

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.**  
**Département de sciences alimentaires.**  
**Filière : Sciences alimentaire.**  
**Spécialité : Sciences alimentaires.**  
**Option : Qualité des produits et sécurité alimentaire.**



*Réf :.....*

Mémoire de fin de cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## **MASTER**

### *Thème*

*Valorisation de la dattes Mech-degla pour la production  
fermentaire d'acide acétique*

Présenté par :

**MENDIL SALIM**  
**SABATI KAMEL**

Soutenu le : 29 Septembre 2021

Devant le jury composé de :

Mme. BOULEKBACHE LILA  
Mme. ADJEROUD NAWEL  
Mr. BOUKHALFA Farid

Professeur  
MCB  
MCA

Présidente.  
Examinatrice.  
Encadreur.

**Année Universitaire : 2020 / 2021**

## *Dédicace*

---

### *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*A vous mes chers parents, à mes grands-parents*

*A toi Mon cher oncle Abbas*

*A mes deux frères karim et Salim, à mes deux sœurs pour qui je souhaite bonheur et réussite.*

*A toute ma grande famille, grands comme petits.*

*A tous mes amis et tous ceux qui me sont chers.*

*kamel.*

---

*Je dédie ce travail*

*A ma chère mère*

*Et à la mémoire de celui que je dois le respect éternel, chère père paix à son âme*

*A mes chères frères et sœurs et à toute la famille **Mendil***

*A Mr **Boukhalfa Farid***

*Je le dédie aussi aux amis qui ont été auprès de moi durant mon parcours*

*A toute personne qui m'a aidé à la réalisation de ce travail **Sadia, cylvia, Mr IDIR***

*Et tout les étudiants de ma promotion.*

***SALIM***

## **Remerciement**

---

### **Remerciement**

*Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir  
Donné force et patience pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous exprimons nos profondes gratitudees à Mr BOUKHALFA Farid  
Pour nous avoir accompagné durant ce projet, et de nous avoir prêté aide, conseils et  
attention.*

*Nos vifs remerciements s'adressent également à Mme .BOULEKBACHE en sa qualité de  
président du jury et à Mme. ADJEROUD en sa qualité d'examinatrice.*

*Toutes nos gratitudees aux équipes de laboratoires de Microbiologie et de Microbiologie  
appliquée.*

*Comme à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation tout au long de ces  
années.*

*Et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

---

## *Liste des abréviations*

---

### *Liste des abréviations*

**ADH** : alcool déshydrogénase .

**ALDH** : aldéhyde déshydrogénase.

**BAA** ; Acetic Acid Bacteria.

**NH<sub>3</sub>** : Ammoniaque.

**BBD**: Box-Behnken Desing. .

**DNS** : Acide 3,5 dinitrosalicylique.

**MSR** : méthodologie de surface de réponse.

**NADP<sup>+</sup>** : Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**PD** : Poudre de Datte.

## *Liste des figures*

---

### *Liste des figures*

Figure N° 1: production d'alcool par <i>s.cerivisiae</i> en fonction de quantité de substrat.....	30
Figure N° 2: production d'alcool par <i>s. cerivisiae</i> en fonction de temps.....	30
Figure N°3: Plan de prédiction réelle de la poudre étudiée.....	32
Figure N°4: Plan de prédiction réelle de l'acide acétique produit.....	38

*Liste des tableaux*

Tableau I: Composition biochimique de la datte.(Estienne, 2002) .....	4
Tableau II: Composition moyenne de la datte en vitamines et en minéraux. ....	4
Tableau III: Protocole expérimental de l'étude de l'effet de la concentration du substrat sur le taux d'alcool produit. ....	20
Tableau IV: Protocole expérimental de l'étude de l'effet de la durée d'incubation sur le taux d'alcool produit. ....	20
Tableau V: niveau des paramètres d'optimisation de production d'alcool.....	22
Tableau VI: Matrice expérimentale de production d'alcool proposé par le plan BBD .....	22
Tableau VII: niveau des paramètres d'optimisation de production d'acide acétique.....	24
Tableau VIII: matrice expérimentale de production d'acide acétique proposé par le plan BBD .....	25
Tableau IX: résultats d'analyse physico-chimiques de la poudre de datte .....	27
Tableau X: Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan BBD. ....	31
Tableau XI: Analyse de la variance du plan Box Behnken étudié. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau XII: Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré. ....	34
Tableau XIII: Conditions critiques et maximales de production d'alcool par <i>S.cerevisiae</i> à partir de la poudre de datte. ....	36
Tableau XIV: Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan BBD. ....	37
Tableau XV: Analyse de la variance du plan Box Behnken étudié.....	39
Tableau XVI : Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.....	39
Tableau XVII: Conditions critiques et maximales de production d'acide acétique. ....	41

# *Sommaire*

## SOMMAIRE

Dédicaces

Remerciement

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Liste des abréviations.

### *Table des matières*

#### *Partie bibliographique*

Introduction .....	1
I. Le palmier dattier et la datte.....	3
I.1.Composition et valeur nutritionnelle de la datte.....	3
I.2.Valorisation des dattes .....	5
I.2.1. Valorisation sous forme de confiture .....	5
I.2.2. Valorisation sous forme de farine .....	6
I.2.3.Valorisation sous forme de sirop .....	6
I.2.4. Valorisation sous forme de vinaigre .....	7
I.2.5.Autres formes de valorisation.....	7
II. Le Vinaigre .....	8
II.1.La fermentation alcoolique .....	8
II.2.La fermentation acétique .....	9

#### *Partie expérimentale*

##### *Matériels et méthodes*

I. Matériel et méthodes.....	12
I.1. Matériels végétal.....	12
I.2Matériels biologique .....	12
I.2.1 Souche de fermentation alcoolique.....	12

## *sommaire*

---

I.2.2. Souche de fermentation acétique .....	13
I.3. Caractérisation physicochimique de la poudre de datte.....	15
I.3.1. Taux d'humidité et de matières sèches .....	15
I.3.2. Taux de cendres .....	15
I.3.3. Potentiel d'hydrogène (pH) .....	16
I.3.4. L'acidité titrable.....	16
I.3.5. Taux des sucres totaux .....	17
I.3.6. Taux des sucres réducteurs.....	17
I.3.7. Teneur en protéines.....	17
I.3.8. Dosage de l'azote total .....	18
I.4. Optimisation des paramètres de production par le plan Box-Behnken.....	19
I.4.1. Optimisation des paramètres de la fermentation alcoolique .....	19
I.4.1.1. Choix des paramètres de la fermentation alcoolique .....	21
I.4.1.2. Application du plan Box -Behenken pour l'optimisation de la fermentation alcoolique.....	21
I.4.1.3. Dosage d'éthanol .....	22
I.4.2. Optimisation des paramètres de la fermentation acétique.....	23
I.4.2.1. Choix des paramètres .....	23
I.4.2.2. Application du plan Box -Behenken pour l'optimisation de la fermentation acétique.....	24
I.4.2.3. Dosage de l'acide acétique .....	25
<b><i>Résultats et discussions.</i></b>	
II. Résultats et discussion .....	26
II.I. Caractérisation des souches utilisées .....	26
II.1.1. Souche de fermentation alcoolique ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) .....	26
II.1.2. Souche de fermentation acétique ( <i>acétobacter sp</i> ) .....	26
II.2. Caractères physico-chimiques de la poudre de datte.....	26

## *sommaire*

---

II.2.1. Taux d'humidité (%).....	27
II.2.2.Taux de Matière sèche .....	27
II.2.3.Teneur en Cendres .....	28
II.2.4.L'Acidité .....	28
II.2.5.Potentiel d'hydrogène (pH).....	28
II.2.6.Teneur en Sucres totaux.....	28
II.2.7.Teneur en Sucres réducteurs .....	29
II.2.8.Teneur en Protéines .....	29
II.2.9.Teneur en Azote .....	29
II.3.Optimisation des paramètres de production d'éthanol .....	30
II.3.1.Essais préliminaires .....	30
II.3.2.Analyse des résultats d'application de Plan d'expérience Box-Behnken.....	31
II.3.3.Validation du model .....	32
II.3.4 Effet des facteurs (coefficients).....	33
II.3.4.Analyse du modèle mathématique.....	35
II.3.5.Paramètres optimaux .....	36
II.4.Optimisation de production d'acide acétique par le Box-Behnken.....	36
II.4.1.Analyse des résultats d'application de Plan d'expérience Box-Behnken.....	36
II.4.2.Validation du model .....	38
II.4.3.Effet des facteurs (coefficients).....	39
II.4.4.Analyse du modèle mathématique.....	40
II.4.5.Paramètres optimaux .....	40
Conclusion.....	42
Références bibliographiques.	
Annexes.	

# *Introduction*

### **Introduction**

Le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L., est parmi les plus anciens arbres cultivés dans les régions sahariennes, où il représente une importance socio-économique qui provient de ses différentes applications (**Al-Shahib et Marshall, 2003**).

L'Algérie est parmi les grands producteurs mondiaux( production mondiale de 5millions tonnes)des dattes, avec une production annuelle de 710 000 tonnes, dont environ 28 % sont représentés par des variétés à faible valeurs marchandes généralement destinée ; à la consommation locale, l'alimentation animale, les industries de conditionnement et de confiserie, extraction du sirop de datte, et surtout une grande partie est jettée dans l'environnement (**Benrima et al., 2019**).

La valorisation ainsi que la bonne gestion, sont un moyen qui permettra non seulement d'éviter la pollution de l'environnement, mais également de diminuer les pertes économiques colossales imposées à cette filiale de l'agriculture saharienne, et pourrait constituer un programme d'avenir pour le développement de cette région, grâce aux procédés biotechnologiques, ainsi, il serait possible de développer une nouvelle génération de produits dont l'impact socio-économique est considérable (**Kacem-Chaouche et al., 2013**), et permet également de créer de nombreuses PME/PMI spécialisées, génératrices de revenus supplémentaires tant pour les agriculteurs que pour les industriels (**Kaidi et Touzi, 2001**).

Devant ce constat et afin de mieux valoriser les dattes de faible valeur marchande ainsi que les sous-produits de la phœniciculture, il est utile de se pencher sur leur transformation par l'acquisition de nouvelles biotechnologies, notamment les procédés fermentaires, qui sont le précurseur de la valorisation pour l'élaboration de nouveaux produits entre autres l'acide acétique ou le vinaigre, en se basant sur l'utilisation des microorganismes tels que *Acetobacter*, *Gluconoacetobacter*, *Gluconobacter* et *Komagataeibacter* (**Boulal et al., 2010 ; Guessan et al., 2020**).

La synthèse microbienne de l'acide acétique s'effectue par deux étapes. La première est une fermentation alcoolique, consiste à transformer les sucres fermentescibles

## *Introduction*

---

en anaérobiose par des levures, dont la plus utilisée est *Saccharomyces cerevisiae* nommée la levure de bière (**Kaidi et Touzi, 2001**). La seconde étape, est une fermentation acétique, transforme par oxydation, en présence des BAA, l'éthanol métabolisé pour donner de l'acide acétique (**Guessan et al., 2020**). Cette synthèse microbienne est influencée par plusieurs facteurs entre autres ; les conditions physico-chimiques des cultures, la nature et la composition du substrat et également les exigences nutritionnelles des souches utilisées.

Dans ce contexte, et afin de réaliser l'objectif tracé ; à savoir la valorisation d'une variété de dattes à faible valeur marchande, nommée *Mech-Degla*, par l'utilisation de procédé fermentaire, la présente étude est divisée en trois parties. La première partie est réservée à la collecte des échantillons de *Mech-Degla*, ainsi qu'à la préparation et à l'étude physico-chimique de la poudre élaborée. La seconde partie, est consacrée à la préparation et à l'étude microbiologique des souches microbiennes utilisées : *Saccharomyces cerevisiae* et *Acetobacter sp.*

La troisième partie, est réservée à la mise en place des essais préliminaires pour la conception des plans d'expériences en utilisant la méthode de surfaces de réponses, afin d'optimiser les paramètres influençant la production d'alcool et d'acide acétique.

Le document est fractionné en deux parties, dont la première est une étude bibliographique dans laquelle des généralités sur le palmier dattier, la composition de la datte, ainsi que la production d'alcool et de l'acide acétique sont traités. La deuxième partie, réservée à l'étude expérimentale, est scindée en matériel et méthodes où les différentes procédures expérimentales sont décrites, et en résultats et discussion. Le manuscrit est finalisé par une conclusion générale et des perspectives.

# *Partie bibliographiques*

## **I. Le palmier dattier et la datte**

Depuis des millénaires, les populations des régions arides et sahariennes du Nord africain et du Moyen-Orient cultivent le Palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. (Zohary et Hopf, 2000). Cet arbres fruitiers, est l'espèce type du genre *Phoenix* de la famille des Arecaceae (Palmaceae) (Krueger, 2021). Il a été considéré comme la principale source de revenus et l'aliment de base des habitants locales de nombreux pays, où il joue un rôle important dans leurs environnements, et surtout leurs économies (Chao et Krueger, 2007; Munier, 1981).

Plusieurs nouvelles zones de culture et de production de dattes sont apparues ; en Afrique du sud, en Australie, en Inde, Pakistan, au Mexique, en Amérique du Sud et aux États-Unis (Chao et Krueger, 2007).

En Algérie, il est réparti dans des oasis distribuées dans le sud du pays, où sa culture s'étend de la frontière marocaine à l'ouest jusqu'à les frontière libyenne à l'est, et du Saharan Atlas Nortel au nord à Reggane (sud-ouest), Tamanrasset (Centre) et Djanet (sud-est) (Al-Khayri *et al.*, 2015). Les principales zones du palmier dattier sont : la Saoura, le Touat, le Gourara, le Tidikelt, el -Ménia , el-Mzab, Zibans (Biskra), Oued Righ, Oued-Souf (El Oued), Ouargla (cultivar Deglet Noor), el Ksour, Ouled Naïl, et Aurès (une chaîne d'oasis) (Bouguedoura *et al.*, 2015).

Le fruit du palmier dattier, appelé la datte, est une Baie ovale à chair épaisse recouverte d'une fine pellicule. Il ne contient qu'un seul grain (le noyau), très dur, de taille variante. La datte, pèse entre 10 et 20 grammes, possède une forme, une consistance, un goût et une couleur qui varient considérablement selon le cultivar, ainsi que la zone et le stade de maturité (Benchelah et Maka, 2008). Généralement, la taille de ce fruit varie de 2 à 8 cm, avec des couleurs allant du blanc jaunâtre au rouge ou noir, ambre plus ou moins foncé. (Djerbi, 1994 ; Episard, 2002).

