'assures 'une bonne conservation.

2- Elaboration du vinaigre traditionnel de Ghardaïa

Après triage et lavage. Des dattes de type" Degla" on prend une mesure de celle-ci, on ajoute deux mesure d'eau robinet. Le tout est mise dans un jarre ou gargoulette, celle- ci est bouchée avec du gypse (Timchemt) ou avec du life de palmier, on abondonne ambiante, d'autre part des vinaigrerie ont l'habitude d'enrichir le milieu de fermentation par addition de sel.

Après quarante jours, en débouche la jarre ou le récipient an procédé à un tamissage, le produit ainsi obtenu est rempli dans les bouteill