### **I.1.Composition et valeur nutritionnelle de la datte**

La datte présente une composition nutritive diversifiée (Tableau I). C'est une bonne source de glucides, principalement les sucres réducteurs (glucose, fructose) et de sucres non-réducteurs (saccharose). Ce fruit présente une faible teneur en lipides et en protéines (2,5%), et une concentration élevée en fibres alimentaires (7 à 8 %), vitamines et minéraux (Tableaux I et II).

**Tableau I:** Composition biochimique de la datte.(Estienne, 2002)

Composition	Deglet Nour	Ghars	Mech-degla
Humidité	20-25%	30,5%	11,0%
Glucides	72 %	-	69%
Pectines	-	0,3%	0,5%
Tanins	-	0,2%	0,5%
Fibres	3,5-7,3%	15,1%	15,0%
Protéines	1,5-2,0%	1,8%	1,5%
Lipides	0,2-0,6%	0,2%	0,2-0,4%
Minéraux	1,2-1,9%	1,7%	1,9%
Ph	5,5	5,1	4,8

La datte est très riche en vitamines et minéraux ,les teneurs sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau II:** Composition moyenne de la datte en vitamines et en minéraux.

(Al-Shahib et Marshall, 2003).

Teneurs (mg/100g de datte)	
<b>Vitamines</b>	<b>Minéraux</b>
<b>Vitamine C : 2,4 à 17,5</b>	Calcium : 207
<b>Vit B1 (thiamine) : 0,08 à 0,13</b>	Phosphore : 63
<b>Vit B2 (riboflavine):0,13 à 0,17</b>	Fluor : 0,2
<b>Vitamine A : 0,001</b>	Fer : 0,3 à 10,4
<b>Acide folique : 0,004 à 0,007</b>	Magnésium : 47 à 82
<b>Acide nicotinique (niacine): 0,002</b>	Manganèse:0,3 à 5,9
	Sodium : 287
	Potassium : 916
	Zinc : 1,8
	Sélénium : 0,3

### **I.2. Valorisation des dattes**

Environ, un tiers de la production de secteur dattier est constituée de dattes de faible valeur marchande, qui sont vendues à des prix très bas ou orientées vers l'alimentation animale et par conséquent, elle ne contribue que faiblement au revenu des agriculteurs. Ainsi, il a été procédé à la mise au point de technologies simples pour la transformation de ces dattes : en confiture, en farine, en sirop et en gelée et la production d'alcool à partir des sous-produits issus de la fabrication du sirop.

#### **I.2.1. Valorisation sous forme de confiture**

Cette valorisation est réalisée, sur les lieux de production de ces dattes, par la création d'unités de transformation (coopératives).

La confiture est obtenue par cuisson de la purée des dattes avec le sucre. La purée étant préparée préalablement suite à un trempage des dattes dans l'eau et une séparation des noyaux dans un broyeur séparateur. Le but à atteindre dans toute formule de fabrication est d'obtenir une teneur en sucre de 50 à 52 % (sucre ajouté et sucre apporté par le fruit) dans la confiture ce qui correspond à un extrait sec soluble (Brix°) de 60 à 62%. Avec cette concentration, la conservation normale du produit est garantie, et une certaine rigidité est assurée par la prise en gelée de la confiture au cours du refroidissement, et surtout le respect des normes exigées pour la confiture (**Harrak et Chetto, 2001**).

A la fin de la cuisson, une solution de pectine est ajoutée, pour obtenir une meilleure gélification. La quantité à ajouter dépend du degré de la pectine : pour une pectine sous forme de poudre, cette quantité est d'environ 0,20 kg par 100 kg de confiture dosant 62 % de sucre.

Etant donné que l'acidité des dattes est insuffisante, il est nécessaire d'ajouter l'acide tartrique ou l'acide citrique dans le but d'obtenir un pH d'environ 3 qui est nécessaire à la gélification et à l'inversion du saccharose (de 40 à 50 %) de façon à éviter la cristallisation. L'acide organique et la pectine sont ajoutés également sous forme de solution à la fin de l'opération de cuisson. L'acide est ajouté dans les proportions de 1 à 2 grammes par kilogramme de confiture.

Après la cuisson, la confiture ainsi préparée est mise dans des bocaux, qui doivent être remplis rapidement et à chaud pour assurer la conservation du produit et la stérilisation des bocaux (**Harrak et Chetto, 2001**).

Ainsi, la transformation des dattes de faible qualité peut constituer une source importante d'amélioration des revenus des agriculteurs. Par cette transformation, en tenant compte des différents intrants (matière première, gélifiant, acidifiant, emballage, énergie, etc...), le prix de vente d'un kilogramme de datte se trouve tripler (**Estanove, 1990**).

Les essais menés, sur l'aptitude des dattes à cette transformation, ont montré que :

- Ce sont les dattes molles et demi-molles qui conviennent à cette transformation ;
- De point de vue qualité organoleptique, un mélange de variétés de dattes donne les meilleurs produits (confitures) ;
- Les variétés fibreuses sont moins rentables pour ce type de transformation.

### **I.2.2. Valorisation sous forme de farine**

Pour la farine des dattes, ce sont les variétés dures qui peuvent être orientées vers cette transformation. Ainsi, ces dattes, après dénoyautage, sont séchées jusqu'à une humidité bien définie. Après broyage, le produit de la mouture est bluté et sassy pour séparer la farine et la semoule. Ces deux produits peuvent être utilisés dans la préparation des farines lactées, des soupes et les yaourts (**Ait Aneur, 2001**).

En effet, L'addition des poudres de dattes dans le yaourt en tant que substituant du sucre cristallisé, a permis d'obtenir des yaourts enrichis en minéraux, en protéines, en matière grasse et en solides totaux (**Chibane, 2008**).

Ces farines sont également utilisées pour la préparation de pâte de datte utilisée en biscuiterie et en pâtisserie pour le fourrage des gâteaux, pour la confection des glaces, sorbets, crèmes, etc.

Cette pâte peut être consommée pure ou mélangée avec divers produits pour constituer des friandises: fruits confits, écorces d'agrumes, cacao, amandes, noix. Aromatisée à la vanille, la cannelle, au gingembre ou des aliments de grande valeur énergétique en mélange avec des tourteaux de sésame, d'arachides, des levures alimentaires, de la poudre de lait, avec adjonction de calcium assimilable et de vitamines (**Munier, 1973**).

Donc, la pâte de datte est convenable comme matière de remplissage et remplace aussi bien le sucre dans de nombreuses formulations alimentaires (**Alhamdan et Hassan, 1999**).

### **I.2.3. Valorisation sous forme de sirop**

Concernant le sirop, les variétés molles sont préférées pour ce type de transformation. Après nettoyage et dénoyautage, les dattes sont placées dans un volume bien déterminé d'eau chauffée. Les pulpes juteuses sont ensuite soumises à une pression, et

le sirop obtenu à une concentration en sucre de 30 à 35° Brix, dont sa viscosité est identique à celle des miels d'abeilles. Ce sirop est très demandé par les industries agro alimentaire et pharmaceutique (**Episard, 2002**).

Le sirop de dattes constitue une matière première de choix pour l'industrie laitière comme produit sucrant et aromatisant naturel des dérivés du lait (lait fermentés, yaourts, etc.), à la préparation des boissons énergétiques. Il est utilisé également dans le secteur de la biscuiterie, de la viennoiserie, etc. Ce produit est aussi destiné à des utilisations directes dans l'alimentation quotidienne comme produit sucrant des jus, thé, etc...(**Hararak et Chetto, 2001**).

#### **I.2.4. Valorisation sous forme de vinaigre**

La technique d'élaboration du vinaigre traditionnel est basée sur une double fermentation combinée en anaérobie et en aérobie (**Ould El Hadj et al., 2001**). Il est produit à partir du jus et/ou la pâte de dattes par une double fermentation alcoolique puis acétique par *Saccharomyces uvarum* ou *Saccharomyces cerevisiae*, suivi d'une acétification par *Acetobacter aceti*, selon la réaction suivante :



La double fermentation spontanée des dattes trempées dans l'eau permet la production d'un vinaigre traditionnel très apprécié au sud Algérien (**Boukhiar, 2009**). Cette bioconversion utilise des levures et des bactéries acétiques présentes naturellement dans la datte. 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 moment, bien que les exigences des organismes unicellulaires mis en jeu diffèrent en matière d'oxygène (**Ould el hadj et al., 2001**).

#### **I.2.5. Autres formes de valorisation**

D'après plusieurs travaux de recherches, les déchets agricoles lignocellulosiques (substances organiques et inorganiques) sont considérés comme une bonne source de

production du charbon actif. Ces déchets contiennent des valeurs élevées en charbon (**Banat *et al.*, 2003; Haimour et Emeish, 2006**).

Actuellement la poudre des noyaux de dattes est utilisée pour l'environnement comme agent de détoxification et de dépollution des eaux polluées par des substances toxiques (**Alhamed et Bamufleh, 2009**). Le charbon actif des noyaux de dattes, possède une capacité d'absorption élevée du chrome (Cr) (**El Nemr *et al.*, 2008**).

## **II. Le Vinaigre**

Le mot vinaigre vient du français qui signifie vin aigre.. La composition et les propriétés du vinaigre dépendent étroitement de la matière première et de la méthode de fermentation utilisée (**Johnston et Gaas, 2006**). L'acide acétique est le composé caractéristique du vinaigre, responsable de ses propriétés organoleptiques (saveur acidulée et de l'odeur piquante et mordante). Les autres composés qui peuvent être des critères de différenciation tel que les vitamines, des sels minéraux, des acides aminés, des composés phénoliques (l'acide gallique, la catéchine, l'acide caféique, l'acide férulique), des acides organiques non volatils (l'acide tartrique, l'acide citrique, l'acide malique et l'acide lactique) et les mélanoidines qui parcourent la coloration brune (**Morales *et al.*, 2002; Natera *et al.*, 2003**). C'est un produit issu d'une double fermentation des hydrates de carbone, à savoir la fermentation alcoolique et la fermentation acétique.

### **II.1. La fermentation alcoolique**

Ce processus biologique convertit les sucres, par l'intervention des micro-organismes, pour produire de l'éthanol et du CO<sub>2</sub>. C'est la conversion biologique du jus de fruit ou de toute solution sucrée en vin par des phénomènes physiques, biochimiques et biologiques complexes (**Canilha *et al.*, 2012**).

Durant cette fermentation alcoolique les micro-organismes, principalement les levures, produisent des enzymes catalyseurs de réaction d'hydrolyse des sucres (glucose et fructose) en éthanol et en dioxyde de carbone (**Lin et Tanaka, 2006 ; Nancy, 2008**), dont environ 30 à 35% des glucides (source de carbone) sont convertis pour produire de la biomasse cellulaire et 50% sont convertis en éthanol. Le reste du sucre est utilisé pour produire de l'énergie et maintenir les cellules (**Shafaghat *et al.*, 2010**).

Les levures utilisent l'hexose comme substrat afin de produire l'éthanol avec un

rendement qui peut atteindre 90 à 93%. La fermentation du glucose ou du mannose par la voie métabolique qui est la glycolyse (ou voie Embden-Meyerhof-Parnas), dont une mole de glucose ou de mannose permet d'obtenir deux moles de pyruvate et deux moles de 5'-adénosine triphosphate (ATP). Ce pyruvate est ensuite réduit en éthanol et glycérol

Le métabolisme utilisant le galactose est différent car il doit d'abord être converti en 6-phosphate glucose par une autre voie métabolique (voie Leloir), Par conséquent, le galactose n'est utilisé par la levure qu'en absence de glucose ou de mannose (**Boucher, 2016**).

La quantité d'éthanol produite variée d'une espèce à un autre, chaque levure exige des conditions spécifiques et présentes des caractéristiques différentes. Cependant, *Saccharomyces cerevisiae* est la levure la plus utilisée grâce à son rendement élevé et sa résistance aux conditions de production et surtout grâce à sa résistance élevée aux différents inhibiteurs et aux conditions défavorables (**Hector et al., 2012 ; Bahry, 2020**). De plus elle n'est pas pathogène (**Lin et Tanaka, 2006**).

Pour les exigences nutritionnelles de *saccharomyces cerevisiae*, elle métabolise, le saccharose et le maltose en anaérobiose en sucres simple tel que le glucose et le fructose qui seront directement inclus dans le cycle de la glycolyse et qui seront transformés en éthanol (S. Acourene et al., 2008).

Presque la majorité des besoins de *saccharomyces cerevisiae* sont assimilés sous forme de sels d'ammonium (phosphate, sulfate, chlorure et nitrate) dont les ions ammonium sont facilement assimilables par rapport à d'autres sources comme les acides aminés, les peptides, les bases simples (Choline, bétaine) (**Rennes et al., 2015**).

À des quantités suffisantes ces sels minéraux favorisent la croissance de *saccharomyces cerevisiae*: Le phosphore, potassium, calcium, magnésium, cuivre et le manganèse. et la carence à ces éléments agit négativement sur la fermentation (S. Acourene et al., 2008).

La levure *Saccharomyces cerevisiae* utilise les vitamines tel que les acides nicotinique et pantothénique, la biotine, la pyridoxine, le myo-inositol. Elles sont nécessaires pour améliorer la résistance à l'éthanol (**Rennes et al., 2015**).

## II.2. La fermentation acétique

La fermentation acétique est un type de fermentation dont l'éthanol issu de la fermentation alcoolique est oxydé en acide acétique, par des bactéries de la famille des *Acetobacteraceae*, tel que *Acetobacter aceti* (**Tesfaye et al., 2002**). Ce processus est

aérobie, dont l'oxydation nécessitant de l'oxygène de l'air pour avoir lieu d'où généralement appelés fermentation oxydative (**Pochat-Bohatier et al., 2000 ; Mas et al., 2014**).

A partir de 1865, sur la base des recherches de Pasteur, la production industrielle de vinaigre a connu un grand essor. La bactérie du vinaigre se développe dans le vin non bouché. Les petites mouches qui sont fortement attirées par le vin placé à l'air libre et qu'on appelle mouches du vinaigre (drosophiles) véhiculent les bactéries *Acetobacter sp.*, qui utilisent pour leur croissance l'énergie libérée par l'oxydation et forment alors une couche à la surface appelée la mère du vinaigre (**Gullo et Giudici, 2008**).

La production d'acide acétique est réalisée suite à deux réactions d'oxydation séquentielles de l'alcool par l'alcool déshydrogénase (ADH) et l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH), qui se trouvent à la surface externe de la membrane cytoplasmique. L'ADH composé de deux ou trois sous-unités, qui comprennent la déshydrogénase et le cytochrome C, essentiels à l'activité de l'enzyme (**Gao, 2020**).

Les deux plus grandes sous-unités jouent un rôle dans le transport intramoléculaire des électrons pendant l'oxydation de l'éthanol. La plus petite aide les deux sous-unités fonctionnelles dans leur association avec la membrane. Cet ADH membranaire contient de la pyroloquinoléine comme cofacteur et est indépendant du  $\text{NAD(P)}^+$ , bien qu'un alcool déshydrogénase dépendante de la  $\text{NAD(P)}^+$  a également été identifié.

Ce dernier a cependant une activité spécifique beaucoup plus faible que l'ADH membranaire et a un pH optimal plus élevé de 6 à 8, ce qui limite sa contribution au processus d'oxydation d'éthanol.

La stabilité de l'activité de l'ADH chez *acétobacter sp* dans les conditions acétiques explique son rendement élevé par rapport à l'espèce *gluconobacter spp*

L'aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Est indépendante du  $\text{NAD(P)}^+$ , et son pH optimal se situe entre 4 et 5. Elle est, en outre, également capable de catalyser l'oxydation de l'acétaldéhyde en acétate à des valeurs de pH inférieures

Après épuisement d'éthanol présent dans le milieu, Les souches d'*Acétobacter* peuvent ensuite oxyder l'acide acétique en  $\text{CO}_2$  et en eau par le cycle de l'acide tricarboxylique, L'absence des enzymes, l' $\alpha$ -cétoglutarate déshydrogénase et la succinate déshydrogénase fait des *Gluconobacter* incapables de faire ce cycle (**Raspor et Goranovič, 2008**).

## *Partie bibliographique*

---

La croissance des bactéries acétiques exige un pH bas entre 3 et 4 et des concentrations élevées d'éthanol (10 % - 15 %). Elles peuvent croître en utilisant l'ammoniac inorganique comme seule source d'azote et n'ont pas de besoins connus en acides aminés essentiels. Cependant, parmi les acides aminés, l'acide glutamique, la glutamine, la proline et l'histidine ont un effet stimulant, tandis que d'autres sont des inhibiteurs, comme la valine pour *Gluconobacter oxydans* et la thréonine l'homoserine pour *Acétobacter aceti* (Gullo et Giudici, 2008).

Les besoins nutritionnels des *Acétobacter* dépendent de la source de carbone (Monard *et al.*, 1967). La plupart des souches sont auxotrophes pour quelques vitamines notamment l'acide parabenzoïque, la niacine, la thiamine et l'acide pantothénique. Elles peuvent utiliser l'ammonium comme source d'azote. Ces bactéries ont la capacité pour se développer sur des milieux qui contiennent de sources de carbone, le glucose, l'arabinose, le mannitol, le sorbitol, et le glycérol pour faire la fermentation acétique de vinaigre d'alcool, certaines bactéries comme *Acetobacter gluconicum* et *Acetobacter rancens* et certaines de *Acetobacter suboxydant* et *Acetobacter melanogenum* nécessitent évidemment de nouveaux facteurs qui n'ont pas été déterminés et qu'ils se produisent dans l'autolysat de levure (Brown et Rainbow, 1956).

# *Partie expérimentale*

# *Matériels et méthodes*

## I. Matériel et méthodes

### I.1. Matériels végétal

L'essai d'optimisation de la production d'acide acétique par voie fermentaire (fermentation alcoolique et acétique) est effectué utilisant une variété de dattes, provenant des palmeraies de la région sud-est de l'Algérie(Oued souf). C'est la variété *Mech-Degla*, caractérisée par sa forme plus ou moins allongée, sa couleur jaune orangée et sa texture sèche voir dure.

Le choix de cette variété se justifie par sa disponibilité, son abondance et sa faible valeur marchande. L'échantillon représentatif est récupéré chez les marchands de datte de la wilaya de Béjaïa, au niveau de marché hebdomadaire.

Les fruits ont été nettoyés, coupés à l'aide de ciseaux en petits morceaux qui seront séchés à l'étuve à 40 °C jusqu'à stabilité totale du poids. Les dattes sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique (IKA-WORKS, TYPE A11.basic) afin d'obtenir une poudre fine.

Cette dernière est tamisée à l'aide d'un tamis manuel, et la poudre ainsi obtenue ( $\Phi \leq 250 \mu\text{m}$ ) est conservée à basse température (5 °C), à l'abri de la lumière et de l'humidité dans un récipient hermétique et opaque.

### I.2. Matériels biologique

#### I.2.1 Souche de fermentation alcoolique

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est sélectionnée pour la réalisation de la fermentation alcoolique. La souche utilisée est récupérée de la brasserie Albrau d'el Kseur (Bejaia) sous forme lyophilisé.

Une pré-culture est préparée avant d'ensemencer le milieu fermentaire, et ceci en solubilisant 1g de cette souche lyophilisé dans 50 ml de bouillon nutritif, sous des conditions stériles, et l'ensemble est incubé à 30°C.

Après un temps de 18 heures d'incubation, un examen microscopique suivi d'un dénombrement sur cellule Malassez sont effectués.

#### ➤ Identification microscopique

L'examen microscopique permet de définir la forme et la taille et l'arrangement de la levure utilisée.

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, un inoculum est prélevé, à partir du bouillon de pré-culture préparé, et ensuite déposé sur une lame, sur laquelle une quantité de bleu de méthylène est ajouté. Une lamelle est alors déposée soigneusement, et l'observation microscopique est réalisée.

➤ **Détermination de la masse cellulaire**

Le dénombrement est effectué à l'aide d'une cellule de Malassez, qui permet grâce au volume calibré de la grille de déterminer le nombre de cellules sous microscope (Denimal, 2018).

Une goutte de l'inoculum est étalée sur l'hématimètre, une goutte de bleu de méthylène est ajoutée. Une fois la lamelle est déposée, un comptage par microscope optique est réalisé.

**I.2.2. Souche de fermentation acétique**

Le micro-organisme sélectionné pour effectuer la fermentation acétique, est une bactérie productrice d'acide acétique appartenant à l'espèce *Acétobacter sp* ; procurée du laboratoire de microbiologie appliquée (LMA) de l'université de Béjaia. Cette souche est revivifiée dans un bouillon nutritif et incubé à 30° C pendant 24heures, puis ensemencé sur le milieu carr additionné de bleu de Bromocrésol, ce qui permet de confirmer la production d'acide et de distinguer les Acétobacters des autres espèces : le bleu de Bromocrésol vire au jaune claire sous effet d'acide, et ensuiet au vert sous l'effet d'acide acétique (Katti *et al.*, 2017).

La confirmation et l'identification des Acétobacters est faite sur l'observation morphologiques des colonies et cellules et également en se basant sur les tests biochimiques caractéristiques.

➤ **Identification microscopique**

Une goutte de la suspension bactérienne est prise et déposée sur une lame. Une fois fixée en exposant la lame au bec Benzène, elle est recouverte d'une lamelle, et l'observation est effectuée par microscope optique (grossissement 100), après l'ajout d'une goutte de l'huile à immersion.

➤ **Coloration de Gram**

La coloration de Gram permet de colorer les bactéries après fixation de violet de gentiane (Gram +) ou la fuchsine (Gram -) en fonction de la composition de la paroi membranaire, et elle est réalisée comme suit :

Une goutte de la suspension bactérienne est fixée sur une lame. Elle est ensuite recouverte de violet de gentiane. Après une minute, la lame est rincée à l'eau du robinet pour éliminer l'excès de colorant, puis elle est recouverte d'une solution de Lugol et laissée reposer pendant 5min, avant qu'elle soit débarrassée de Lugol, par un lavage à l'eau.

Quelques gouttes d'alcool sont ajoutées, et l'ensemble est rincé à l'eau, avant une coloration à la fuchsine.

Une minute plus tard, la lame est rincée à l'eau, et quelques gouttes de l'huile à immersion sont ajoutées, et observation au microscope optique est alors effectuée (**Khusna et al., 2019**).

➤ **Test d'indole**

Une colonie bactérienne estensemencée dans un tube contenant 2mL d'eau peptone, et l'ensemble est incubé à 37°C pendant 48heures. A cet ensemble, un volume de 0,5 ml du réactif de Kovaks est ajouté. L'apparition d'une couleur rouge, après une minute indique que le test est positif (**Cheesbrough, 1981**).

➤ **Test de rouge de méthyle**

Une colonie estensemencée dans 0.5 mL de bouillon phosphate de glucose. Après 24 heures d'incubation à 37°C, une goutte de rouge de méthyle est ajoutée à l'inoculum, et l'apparition d'une couleur jaune indique que le test est positif ( production d'acides organiques) (**Kowser et al., 2016**).

➤ **Test de la catalase**

Ce test consiste à déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène (3 %) sur une colonie bactérienne bien isolée. L'apparition des bulles de gaz signifié la présence de catalase (**Zahoor et al., 2006**).

### ➤ Test de l'oxydase

Un disque oxydase (en papier absorbant imprégnés de N,N,N',N'-Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride) est déposé sur une colonie bactérienne bien isolée. En présence de cytochrome oxydase, le N,N,N',N'-Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (incolore) forme un composé coloré en bleu (**Kowser et al., 2016**).

## I.3. Caractérisation physicochimique de la poudre de datte

Dans le but d'évaluer les principaux constituants nutritifs et de déterminer la composition de la poudre de datte étudié, qui servira de milieu de culture pour la production du vinaigre, plusieurs analyses physico-chimiques ont été effectués.

### I.3.1. Taux d'humidité et de matières sèches

La mesure de taux d'humidité est effectuée selon la méthode décrite par (**Boukhalfa et al., 2018**).

Une prise d'essai de 3g de la poudre de datte est séchée dans l'étuve à 105°C jusqu'à la stabilité du poids, et taux d'humidité est déterminé par la formule suivante :

$$H\% = \frac{(P_i - P_f)}{P_i - P_0} * 100$$

Où :

H % : taux d'humidité.

P<sub>i</sub> : poids du creuset contenant l'échantillon, avant étuvage.

P<sub>f</sub> : poids du creuset contenant l'échantillon, après étuvage.

P<sub>0</sub> : poids du creuset vide.

La teneur en matière sèche de la poudre de dattes étudiées est évaluée selon la méthode décrite par (**AFNOR, 1986**). Cette dernière est calculée par la formule suivante :

$$MS(\%) = 100 - H(\%)$$

### I.3.2. Taux de cendres

Le taux des cendres de la poudre de dattes étudiée est évalué selon la méthode décrite par (**Djafri et al., 2020**). Une prise d'essai 3 g de la poudre est incinérée dans un four à moufle pendant 5 h à 600 °C. Le taux de cendre est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux de cendre} = (M_1 - M_2) / p \times 100$$

D'où :

$M_1$ : Masse du creuset + poudre de datte(g)

$M_2$ : Masse du creuset+ cendres (g)

$P$  : Masse de la prise d'essai (g)

### I.3.3. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le potentiel hydrogène de la poudre de dattes étudiée est déterminé, à l'aide d'un pH-mètre selon la méthode décrite par (AFNOR, 1981). Une prise d'essai de 2 g est dissoute dans un volume de 50 ml d'eau distillée, et l'ensemble est laissé sous agitation pendant 30 minutes. Une fois filtré, la mesure est réalisée en trois répétitions.

### I.3.4. L'acidité titrable

L'acidité titrable de la poudre étudiée est effectuée selon la méthode décrite par (Verma et Joshi, 2000).

Une prise d'essai de la poudre est mélangée avec de l'eau distillée, et l'ensemble est met sous reflux réfrigérant pendant 30 minutes avant d'être filtré. Le titrage est réalisé à température ambiante avec une solution de NaOH à (0.1 N) sous-agitation après avoir ajouté de la phénolphtaléine. Le titrage est arrêté lors de l'apparition d'un virage de couleur.

La teneur en acide titrable est exprimée en g d'équivalent d'acide citrique dans 100 g de poudre, est calculée selon la formule qui suit :

$$\text{Acidité(g/100g)} = (\mathbf{Nb} \times \mathbf{Vb} \times \mathbf{M})/(\mathbf{Va} \times \mathbf{P})$$

Avec :

$\mathbf{M}$  :Masse molaire de l'acide citrique (192,13 g/mol).

$\mathbf{Va}$  :Volume en millilitres de la prise d'essai.

$\mathbf{Vb}$ : Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium utilisé.

$\mathbf{Nb}$  :Normalité de la solution d'hydroxyde de sodium utilisé (0,1 N).

$\mathbf{P}$  : Nombre de valence (3).

### I.3.5. Taux des sucres totaux

La teneur en sucres totaux de la poudre de dattes étudiée est déterminée par la méthode de **(Du Bois *et al.*, 1956)**.

Une prise d'essai de 1g de la poudre est mélangée avec 50 mL d'eau distillée, et laissée sous une agitation pendant 45 minutes à température ambiante. Une fois filtré, un volume de 10 ml est additionné de sels CAREZ I et CAREZ II (Annexe B), qui sera ainsi laissé décanter pendant 30 minutes. Une filtration est réalisée afin de récupérer le filtrat.

Pour un volume de 1 ml du filtrat sont ajoutés respectivement, 1 ml de phénol à 5% et 3 ml d'acide sulfurique, le mélange est mis à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à une température ambiante. L'absorbance est mesurée à 550 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un témoin.

La teneur en sucres totaux dans la poudre est déterminée en se référant à une courbe D'étalonnage qui est réalisée en utilisant le glucose dans les mêmes conditions opératoires.

### I.3.6. Taux des sucres réducteurs

Le dosage des sucres réducteurs est réalisé selon la méthode rapportée par **(Breuil et Saddler, 1985)**.

Une prise d'essai de 1g de la poudre est mélangée avec 50 ml d'eau distillé. Le mélange agité pendant 45 min à température ambiante est filtré. Un volume de 200 µl est alors additionné de 300 µl de DNS (Annexe C), et subi un chauffage dans un bain-marie à 100°C pendant 5 minutes. Après chauffage, 1.5 ml d'eau distillée, sont ajoutées au mélange qui sera laissé à l'abri de la lumière pendant 15 min.

L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La teneur en sucres réducteurs dans la poudre est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant le glucose (Annexe C).

### I.3.7. Teneur en protéines

La teneur en protéines totales de la poudre de dattes étudiée est effectuée selon la méthode de Bradford (1976), rapportée par **Bonnin-Jusserand *et al.*, (2011)**. Cette méthode colorimétrique permet de déterminer la concentration d'une solution protéique.

Une prise d'essai de 1 g de la poudre est diluée dans 50 ml d'eau distillée. L'ensemble est agité pendant 30 minutes, avant d'être filtré. Un volume de 100 µl est additionné de 3 ml de bleu de coomassie, et l'absorbance est mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un témoin.

La teneur en protéines de la poudre est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la BSA dans les mêmes conditions opératoires (Annexe A).

### 1.3.8. Dosage de l'azote total

L'azote total est dosé après minéralisation par volumétrie selon la méthode de (Kjeldahl, 1889).

Une prise d'essai de 10 mg de la poudre de dattes est introduite dans un matras de minéralisation, auquel une pincée du catalyseur sulfate de cuivre et sulfate d'ammonium est ajouté à ce mélange 20 ml d'acide sulfurique concentré est ajouté.

L'ensemble est chauffé à froid pendant 15 min jusqu'à apparition d'une vapeur blanche d'anhydride sulfurique. L'ensemble est alors laissé au chauffage à chaud pendant 4 à 5 heures.

Après décoloration complète, la solution est refroidie et complétée jusqu'à un volume de 250 ml avec de l'eau distillée. La distillation est alors réalisée juste après la minéralisation en prélevant un volume de 20 ml de la solution minéralisée à laquelle de la soude est ajoutée. Le dégagement d'ammoniac est récupéré dans une solution d'acide borique contenant un indicateur coloré (le bleu de méthylène et le rouge de méthylène), et l'excès d'ammoniac est dosé avec l'acide sulfurique à 0.05 N.

La teneur en azote est déterminée par la formule suivante :

$$N\% = 14 \times Na \times Va \times [d/V0]$$

Où :

**N(%)** : Taux d'azote.

**NA** : Normalité de l'acide.

**VA** : Volume, en ml de l'acide versé.

**V0** : Volume en ml de la prise d'essai.

**d** : Dilution de la fraction considéré.

#### I.4. Optimisation des paramètres de production par le plan Box-Behnken

Dans cette étude, un plan d'expériences Box-Behnken, à trois facteurs ( $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$ ) et à trois niveaux (-1, 0, +1) ont été utilisés pour optimiser le processus de fabrication vinaigre.

Pour atteindre cet objectif, cette optimisation est divisée en deux parties :

- Optimisation des paramètres de la fermentation alcoolique ;
- Optimisation des paramètres de la fermentation acétique.

##### I.4.1. Optimisation des paramètres de la fermentation alcoolique

Plusieurs paramètres influencent le processus de la fermentation alcoolique, entre autres les besoins nutritionnels et physico-chimiques de la souche, et aussi le temps d'incubation et le rapport biomasse initiale/concentration du substrat dans le milieu. De ce fait, des essais préliminaires sont réalisés visant à fixer le temps d'incubation et le rapport biomasse initiale/concentration du substrat.

###### ➤ Effet de la concentration en substrat sur le taux d'alcool produit

L'ajout graduel de substrat accélère la fermentation avec production de glucose et d'éthanol (**Dieudonné *et al.*, 2009**).

La fermentation alcoolique, est effectuée dans des flacons de 200ml, contenant chacun 100ml d'eau distillée et une quantité de poudre de dattes d'environ de 1g ; 2g ; 3g ; 4g et 5g respectivement, comme substrat fermentation. Une fois autoclavés, les flacons sontensemencés par un 1ml de la souche *Saccharomyces cerevisiae* utilisée, et l'ensemble est incubé à 30°C pendant 72h. Le taux d'alcool produit dans chaque flacon est alors dosé à la fin de l'incubation.

Le temps d'incubation est fixé par rapport aux travaux de **Velázquez *et al.*(1991)** qui ont obtenues des taux de production d'alcool les plus élevées après 72 heures de fermentation, avec un optimale de productivité à 36 heures. Le déroulement expérimental de l'étude de l'effet de la concentration en substrat sur le taux d'alcool produit est résumé dans le (**Tableau III**).

**Tableau III:** Protocole expérimental de l'étude de l'effet de la concentration du substrat sur le taux d'alcool produit.

	Flacon 1	Flacon 2	Flacon 3	Flacon 4	Flacon 5
Concentration en substrat(X g/100ml)	1	2	3	4	5
Temps d'incubation (heures)	72	72	72	72	72

➤ **Effet de la durée d'incubation sur le taux d'alcool produit**

Le temps de fermentation court donne une croissance insuffisante des micro-organismes (fermentation incomplète), de même le prolongement de temps de fermentation peut avoir un effet négatif sur la levure (Alio, 2021).

Le déroulement expérimental de l'étude de l'effet de temps d'incubation sur le taux d'alcool produit est résumé dans le (tableau IV).

**Tableau IV:** Protocole expérimental de l'étude de l'effet de la durée d'incubation sur le taux d'alcool produit.

	Flacon 1	Flacon 2	Flacon 3	Flacon 4	Flacon 5
Concentration en substrat (g/100 ml)	X	X	X	X	X
Durée d'incubation (heures)	24	36	48	72	92

L'effet de la durée d'incubation sur le taux d'alcool produit est évalué en réalisant cinq fermentations suivant le même protocole déjà décrit, mais en fixant la teneur en substrat à la valeur retrouvée dans l'étude précédente, et en variant le temps d'incubation de 24, 36, 48, 72 et 92heures, respectivement. Le taux d'alcool produit dans chaque flacon est alors dosé à la fin de l'incubation.

#### I.4.1.1. Choix des paramètres de la fermentation alcoolique

##### ➤ Choix de la température

Selon Charoenchai *et al.* (1998) la température agit de façon directe sur la croissance des micro-organismes.

Plusieurs études ont rapporté que les températures au tour de 30°C donnent les meilleurs taux de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* optimales de production d'alcool (Dieudonné *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2010; Mounir *et al.*, 2016), tandis qu' Alio (2021) a trouvé que l'intervalle de température situé entre 20 et 35°C permet d'avoir le taux d'alcool le plus élevé.

En se reposant sur ces résultats, l'intervalle de variation de la température, dans la présente étude, est compris entre 25 jusqu'à 35°C avec un optimum de 30 °C.

##### ➤ Choix du pH

L'intervalle de variation du pH, dans la présente étude, est compris entre 4 jusqu'à 6 avec un optimum de 5, et ceci en se basant sur les données bibliographiques (Dieudonné *et al.*, 2009; Roukas, 2009; Ercan *et al.*, 2012; Germec *et al.*, 2015; Mounir *et al.*, 2016).

##### ➤ Choix de la source d'azote

Les sources d'azote ont un rôle majeur dans la croissance des levures productrices d'éthanol, dont l'ammoniacque et les sels d'ammoniums (le sulfate d'ammonium est l'un des sources les plus utilisées) sont fortement assimilés par rapport à d'autres sources d'azote (Yue *et al.*, 2010).

L'intervalle de la concentration en sulfate d'ammonium, dans la présente étude, est compris entre 0,3 jusqu'à 0,5g/100mL avec un optimum de 0,4g/100mL, et ceci en se basant sur les données bibliographiques (Dragone et Silva, 2004; Oiwoh *et al.*, 2017; Darvishi et Moghaddami, 2019).

#### I.4.1.2. Application du plan Box -Behenken pour l'optimisation de la fermentation alcoolique

Une fois, les paramètres (température, pH, concentration en sulfate d'ammonium) sont déterminés, l'optimisation de l'influence de ces paramètres sur le taux d'alcool produit par *Saccharomyces cerevisiae* est réalisée, par l'application d'un plan factoriel

complet à trois facteurs ( $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$ ), et à trois niveaux (-1, 0, +1). Les niveaux bas, moyen et haut de chaque variable sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau V:** niveau des paramètres d'optimisation de production d'alcool

Paramètres	Niveau bas (-1)	Niveau centré (0)	Niveau haut (+1)
pH	4	5	6
Température	25	30	35
Concentration en sulfate ammonium (%)	0.3	0.4	0.5

La matrice expérimentale (**Tableau VI**) proposé par le plan Box-Behnken, est composée de 15 essais, dont un essai est répété trois fois (0,0,0) pour vérifier l'erreur type de reproductibilité des résultats .

**Tableau VI:** Matrice expérimentale de production d'alcool proposé par le plan BBD

N° d'essais	pH	T (°C)	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)
1	6	25	0.4
2	6	30	0.3
3	6	35	0.4
4	5	35	0.5
5	6	30	0.5
6	5	35	0.3
7	5	30	0.4
8	4	30	0.5
9	5	25	0.5
10	4	25	0.4
11	5	25	0.3
12	5	30	0.4
13	4	35	0.4
14	4	30	0.3
15	5	30	0.4

#### I.4.1.3. Dosage d'éthanol

Le taux d'alcool produit de chaque essai est déterminé par un alcoomètre (Funke Gibber) au niveau du laboratoire de la brasserie Albrau (El-KSEUR- BEJAIA).

La sonde liée à l'appareil est plongée dans une éprouvette contenant la solution alcoolique qui sera absorbée par l'alcoomètre. Le taux d'alcool est déterminé en pourcentage volumique.

#### I.4.2. Optimisation des paramètres de la fermentation acétique.

Avant de lancer la fermentation acétique, une fermentation alcoolique est effectuée selon les valeurs critiques proposée par le plan Box-Behnken de l'optimisation de la production de taux d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* en utilisant la poudre de dattes comme substrat de base.

Après 72 heures de fermentation, un maximum d'éthanol est produit et le vin de datte est alors filtré et versé, dans des flacons de 200 mL, sous des conditions d'asepsies. Chaque flacon est alorsensemencé par un inoculum de la souche *Acétobacter sp* pour effectuer la fermentation acétique selon la matrice expérimentale.

##### I.4.2.1. Choix des paramètres

###### ➤ Choix de température

Selon (Wei *et al.*, 1999) la croissance des bactéries acétiques est nulle en dessous de 8 °C et au-delà de 35 °C. Les résultats de Ory et Romero, (1998) et de Sievers et Swings, (2015) rapportent que la température optimale de la croissance des *Acétobacter* est de l'ordre de 30 °C.

Selon Zahoor *et al.* (2006), la souche *Acétobacter aceti* peut se développer à des températures entre 28 °C et 34 °C.

En se référant sur ces résultats, l'intervalle de variation de la température, dans la présente étude, est compris entre 25 jusqu'à 35°C avec un optimum de 30 °C.

###### ➤ Choix de pH

La bactérie acétique s'adapte à un milieu acide et ne se développent pas a des valeurs de pH supérieure à 6.8 (Menzel et Gottschalk, 1985).

L'optimal de croissance des espèces *Acétobacter* est entre des valeurs de pH qui oscillent de 5.4 à 6 (Embuscado *et al.*, 1994), de même pour (Sievers et Swings, 2015) qui rapportent un optimale de croissance compris entre des pH de 4,0 à 6,0.

En se référant sur ces résultats, l'intervalle de variation du pH, dans la présente étude, est compris entre 3 jusqu'à 5 °C avec un optimum de 4.

###### ➤ Choix de concentration initial en acide acétique

L'acide acétique initial peut améliorer le taux d'oxydation de l'éthanol des bactéries acétiques et le métabolisme énergétique pour produire plus d'énergie et ainsi s'adapter aux conditions de fermentation de l'acide acétique (Zheng *et al.*, 2017).

Selon **Wang et al.(2015)**, des concentrations initiales en acide acétique de l'ordre de 0.5 à 1% améliorent graduellement le taux de production de vinaigre, mais des concentrations initiales au delà de 3% inhibent la production. Ce derniers résultat a été confirmé par plusieurs travaux ( **Taylor et al., 1997; Gao, 2020**).

L'intervalle de variation de la concentration initiale en acide acétique ( $C_{IAA}$ ), dans la présente étude, est choisi entre **1** jusqu'à **3 %** avec un optimum de **2 %**.

Une fois, les paramètres (température, pH,  $C_{IAA}$ ) sont déterminés, l'optimisation de l'influence de ces paramètres sur le taux d'acide acétique produit par *Acetobacter sp* est réalisée, par l'application d'un plan à trois facteurs ( $x_1, x_2, x_3$ ), et à trois niveaux (-1, 0, +1), comme ils sont représentés dans le tableau suivant.

**Tableau VII:** niveau des paramètres d'optimisation de production d'acide acétique

Paramètres	Niveau bas (-1)	Niveau centré (0)	Niveau haut (+1)
pH	4	5	6
Température (°C)	25	30	35
$C_{IAA}$	1%	2%	3%

#### I.4.2.2. Application du plan Box -Behenken pour l'optimisation de la fermentation acétique

La matrice expérimentale (**Tableau VIII**) proposé par le plan Box-Behnken, est composée de 15 essais.

**Tableau VIII:** matrice expérimentale de production d'acide acétique proposé par le plan BBD

N° d'essais	pH	T (°C)	C <sub>AAI</sub>
1	4	35	2
2	5	30	2
3	6	35	2
4	5	35	3
5	5	25	1
6	4	25	2
7	4	30	3
8	5	35	1
9	6	30	3
10	5	30	2
11	5	30	2
12	5	30	2
13	4	30	1
14	6	25	2
15	5	25	3

#### I.4.2.3. Dosage de l'acide acétique

Le dosage de l'acide acétique se fait par titrimétrie, à l'aide d'une base forte NaOH (0.1N) en présence de phénol phtaléine (**Oueld elhadj et al., 2001**).

Un volume de 10 mL du moût de fermentation récupéré a la fin de l'incubation, est titré avec une solution de soude (0.1N) en présence de deux gouttes de phénolphtaléine, et le titrage est arrêté au virage de la couleur (**Follman, 1983**).

La concentration en acide acétique (g/ L) est calculée selon la loi suivante :

$$C(\text{g/L}) = \frac{V * N}{10} * 60,05$$

Dont :

V : volume de soude ajouté (ml).

N : normalité de la soude 0.1 N.

60,05 : masse molaire de l'acide d'acétique (g /mol).

## *Résultats et discussion*

## II. Résultats et discussion

### II.1. Caractérisation des souches utilisées

#### II.1.1. Souche de fermentation alcoolique (*Saccharomyces cerevisiae*)

##### ➤ Identification microscopique

La levure (*saccharomyces cerevisiae*) observé au microscope optique c'est un organisme eucaryote unicellulaires, de forme ovale, cette morphologie est décrite par plusieurs auteurs ( **TAKESHI et al., 1957**; **Ahmed Boulal et al., 2018**).

##### ➤ Détermination de la masse cellulaire

La masse cellulaire est de  $5 \times 10^5$  UFC/ml, ce dénombrement permet d'étudier le temps de latence, le taux de croissance et le temps de génération (**Ould ELHadj et al., 2006**).

#### II.1.2. Souche de fermentation acétique (*Acétobacter sp.*)

##### ➤ Identification microscopique

Les cellules bactériennes apparaissent en jaune puis elles deviennent vertes après ensemencement sur milieu Carr ce qui signifie leur production d'acide (**Katti et al., 2017**), et en rose après coloration de Gram ce qui signifie qu'ils sont à Gram négatif. Les colonies observées après incubation sont de forme bâtonnets de couleur blanche, blanc cassé. ces résultats obtenues sont presque les mêmes obtenue par **Zahoor et al.,( 2006)**; et **Kowser et al., (2016)**.

##### ➤ Tests biochimiques

Selon les tests biochimiques effectués sur les colonies prélevées, Ces bactéries sont de catalase positive ; une effervescence est observée après le dépôt d'une goutte de  $H_2O_2$  près d'une colonie, si les résultats sont négatifs au test d'oxydase et de production d'indole et Positif pour le rouge de méthyle.

Les résultats obtenues accordent avec ceux obtenues de certains auteurs (**EJEMNI et MEJRIS., 2006**; **Kadere et al., 2008**; **Arifuzzaman et al., 2014** ; **Klawpiyapamornkun et al., 2015**; **Kowser et al., 2016**) ce qui révèle que la bactérie appartient au genre *Acetobacter sp.*

### II.3. Caractères physico-chimiques de la poudre de datte

Les résultats d'analyse physico-chimiques de la datte mech-degla utilisé dans notre étude sont présentés dans le (**Tableau IX**).

Les valeurs enregistrées pour chaque composant de la datte sont discutées et comparées aux résultats trouvés par d'autres études faites sur cette variété.

**Tableau IX :** résultats de l'analyse physico-chimiques de la poudre de datte

Composition	Valeur
Humidité (%)	10,83 ± 0,87
Matière sèche (%)	89,17 ± 0,87
Cendres (%)	2,94
Acidité g/l	1,3
pH	5,2 ± 0,02
Sucre g/100g	77,64 ± 4,75
Sucres réducteurs g/100g	23,42 ± 1,35
Protéines g/100g	1,86 ± 0,42
Azote g/100g	2,65 ± 0,21

### II.2.1. Taux d'humidité (%)

Nos résultats indiquent que le taux d'humidité dans la poudre de datte mech –degla est de  $10,83 \pm 0,87$  (%) cette valeur est légèrement inférieure à celle obtenue par **(Benrima et al., 2019)**  $12,07 \pm 0,02$ (%) et celle de **(Noui et al., 2019)**  $13,63 \pm 0,17$ (%) .

Cette valeur est liée premièrement à la variété elle-même qui est de nature sèche suite à l'humidité très basse de la région de culture **(Booij et al., 1992)** et de l'environnement de chaque cultivars **(Babahani et Eddoud, 2012)** , en deuxième elle varie en fonction de la température et la durée de la condensation **(Djafri et al., 2020)**, Selon **(Aicha et al., 2019)** la durée de séchage et la température influencent sur la teneur en eau. Le séchage à des températures fixes limite la croissance des microorganismes et les réactions chimiques tel que le brunissement enzymatique ce qui prolonge le temps de conservation de produit, ces résultats justifient la valeur qu'on obtient.

### II.2.2. Taux de Matière sèche

la poudre de datte Mech-Degla utilisée dans notre étude a une valeur de  $89,17 \pm 0,87$  (%) de matière sèche, Cette valeur est très proche de celle trouvée par les auteurs **(Noui et al., 2019)** (86,36 % ), et **(Noui et al., 2015)** (88.1 %), **(Boudechiche et al., 2008)** Mech degla (91,44 %).

### II.2.3. Teneur en Cendres

La quantité majeure des sels minéraux reflète le taux de cendres représentées dans un échantillon (**Djafri et al., 2020**). Cette valeur est de 2.94 (g/100g) dans la datte mech-degla utilisée, qui est supérieure à celles de (**Thabet et al., 2007**) avec (2,57%) pour certaines variétés tunisiennes.

De même les auteurs (**Noui et al., 2015, 2019;Bouchachia, 2019**) ont obtenues des valeurs respectivement égales à  $2,13 \pm 0.07$ ;  $2.42 \pm 0.012$ ;  $2.0 \pm 0.012$  (g/100g), Ce qui signifie que la datte mech-degla présente une quantité de sels plus élevée par rapport aux autres variétés.

(**CHeikhi et al., 2021**) dans leurs article ont liés la teneur en cendres au sol et leur amendement.

### II.2.4. L'Acidité

Le résultat de l'acidité titrable de la variété *Mech-Degla* est de 1.3g/l. Ces Résultats sont comparables à ceux rapportés par (**Acourene et al., 2014**) qui a trouvé des valeurs allant de 0,64 à 2,81 g/kg sur vingt variétés algériennes Et supérieur à celles de (**Benahmed et al., 2013**) avec  $0,13 \pm 0,01$  (g/ 100g) du produit.

Les variations observées peuvent être dues à deux facteurs la teneur en eau et la nature en sucre de la matière première (**Djafri et al., 2020**).

### II.2.5. Potentiel d'hydrogène (pH)

La datte mech-degla présente un pH légèrement acide ( $5,2 \pm 0,02$ ) qui est similaire à celle rapporté par **Bouchachia,(2019)** avec un pH égal a ( $5,62 \pm 0,06$ ) et se trouve dans l'intervalle décrit par **Acourene et Tama., (2001)** (5.1 jusqu'à 7.2), Ces valeurs pourraient permettre une meilleure conservation de certaines vitamines, telles que B1, B2, B5, B9 et B12 **El Arem et al., (2011)**, un pH qui varie entre 5.94 et 6.94 est défavorable pour le développement des bactéries (**Djafri et al., 2020**).

le pH des variétés des dattes varie suivant les stades de développement physiologiques de la datte (**CHeikhi et al., 2021**).

### II.2.6. Teneur en Sucres totaux

Les dattes sont très riches en nutriment notamment les glucides (70-80%).(**El Arem et al., 2011**), Les résultats de analyse chimique de la poudre de datte mech-degla montrent que leur teneur en sucres totaux est de  $77,64 \pm 4,75$  (g /100g), cette valeur est similaire aux valeurs trouvés par **Munier, (1965)** qui est de 76 (g /100g).

de leurs part (**Kacem-Chaouche et al., 2013**) ont montrés que la datte contient 84% de sucre dont 65% de saccharose.

Les études faites par **CHeikhi et al., (2021)** montrent que la variété, le climat et le stade de maturation affectent la teneur en sucres.

### II.2.7. Teneur en Sucres réducteurs

Les sucres réducteurs (glucose et fructose) résultent de l'inversion du saccharose par l'invertase au cours de la maturation de la datte (**Djafri et al., 2020**), notre échantillon présent  $23,42 \pm 1,35$  (g/ 100g) de sucres réducteurs ces résultats sont égaux à celles rapportés par **Bouchachia, (2019)** pour la variété Mech-degla à savoir 24,23(%), et avec une légère différence à celle obtenue par **Benselma et al., (2016)** avec un pourcentage de 20 % .

Cette différence existe d'une variété a l'autres (**Munier, 1973**), entre autres par les conditions climatiques (chaleur et humidité de l'air), le degré d'irrigation ou un dessèchement des dattes juste après récolte qui agissent sur la consistance de la pulpe (**H. Harrak. et al., 2005**).

### II.2.8. Teneur en Protéines

La datte mech-degla contient de faible teneur en protéines  $1,86 \pm 0,42$  (g /100g ) cette valeur s'approche à celles trouvées par (**Benahmed et al., 2013; Kacem-Chaouche et al., 2013**) pour la même variété avec un pourcentage de 2,1(%) .

Divers facteurs affect la teneur des dattes en protéines à savoir particulièrement l'origine géographique, l'effet variétal, la maturité et la période de la récolte (**Tajini et al., 2020**).

### II.2.9. Teneur en Azote

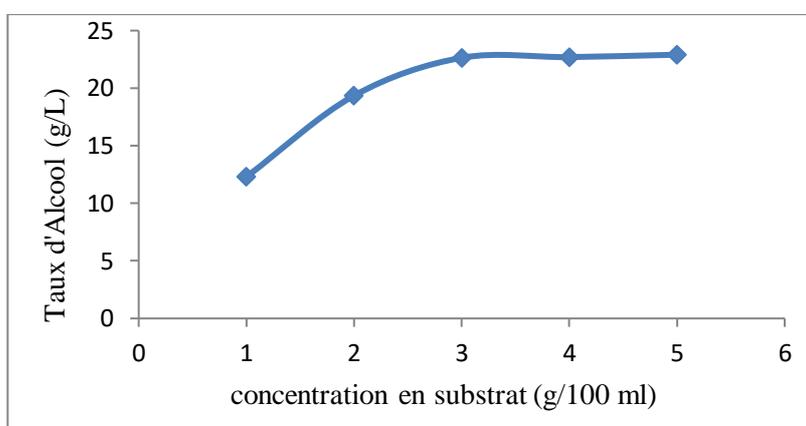
La quantité d'azote présente dans notre échantillon est de  $2,65 \pm 0,21$  (g/100g) cette dernière se trouve dans l'intervalle décrit par (**Boudechiche et al., 2008**) de 1,38% à 4,07% et d'un pourcentage légèrement supérieur à celles trouvées par (**Boudechiche et al., 2008; Chibi et Hadi, 2019** ) respectivement pour  $1.09 \pm 0.31$  (g/100g) et 2,01(%) pour la même variété mech –degla .

## II.3. Optimisation des paramètres de production d'éthanol

### II.3.1. Essais préliminaires

#### ➤ Quantité de substrat

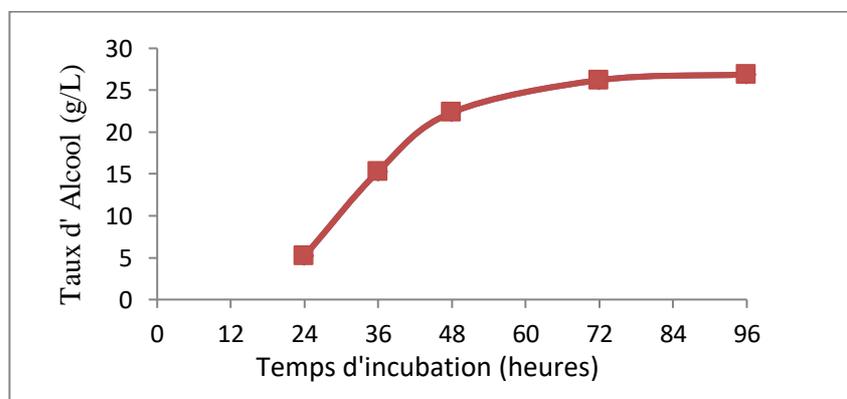
La quantité de substrat a été variée et le dosage d'alcool produit est effectué après 72 heures de fermentation. Les résultats sont présentés dans la **(Figure N°1)** montrant que 3g de la poudre de datte permet d'obtenir un maximum de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* de 22.6 (g/l), et cette valeur reste stable malgré l'augmentation de la quantité de poudre de datte.



**Figure N° I:** production d'alcool par *s. cerevisia* en fonction de quantité de substrat

#### ➤ Temps de fermentation

Le dosage d'alcool produit est effectué sur les flacons 1, 2, 3, 4 et 5 après 24, 36, 48, 72 et 96 heures, respectivement. Les résultats présentés dans la **(Figure N°2)** indiquent un taux de production maximale de 22.54 (g/l) d'éthanol atteinte après 72 h de fermentation.



**Figure II:** production d'alcool par *s. cerevisia* en fonction de temps

### II.3.2. Analyse des résultats d'application de Plan d'expérience Box-Behnken

Les résultats obtenus, des expériences du plan Box-Behnken (BBD) sont représentés dans le (Tableau X).

**Tableau X:** Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan BBD

N° d'essais	pH	T (°C)	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	Bioéthanol (g/L)	
				Valeurs réelles	Valeurs prédites
1	6	25	0,4	31,536	32,9522
2	6	30	0,3	13,432	13,3882
3	6	35	0,4	9,2272	9,0374
4	5	35	0,5	27,2144	28,5868
5	6	30	0,5	17,4032	16,2206
6	5	35	0,3	6,8912	7,1248
7	5	30	0,4	27,9152	28,4213333
8	4	30	0,5	31,3024	31,3462
9	5	25	0,5	26,3968	26,1632
10	4	25	0,4	23,7104	23,9002
11	5	25	0,3	26,864	25,4916
12	5	30	0,4	29,0832	28,4213333
13	4	35	0,4	33,288	31,8718
14	4	30	0,3	10,8624	12,045
15	5	30	0,4	28,2656	28,4213333

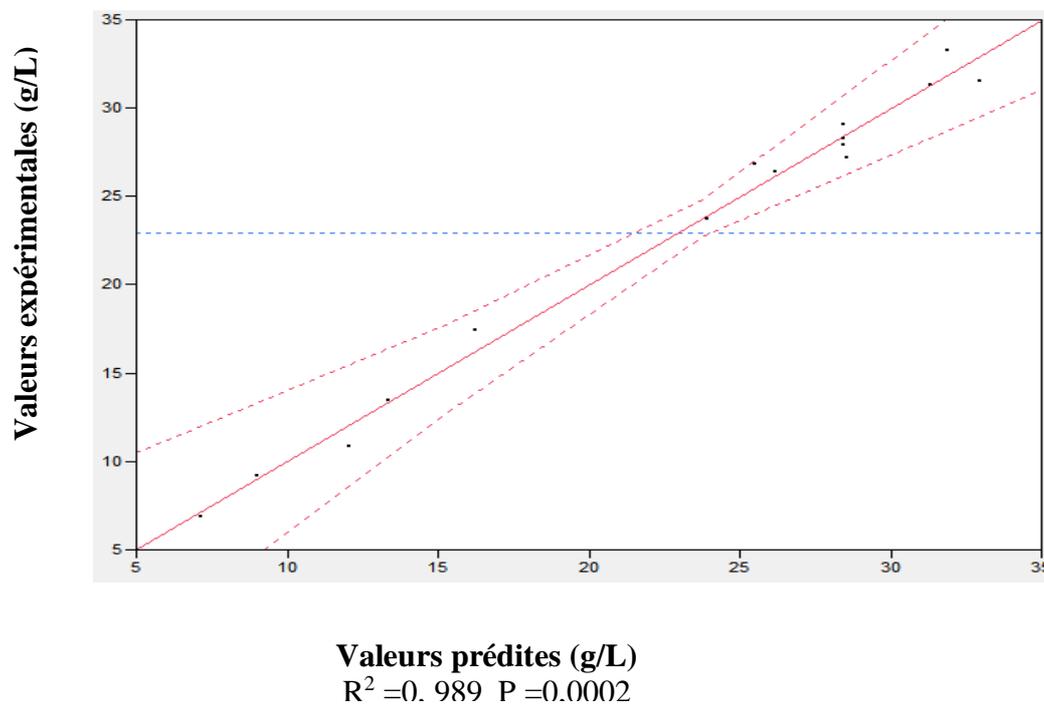
D'après les résultats obtenus, le taux de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de la poudre de datte, varie entre 6.8912 à 33.288 g/L de moût de fermentation, ce qui confirme l'influence des paramètres optimisés (potentiel d'hydrogène, la température et la concentration en sulfate d'ammonium) sur la production d'alcool.

Ces résultats sont en accord avec les résultats bibliographiques qui confirment l'influence des paramètres étudiés sur la production (Lin *et al.*, 2014; OIWOH *et al.*, 2017). Les résultats obtenus de l'analyse effectuée montrent que les valeurs prédites par le BBD ainsi que les valeurs réelles sont proches.

### II.3.3. Validation du model

#### ➤ Coefficient de détermination ( $R^2$ )

Selon (Goupy, 2006) le  $R^2$  est un paramètre qui nous indique la validité du modèle étudié. Dans la présente étude, le coefficient de détermination ( $R^2$ ) du model est égal à 0.989, ce qui signifie qu'uniquement 1% des variations ne sont pas expliquées par le model. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajusté est de l'ordre de  $R^2$  ajusté = 0.97, ce qui est assez élevée pour confirmer la haute significativité du model, sachant que le  $R^2$  ajusté représente la valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) après élimination des termes (coefficients) inutiles du model.



**Figure N°III:** Plan de prédiction réelle de la poudre étudiée

### ➤ Model global et manque d'ajustement

Les résultats obtenus montrent que les valeurs de P-value du model et de défaut d'ajustement sont de l'ordre de 0.0002 et de 0.0924, respectivement.

L'analyse de la variance de la régression du model (**Tableau XI**), montre que le model est très significatif ( $P < 0,005$ ) et que le manque d'ajustement n'est pas significatif ( $P > 0,05$ ) par rapport à l'erreur pure, ce qui confirme que le model est satisfaisant (**Fei et al., 2010**).

Dans un modèle, si la P-value du manque d'ajustement est significative ce model sera rejeté (**Granato et al., 2010**)

**Tableau XI** : Analyse de la variance du plan Box Behnken étudié.

Paramètre	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Rapport f	P-value
Model	9	1088,9861	120,998	52,7051	0,0002*
Défaut d'ajustement	3	10,760317	3,58677	9,9842	0,0924
Erreur pure	2	0,718491	0,35925	/	/

### II.3.4 Effet des facteurs (coefficients)

Les P-value sont utilisées comme un outil pour vérifier la signification de chaque coefficient (facteur), et indiquent également l'intensité de l'interaction entre les paramètres étudiés. Plus la valeur de P-value est petite, plus la signification du coefficient correspondant est grande (**Chan et al., 2009**)(**Liu et al., 2010**).

Les résultats du calcul des coefficients de régression estimés, sont représentés dans le (**Tableau XII**).

**Tableau XII** : Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.

Termes	Estimation	Erreur standard	Rapport t	P-value
<b>Intercepte</b>	28,421333	0,874788	32,49	<,0001*
<b>Linéarité</b>				
<b>pH (4-6) X1</b>	-3,4456	0,535696	-6,43	0,0013*
<b>Température (25-35) X2</b>	-3,9858	0,535696	-7,44	0,0007*
<b>sulfate d'ammonium (0, 3 - 0,5) X3</b>	5,5334	0,535696	10,33	0,0001*
<b>Interactions</b>				
<b>pH*Température</b>	-7,9716	0,757589	-10,52	0,0001*
<b>pH*sulfate d'ammonium</b>	-4,1172	0,757589	-5,43	0,0029*
<b>Température*sulfate d'ammonium</b>	5,1976	0,757589	6,86	0,001*
<b>Quadratique</b>				
<b>pH*Ph</b>	-3,786267	0,788523	-4,8	0,0049*
<b>Température*Température</b>	-0,194667	0,788523	-0,25	0,8148
<b>sulfate d'ammonium*sulfate d'ammonium</b>	-6,385067	0,788523	-8,1	0,0005*

### ➤ Effet linéaire

Les résultats de la présente étude, montrent que les facteurs étudiés possèdent tous une influence significative sur le taux de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de la poudre de datte.

La concentration en sulfate d'ammonium possède l'impact le plus prononcé avec une P-value de l'ordre de  $P=0,0001$ , suivie respectivement par les facteurs température ( $P=0,0007$ ) et le potentiel d'hydrogène ( $P=0,0013$ ).

L'importance des facteurs (potentiel d'hydrogène, la température et la concentration en sulfate d'ammonium) dans l'efficacité de la production d'alcool et la croissance microbienne a été démontrée par plusieurs études (**Dieudonné et al., 2009; Gupta et al., 2009**).

### ➤ Effet quadratique

Les résultats obtenus montrent l'existence de deux effets quadratiques influençant significativement le taux de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de la poudre de datte.

L'effet quadratique le plus exprimé est représenté par l'effet de  $X_3X_3$  (sulfate d'ammonium-sulfate d'ammonium) avec une probabilité de l'ordre de  $p=0.0005$  inférieur à 0.05, suivi par l'effet quadratique  $X_1X_1$  (pH-pH) avec des probabilités de l'ordre de  $p=0.0049$ .

Les résultats obtenus montrent également, que l'effet quadratique  $X_2X_2$  (température – température) est non significatifs avec des probabilités  $P > 0.05$ .

### ➤ Effet d'interaction

Les résultats de l'étude des interactions des trois variables ( $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ ) montrent l'existence de trois interactions significative sur le taux de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de la poudre de datte.

L'interaction  $X_1X_2$  (pH-Température) est la plus significative avec une probabilité de l'ordre  $P=0.0001$ , suivie par l'interaction  $X_2X_3$  (Température-sulfate d'ammonium) avec une probabilité de l'ordre de 0.001.

## II.3.4. Analyse du modèle mathématique

Dans l'absolu, le choix d'un plan d'expérience n'a pas de sens tant qu'il n'est pas subordonné au choix préalable d'un modèle mathématique. Les modèles les plus classiques sont les modèles polynomiaux, le plus souvent de degré inférieur ou égal à deux (Tinsson, 2010).

Le modèle mathématique postulé utilisé avec le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est un modèle du second degré classique, volontairement simplifié par élimination des effets d'interactions jugés non significatifs dans l'analyse, ce qui permettra de manipuler plus facilement cette expression réduite tout en gardant une qualité d'ajustement quasiment similaire (Tinsson, 2010).

D'après les résultats de l'étude, les valeurs des coefficients significatifs et la fonction qui régit le taux de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de la poudre de datte, sont alors bien connues. Le modèle mathématique du plan Box-Behnken de la présente étude peut être représenté par la relation suivante :

$$Y = 28,421333 - 3,4456X_1 - 3,9858X_2 + 5,5334X_3 - 7,9716X_1X_2 - 4,1172X_1X_3 + 5,1976X_2X_3 - 3,786267X_1^2 - 6,385067X_3^2$$

### II.3.5. Paramètres optimaux

Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux complet peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparaît que les conditions expérimentales optimales, c'est-à-dire celles conduisant à une maximisation de taux de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de la poudre de datte, sont obtenues au sein du domaine expérimental.

Les conditions d'extractions optimales identifiées, par l'utilisation du logiciel JMP, sont représentées dans le (**Tableau XIII**).

**Tableau XIII:** Conditions critiques et maximales de production d'alcool par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de la poudre de datte.

Variabes	Valeurs critiques	Valeurs maximales
Potentiel Hydrogène (4-6)	4,752029	4,067
Température (25°C-35°C)	28,092218	34,83
sulfate d'ammonium (0,3%-0,5%)	0,4357958	0,4967
Taux d'alcool (g/L)	30,599303	39,44286

## II.4. Optimisation de production d'acide acétique par le Box-Behnken

### II.4.1. Analyse des résultats d'application de Plan d'expérience Box-Behnken

L'optimisation de la production d'acide acétique est réalisée en utilisant le plan de Box-Behnken, qui consiste en l'étude de trois facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ ) à trois niveaux (-1, 0, 1).

Les résultats obtenus, des expériences du plan Box-Behnken (BBD) sont représentés dans le (**Tableau XIV**).

**Tableau XIV:** Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan BBD.

N° d'essais	ph	T (°C)	C <sub>IAA</sub> (%)	Acide acétique (g/L)	
				Valeurs réelles	Valeurs prédites
1	4	30	3	<b>40,44026</b>	<b>39,72391</b>
2	5	30	2	<b>47,8548</b>	<b>48,82962</b>
3	5	25	1	<b>51,07466</b>	<b>51,8980875</b>
4	5	35	1	<b>30,83976</b>	<b>30,9542275</b>
5	6	35	2	<b>37,04316</b>	<b>36,2123475</b>
6	5	25	3	<b>48,71146</b>	<b>48,5969925</b>
7	5	30	2	<b>51,16328</b>	<b>48,82962</b>
8	4	35	2	<b>24,25234</b>	<b>25,7921125</b>
9	5	30	2	<b>47,47078</b>	<b>48,82962</b>
10	5	35	3	<b>34,67996</b>	<b>33,8565325</b>
11	4	25	2	<b>49,53858</b>	<b>50,3693925</b>
12	6	30	1	<b>42,89208</b>	<b>43,608425</b>
13	4	30	1	<b>50,48386</b>	<b>48,82962</b>
14	6	25	2	<b>48,85916</b>	<b>47,3193875</b>
15	6	30	3	<b>50,6611</b>	<b>52,31534</b>

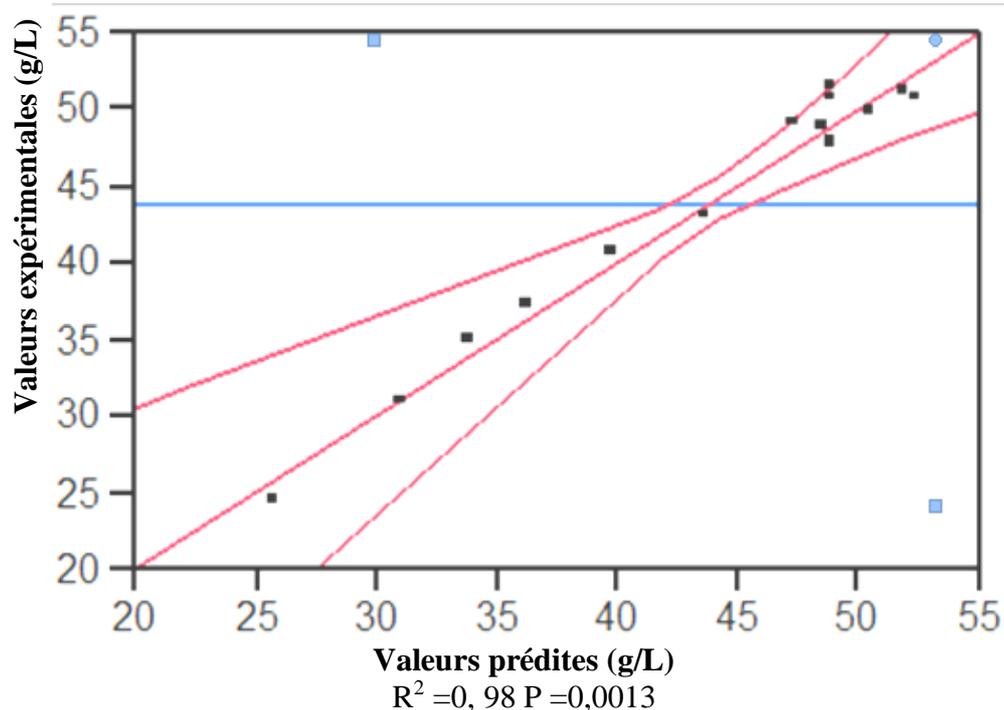
La présente étude exprime la variation de taux production d'acide acétique par une bactérie acétique qui est entre 24,25234 à 51,16328 (g/L), cela confirme l'influence des paramètres optimisés (le potentiel d'hydrogène, la température et la concentration initial en acide acétique) sur la production de vinaigre. (Gao, 2020; Guessan *et al.*, 2020; Novelina *et al.*, 2019).

Les résultats obtenus de l'analyse effectuée montrent que les valeurs prédites par le BBD ainsi que les valeurs réelles sont proches et s'accordent avec les résultats bibliographiques (Ould El Hadj *et al.*, 2001; Z. Wang *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2017).

## II.4.2. Validation du model

### ➤ Coefficient de détermination ( $R^2$ )

Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) du model est égal à 0.98, ce qui signifie qu'uniquement 2% des variations ne sont pas expliquées par le model. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajusté est de l'ordre de  $R^2$  ajusté = 0.937, ce qui est assez élevée pour confirmer la haute significativité du model, sachant que le  $R^2$  ajusté représente la valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) après élimination des termes (coefficients) inutiles du model.



**Figure N°IV:** Plan de prédiction réelle de l'acide acétique produit.

### ➤ Model global et manque d'ajustement

L'analyse de la variance de la régression (**tableau XV**) montre une valeur significative de P-value du model est égal à 0.00013 et un défaut d'ajustement d'ordre 0.9918 qui n'est pas significatif ( $P > 0,05$ ) par rapport à l'erreur pure, ce modèle est donc accepté.

**Tableau XV:** Analyse de la variance du plan Box Behnken étudié.

Paramètre	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Rapport f	P-value
Model	9	980,1546	108,906	24,4773	0,0013*
Défaut d'ajustement	3	14,003889	4,66796	1,1326	0,5006
Erreur pure	2	8,242446	4,12128	/	/

### II.4.3. Effet des facteurs (coefficients)

L'étude de la signification des facteurs est faite par l'étude des P-value et Les coefficients de régression estimés représentés dans le (Tableau XVI).

**Tableau XVI :** Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.

Termes	Estimation	Erreur standard	Rapport t	P-value
<b>Intercepte</b>	48.829603	1.217821	40.10	<0,0001*
<b>Linéarité</b>				
<b>pH (4-6)</b>	1.8425575	0.74576	2.47	0.0565
<b>Température (25-35)</b>	-8.92108	0.74576	-11.96	<0.0001*
<b>C<sub>AAI</sub> (1-3)</b>	-0.099697	0.74576	-0.13	0.8989
<b>Interactions</b>				
<b>pH*Température</b>	-3.36756	1.054664	3.19	0.0242*
<b>pH*C<sub>AAI</sub></b>	4.453155	1.054664	4.22	0.0083*
<b>Température*C<sub>AAI</sub></b>	1.55085	1.054664	1.47	0.2014
<b>Quadratique</b>				
<b>pH*Ph</b>	-2.056714	1.09772	-1.87	0.1199
<b>Température*Température</b>	-6.849579	1.09772	-6.24	0.0015*
<b>CAAI*CAAI</b>	-0.653564	1.09772	-0.60	0.5775

#### ➤ Effet linéaire

L'étude fait, montrent que parmi les trois facteurs étudiés seulement la température possède une influence significative sur le taux de production d'acide acétique avec une P-value de  $P < 0.0001$ .

L'importance de la température dans l'efficacité de la production d'acide acétique et la croissance de cette espèce a été démontrée par plusieurs études (Ohmori *et al.*, 1980; Ory et Romero, 1998; Kang *et al.*, 2006; Sharafi *et al.*, 2010).

#### ➤ Effet quadratique

Les résultats obtenus montrent seulement l'effet quadratiques  $X_2X_2$  (température-température) avec une probabilité de l'ordre de  $p = 0.0005$  inférieur à 0.05 influence significativement le taux de production de vinaigre a partir d'éthanol de datte. Cependant, les effets quadratiques  $X_1X_1$  (pH-pH) et  $X_3X_3$  ( $C_{AAI} - C_{AAI}$ ) n'ont pas d'effet significatif, avec des probabilités  $P > 0.05$  qui sont respectivement 0.1199 et 0.5775.

#### ➤ Effet d'interaction

Les résultats de l'étude des interactions des trois variables ( $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ ) montrent l'existence de deux interactions significative sur le taux de production d'acide acétique, L'interaction  $X_1X_3$  (pH- $C_{AAI}$ ) qui plus significative avec une probabilité de l'ordre  $P = 0.0083$ , suivie par l'interaction  $X_1X_2$  (pH-température) avec une probabilité de l'ordre de 0.0242.

### II.4.4. Analyse du modèle mathématique

D'après les résultats de l'étude, les valeurs des coefficients significatifs et la fonction qui régit le taux de production d'acide acétique par une bactérie acétique appartiennent à l'espèce *acétobacter sp* par la bioconversion de bioéthanol, le modèle thématique de la réponse sur les trois variables est exprimé par la formule suivante :

$$Y = 48.829603 - 8.92108X_2 - 3.36756 X_1X_2 + 4.453155 X_1X_3 - 6.849579 X_2^2$$

### II.4.5. Paramètres optimaux

Cette étude montre qu'un model polynomial d'ordre deux complet peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparait que les conditions expérimentales optimales, c'est -à-dire celles conduisant à une maximisation de taux de production d'acide acétique, sont obtenues au sein du domaine expérimental.

Les conditions d'extractions optimales identifiées, par l'utilisation du logiciel JMP, sont représentées dans le (**Tableau XVII**).

**Tableau XVII** : Conditions critiques et maximales de production d'acide acétique.

Variabiles	Valeurs critiques	Valeurs maximales
Potentiel Hydrogène (4-6)	5,2931262	4,28
Température (25°C-35°C)	27.258013	25,33
C <sub>AAI</sub> (1%-3%)	2.2717078	1,02
Taux d'acide acétique (g/L)	51,532271	55,81

# *Conclusion*

### Conclusion

Le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L., est parmi les plus anciens arbres cultivés dans les régions sahariennes, où il représente une importance socio-économique.

L'Algérie est parmi les grands producteurs mondiaux des dattes, dont environ un tiers de la production est représenté par des variétés à faible valeurs marchandes d'où la nécessité de les valoriser pour donner de nouveaux produits capable de diminuer les pertes économiques colossales.

L'objectif de l'étude vise à valoriser la variété de datte *Mech-Degla*, pour produire du vinaigre de datte en utilisant les procédés fermentaires.

Les analyses physicochimiques de la poudre de datte ont révélés sa richesse en éléments nutritifs tel que : les sucres, les protéines, et les éléments minéraux, ce qui la rend un sous produit de bon choix pour la valorisation.

Les résultats obtenus, de l'application du plan Box-Behenken pour l'optimisation de la production de l'acide acétique a partir de la poudre de dattes étudiée, ont révélés :

- L'importance des facteurs (le pH, la température et la concentration en sulfate d'ammonium) dans l'efficacité de la production d'alcool ;
- Parmi les trois facteurs étudiés seulement la température possède une influence significative sur le taux de production d'acide acétique ;
- Le taux maximal d'alcool est produit avec une température (34,8°C), un pH de 4,06 et une concentration en sulfate d'ammonium de 0,49% ;avec 1g/50mL de *S.cervisiae*.
- Le taux maximal de production d'acide acétique est obtenu avec une température (25,33°C), un pH de 4,28 et une concentration initiale en acide acétique (1,02 %) par 1mL d'inoculum d'*Acétobacter sp.*

Les résultats obtenus de la présente étude, ont permet de retenir que les dattes utilisés peuvent être une pièce motrice dans certains productions alimentaires notamment la production du vinaigre. Afin d'améliorer la présente étude, et dans le but de le compléter, il serait intéressant d'envisager :

- Une recherche d'autre souche productrice d'alcool ;
- Une recherche et purification des bactéries acétiques ; *Gluconobacter sp*, *Acétobacter suboxydant*...
- D'étudier d'autres facteurs qui peuvent influence la production d'alcool et de l'acide acétique, à savoir le taux d'oxygénation.

# *Références bibliographiques*

### Références bibliographiques

- Acourène, S., & Tama, M. (2001). Utilisation des {Dattes} de {Faible} {Valeur} {Marchande} ({Rebuts} de {Deglet}-{Nour}, {Tinissine} et {Tantboucht}) {Comme} {Substrat} pour la {Fabrication} de la {Levure} {Boulangère}. *Revue Des Energies Renouvelables : Production et Valorisation - Biomasse*, 1–10. [http://www.cder.dz/download/bio\\_1.pdf](http://www.cder.dz/download/bio_1.pdf)
- Acourene, S., Ammouche, A., & Djaafri, K. (2008). Valorisation des rebuts de dattes par la production de la levure boulangère, de l'alcool et du vinaigre. *Sciences & Technologie C*, 28, 38–45.
- Acourene, Said, Kaotrher, D., Ahmed, B., Brahim1, T. M. and T., & 1Station. (2014). Dates Quality Assessment of the Main Date Palm Cultivars Grown in Algeria. *Annual Research & Review in Biology*, 4(3), 487–499. <https://doi.org/10.9734/arrb/2014/5009>
- AFNOR. (1981). *Méthodes d'essai. Recueil des normes françaises.*
- AFNOR. (1986). *Association Francaise de Normalisation. Controle de La qualite des prodits Laitiers, Analyses physiques et chimiques.*
- Ait Aneur, L. (2001). *Analyse du processus de diffusion des sucres, des acides organiques et de l'acide ascorbique dans le système : Mech-Degla/Jus de citron.* Université de Boumerdes.
- Al-Khayri, J. M., Jain, S. M., & Johnson, D. V. (2015). Date palm genetic resources and utilization: Volume 1: Africa and the Americas. In *Date Palm Genetic Resources and Utilization: Volume 1: Africa and the Americas* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9694-1>
- Al-Shahib, W., & Marshall, R. J. (2003). The fruit of the date palm: Its possible use as the best food for the future? *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54(4), 247–259. <https://doi.org/10.1080/09637480120091982>
- Alhamdan, A. M., & Hassan, B. H. (1999). Water sorption isotherms of date pastes as influenced by date cultivar and storage temperature. *Journal of Food Engineering*, 39(3), 301–306. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(98\)00170-8](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(98)00170-8)
- Alhamed, Y. A., & Bamufleh, H. S. (2009). Sulfur removal from model diesel fuel using granular activated carbon from dates' stones activated by ZnCl<sub>2</sub>. *Fuel*, 88(1), 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2008.07.019>
- Alio, M. A. (2021). *Production de bioéthanol à partir d ' une biomasse lignocellulosique multi-ressources locale par prétraitement Organosolv et hydrolyse enzymatique Maarouf Abdou Alio To cite this version : HAL Id : tel-03218925 Université Clermont Auvergne École Doctorale.*
- BABAHANI, S., & EDDOUD, A. G. (2012). effet de la temperature sur l'évolution des fruits chez quelques variétés du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) €. 2(1), 36–41.

## Listes des références

---

- Hajar Bahry. Valorisation de la mélasse de caroube par une approche bioraffinerie. Génie des procédés. Université libanaise, 2017. Français. NNT : 2017CLFAC070 . tel-03081139 HAL.
- Banat, F., Al-Asheh, S., & Al-Makhadmeh, L. (2003). Evaluation of the use of raw and activated date pits as potential adsorbents for dye containing waters. *Process Biochemistry*, 39(2), 193–202. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00065-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00065-7)
- Benahmed, D. A., Nabil, S., Abdelhakim, M., & Salem, B. (2013). Pharmacological and biological properties of a mixture of date powders (MECH-DEGLA) and Spirulina. *The Macrotheme Review*, 2(1), 310–320.
- Benchelah, A. C., & Maka, M. (2008). Les dattes: Intérêt en nutrition. *Phytotherapie*, 6(2), 117–121. <https://doi.org/10.1007/s10298-008-0296-0>
- BENRIMA ,YEFSAH-IDRES, Aicha, BENRIMA, Atika, HAMMOUCHI, Khoudir, *et al.* Essai De Valorisation De La Datte Mech-Degla Par Sa Substitution Au Sucre Blanc Dans La Formulation D'un Biscuit. *Revue Agrobiologia (2019)*, 2019, vol. 9, no 2, p. 1543-1559.
- Benselma, O., Ahmed, T., & Benmounah, A. (2016). *Valorisation des dattes pour la fabrication de tensioactifs non ioniques. 1*, 59–64.
- Bonnin-Jusserand, M., Grandvalet, C., David, V., & Alexandre, H. (2011). Molecular cloning, heterologous expression, and characterization of ornithine decarboxylase from *Oenococcus oeni*. *Journal of Food Protection*, 74(8), 1309–1314. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-466>
- BOOIJ, I. ., PIOMBO, G., RISTERUCCI, J., COUPE, M., & D. THOMAS et M . FERRY'b. (1992). *Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (Phoenix dactylifera L. )*.
- Bouchachia, S. (2019). *Valorization of Date Waste : Comparative Study between the Dry Variety of Dates Mech-Degla and the Must of Fermentation*. 1078–1089.
- Boucher, J. (2016). *Etude des possibilités de production d ' éthanol hémicellulosique dans le cadre d ' une bioraffinerie To cite this version : HAL Id : tel-01278355 Étude des possibilités de production d ' éthanol hémicellulosique dans le cadre d ' une bioraffinerie papeti*.
- Boudechiche, L., Araba A, C. A., R, O., & A, T. (2008). Etude de la composition chimique des rebuts de dattes et des principales variétés de dattes communes à faibles valeurs marchandes, en vue de leur utilisation en alimentation du bétail. *Livestock Research for Rural Development*, 20(6). <http://www.lrrd.org/lrrd20/6/boud20082.htm>
- Bouguedoura, N., Bennaceur, M., Babahani, S., & Benziouche, S. E. (2015). Date Palm Status and Perspective in Algeria. *Date Palm Genetic Resources and Utilization: Volume 1: Africa and the Americas*, 125–168. <https://doi.org/10.1007/978-94-017->

9694-1\_4

- Boukhalfa, F., Kadri, N., Bouchemel, S., Ait Cheikh, S., Chebout, I., Madani, K., & Chibane, M. (2018). Antioxidant activity and Hypolipidemic effect of *Ficus carica* leaf and twig extracts in Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 11(1), 37–50. <https://doi.org/10.3233/MNM-17180>
- Boukhiar, A. (2009). *Analyse du processus traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes tel qu'appliqué au sud algérien : essai d'optimisation*. Université M'Hamed Bougara. Boumerdés.
- Boulal, A., Benali, B., & Touzi, M. M. et A. (2010). Transformation des déchets de dattes de la région d'Adrar en bioéthanol. *Revue Des Energies Renouvelabl Es*, Vol. 13(N°3 (2010)), 455 – 463. <https://docplayer.fr/21551274-Transformation-des-dechets-de-dattes-de-la-region-d-adrar-en-bioethanol.html>
- Boulal, Ahmed, Mostefa, K., & Kamel, K. (2018). *Procèdes expérimentales sur la production de bioéthanol de deuxième génération à partir des sous- produits des palmiers dattiers*. 1–6.
- Breuil, C., & Saddler, J. N. (1985). Comparison of the 3,5-dinitrosalicylic acid and Nelson-Somogyi methods of assaying for reducing sugars and determining cellulase activity. *Enzyme and Microbial Technology*, 7(7), 327–332. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(85\)90111-5](https://doi.org/10.1016/0141-0229(85)90111-5)
- Canilha, L., Chandel, A. K., Suzane Dos Santos Milessi, T., Antunes, F. A. F., Luiz Da Costa Freitas, W., Das Graças Almeida Felipe, M., & Da Silva, S. S. (2012). Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: An overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/989572>
- Chan, S., Lee, C., & Yap, C. (2009). Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques des écorces de limau purut (*Citrus hystrix*). *Cuisine Internationale*. <http://mymedr.afpm.org.my/publications/46339>
- Chao, C. C. T., & Krueger, R. R. (2007). The date palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of biology, uses, and cultivation. *HortScience*, 42(5), 1077–1082. <https://doi.org/10.21273/hortsci.42.5.1077>
- Charoenchai, C., et Fleet, G. H., & et Henschke, P. A. (1998). Effets de la température, du pH et de la concentration en sucre sur les taux de croissance et la biomasse cellulaire des levures œnologiques. *American Journal of Oenology and Viticulture*, 49(3), 283–288.
- Cheesbrough, M. (1981). *Manuel de laboratoire médical pour les pays tropicaux*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19822900483>

## Listes des références

---

- CHeikhi, L., Bouallala, M., W, B., & Iddou, A. (2021). caractéristique de quelques variétés de dattes consommées dans la région d'Alouf( ADRAR). *June*.
- Chibane, H. A. nee. (2008). *Aptitudes technologique de quelques variétés communes de dattes: formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé*. <https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=47790/>
- Chibi, S., & Hadi, D. El. (2019). *The isolation and characterization of yeast strains saccharomyces cerevisiae cultivated on musts of common dates: Physiological studies of the adaptation and the resistance to ethanol*. 5, 937–946.
- Darvishi, F., & Moghaddami, N. A. (2019). Optimization of an industrial medium from molasses for bioethanol production using the Taguchi statistical experimental-design method. *Fermentation*, 5(1). <https://doi.org/10.3390/fermentation5010014>
- Denimal, E. (2018). *l ' étude des gradients : Applications à l ' agroalimentaire*.
- Dieudonné, N., Cécile, O., & Emile, K. (2009). Optimisation de la production d'éthanol par les techniques d'hydrolyse de l'amidon de manioc et la fermentation de la levure de bière ( *Saccharomyces cerevisiae* ). *Journal of the Cameroon Academy of Sciences*, 8(1), 3-10–10.
- Djafri, K., Khemissat, E., Bergouia, M., & Hafouda, S. (2020). *Valorisation technologique des dattes de faible valeur marchande par la production du sirop Le palmier dattier ( Phoenix dactylifera L .) est la plus importante culture des zones arides et semi-arides et constitue le moteur de l ' économie agricole des ré. 19*, 97–114.
- DJERBI, M. (1994). Précis de phéniculture. *F.A.O, Rome*, 192.
- Dragone, G., & Silva, D. P. (2004). *Factors influencing ethanol production rates at high-gravity brewing*. 37, 797–802. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.006>
- Du Bois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., & Rebers, P. t., & S. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356.
- EJEMNI., M., & MEJRIS., S. (2006). valorisation des écarts de triage de dattes .cas d'application: production biologique du vinaigre *Fermentation alcoolique*. 861–870.
- El Arem, A., Flamini, G., Behija, S. E., Manel, I., Nesrine, Z., Ali, F., Mohamed, H., Noureddine, H. A., & Lotfi, A. (2011). Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) fruits at three maturation stages. *Food Chemistry*, 127(4), 1744–1754. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.051>
- El Nemr, A., Khaled, A., Abdelwahab, O., & El-Sikaily, A. (2008). Treatment of wastewater containing toxic chromium using new activated carbon developed from date palm seed. *Journal of Hazardous Materials*, 152(1), 263–275. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.091>

## Listes des références

---

- Embuscado, M. E., Marks, J. S., & Bemiller, J. N. (1994). by *Acetobacter xylinum*. *Food Hydrocolloids*, 8(5), 407–418. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80084-2](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80084-2)
- Episard, E. (2002). Introduction à la transformation industrielles des fruits. *Techniques et Documentation, Paris, New York*, 56–84.
- Ercan, Y., Irfan, T., & Mustafa, K. (2012). Bioresource Technology Optimization of ethanol production from carob pod extract using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells in a stirred tank bioreactor. *BIORESOURTE TECHNOLOGY*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.006>
- Estanove, P. (1990). *Note technique : Valorisation de la datte*.
- Estienne, E. (2002). Datte et figue. In L. Lavoisier Tec et (Ed.), *Introduction à la transformation industrielle desFruits* (pp. 147–159).
- Fei, C. Y., Salimon, J., & Said, M. (2010). Optimisation of urea complexation by box-behken design. *Sains Malaysiana*, 39(5), 795–803.
- Follman, H. (1983). “Acetic acid.” *H.J. Rehm and G.Reed Editors*, 5, 388–407.
- G. D. BROWN, & RAINBOW, C. (1956). Modèles nutritionnels chez les bacacétiquestéries. *Microbiologie*, 15(1), 61–69.
- Gao, L. (2020). *Fine-tuning ethanol oxidation pathway enzymes and cofactor PQQ coordinates the con fl ict between fi tness and acetic acid production by Acetobacter pasteurianus*. 2018. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13703>
- Germec, M., Turhan, I., Karhan, M., & Demirci, A. (2015). Ethanol production via repeated-batch fermentation from carob pod extract by using *Saccharomyces cerevisiae* in biofilm reactor. *FUEL*, 161, 304–311. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.08.060>
- Goupy, J. (2006). Les plans d’expériences. *Revue Modulad*, 34, 74–116.
- Granato, D., Branco, G. F., & de Araújo Calado, V. M. (2010). WITHDRAWN: Experimental design and application of response surface methodology for process modelling and optimization: A review. *Food Research International*, 9969. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.008>
- Guessan, Y. D. N., Akpa, E. E., Ouattara, H., & Akoa, E. E. (2020). *Vinegar production trial from cashew apple ( Anacardium occidentale ) using thermo- tolerant Acetobacter strains with high acetic acid yield in non - optimized small scale conditions*. 1(3), 107–119.
- Gullo, M., & Giudici, P. (2008). Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. *International Journal of Food Microbiology*, 125(1), 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.076>

## Listes des références

---

- Gupta, R., Sharma, K. K., & Kuhad, R. C. (2009). Separate hydrolysis and fermentation (SHF) of *Prosopis juliflora*, a woody substrate, for the production of cellulosic ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*-NCIM 3498. *Bioresource Technology*, 100(3), 1214–1220. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.08.033>
- Haimour, N. M., & Emeish, S. (2006). Utilization of date stones for production of activated carbon using phosphoric acid. *Waste Management*, 26(6), 651–660. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.08.004>
- Harrak., H., A., H., & F., B. M. et G. (2005). *Teneur en sucres et qualités technologique et nutritionnelle des principales variétés de dattes marocaines Harrak H., Hamouda A., Boujnah M. et Gaboune F.* 108–115.
- Harrak, A., & Chetto, A. (2001). *Valorisation et Commercialisation des dattes au Maroc* (INRA (ed.)).
- Hector, R. E., Mertens, J. A., Bowman, M. J., N., N. N., Cotta, M. A., & Hughes, and S. R. (2012). *Saccharomyces cerevisiae* engineered for xylose metabolism requires gluconeogenesis and the oxidative branch of the pentose phosphate pathway for aerobic xylose assimilation. *Yeast*, August, 191–198. <https://doi.org/10.1002/yea>
- Johnston, C. S., & Gaas, C. A. (2006). Vinegar: Medicinal Uses and Antiglycemic Effect. *Medscape General Medicine*, 8(2), 61. [/pmc/articles/PMC1785201/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1785201/)
- Kacem-Chaouche, N., Dehimat, L., Z, M., J, D., K, K., & Ph, T. (2013). Decommissioned dates: chemical composition and fermentation substrate for the production of extracellular catalase by an *Aspergillus phoenicis* mutant. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 4(1), 41–47. <https://doi.org/10.5251/abjna.2013.4.1.41.47>
- Kadere, T. T., Miyamoto, T., Oniang'O, R. K., Kutima, P. M., & Njoroge, S. M. (2008). Isolation and identification of the genera *Acetobacter* and *Gluconobacter* in coconut toddy (mnazi). *African Journal of Biotechnology*, 7(16), 2963–2971. <https://doi.org/10.4314/ajb.v7i16.59210>
- Kaidi, F., & Touzi, A. (2001). Production de Bioalcool à Partir des Déchets de Dattes. *Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse*, 75–78.
- Kang, S.-K., Jang, M.-J., & Kim, Y.-D. (2006). Isolation and culture conditions of *Acetobacter* sp for the production of Citron (*Citrus junos*) vinegar. In *The Korean Society of Food Preservation* (Vol. 13, Issue 3, pp. 357–362).
- Katti, A., Bellankimath, A., Meti, B. S., & Hemalata, V. B. (2017). Isolation and Characterisation of the Indigenous Acetic Acid Bacteria from Western Ghats Soil Samples. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(9), 1255–1265. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.151>
- Khusna, A., Prastujati, A. U., Setiadevi, S., Hilmi, M., & Damayanti, M. (2019). Isolation and identification of *Acetobacter* sp. from pineapple (*Ananas comosus* L.) as nata starter. *Journal of World's Poultry Research*, 9(4), 187–195. <https://doi.org/10.36380/JWPR.2019.23>

## Listes des références

---

- Kjeldahl, J. (1889). A new method for the determination of nitrogen in organic matter. *Zeitschrift Für Analytische Chemie*, 22(1), 366–382.
- Klawpiyapamornkun, T., Bovonsombut, S., & Bovonsombut, S. (2015). Isolation and Characterization of Acetic acid Bacteria from Fruits and Fermented fruit juices for Vinegar Production. *Food and Applied Bioscience Journal*, 3(1), 30–38.
- Kowser, J., Aziz, M., & Uddin, M. (2016). Isolation and characterization of *Acetobacter aceti* from rotten papaya. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 13(2), 299–306. <https://doi.org/10.3329/jbau.v13i2.28802>
- Krueger, R. (2021). Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) Biologie et utilisation. *Dans Le Génome Du Palmier Dattier*, 1, 3–28.
- Lin, Y., & Tanaka, S. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: Current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(6), 627–642. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0229-x>
- Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S., & Kong, H. (2014). Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass and Bioenergy*, 47, 395–401. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.09.019>
- Liu, J., Takada, R., Karita, S., Watanabe, T., Honda, Y., & Watanabe, T. (2010). Microwave-assisted pretreatment of recalcitrant softwood in aqueous glycerol. *Bioresource Technology*, 101(23), 9355–9360. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.023>
- Mas, A., Torija, M. J., García-Parrilla, M. D. C., & Troncoso, A. M. (2014). Acetic acid bacteria and the production and quality of wine vinegar. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/394671>
- Md.Arifuzzaman, 1, Hasan, M. Z., 2, Rahman, S. M. B., 1, Pramanik, M. K., & 2\*. (2014). *Isolation and characterization of Acetobacter and Gluconobacter spp from sugarcane and rotten fruits. January.*
- Menzel, U., & Gottschalk, G. (1985). *Hicrobiologie during growth and production of acetic acid*. 2, 47–51.
- Monard, D., Hütter, R., & Ettliger, L. (1967). Auxotrophie dictée par la source d'énergie chez *Acetobacter aceti*. *Pathobiology*, 30(6), 966–971.
- Morales, M. L., Tesfaye, W., Carmen García-Parrilla, M., Casas, J. A., & Troncoso, A. M. (2002). Evolution of the aroma profile of sherry wine vinegars during an experimental aging in wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3173–3178. <https://doi.org/10.1021/jf011313w>

## Listes des références

---

- Mounir, M., Belgire, M., Lahnaoui, S., Hamouda, A., Thonart, P., Delvigne, F., & Alaoui, M. I. (2016). *Maîtrise de la fermentation alcoolique sous stress éthanolique, thermique et osmotique de la souche Saccharomyces cerevisiae YS- DNI en vue de la préparation du vinaigre de fruits*. 86–95.
- Munier, P. (1965). *Le palmier-dattier, producteur de sucre*. 2, 7–10.
- Munier, P. (1973). *LE PAYS DE DILMOU N*.
- Munier, P. (1981). Origine de la culture du palmier-dattier et sa propagation en Afrique : notes historiques sur les principales palmeraies africaines. *Fruits*, 36(7–8), 437–450.
- Nancy, N. (2008). *Etude des interactions entre Saccharomyces cerevisiae et Oenococcus oeni : impact sur la réalisation de la fermentation malolactique en cultures séquentielles et mixtes*. 307.
- Natera, R., Castro, R., De Valme García-Moreno, M., Hernández, M. J., & García-Barroso, C. (2003). Chemometric studies of vinegars from different raw materials and processes of production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3345–3351. <https://doi.org/10.1021/jf021180u>
- Noui, Y., Lekbir, A., Chibane, H. A., Smail, B., & Ibrir, I. (2019). Physicochemical Characterization of the Mixed Fruit Juice (Orange, Apricot) Using Date Fruit Extract As a Sweetener. *Annals: Food Science & Technology*, 20(3), 415–419. <https://hau.idm.oclc.org/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fsr&AN=139778478&site=ehost-live&scope=site>
- Noui, Y., Lombarkia, O. A., Bekrar, A., & Amellal, H. C., & Lekbir, A. (2015). CARACTÉRISTIQUES QUALITÉ ET ÉVALUATION SENSORIELLE DES CONFITURES D'ABRICOTS À BASE DE PRODUITS DE PALMIER DATTIER (SIROP). *JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 7(2).  
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=20666845&AN=108326336&h=taJCzn8YZTbzV8XfIZFhMTmwPtjLGKCdb7nvA0u75kLMA53YkxaYughl%2B8XU87GxcVfr%2F%2Fr9A2xd%2FMexA9IPqw%3D%3D&crl=c>
- Novelina, Nazir, N., Fiana, R. M., & Putra, D. P. (2019). Characteristics of Black Glutinous Rice Vinegar as Traditionally Fermented Product of Yeast Tapai and Acetobacter aceti. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 347(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/347/1/012049>
- Ohmori, S., Masai, H., Arima, K., & Beppu, T. (1980). Isolation and identification of acetic acid bacteria for submerged acetic acid fermentation at high temperature. *Agricultural and Biological Chemistry*, 44(12), 2901–2906. <https://doi.org/10.1080/00021369.1980.10864432>
- OIWOH, O., BV, A., & AMENAGHAWON, NA; OKIEIMEN, C. (2017). *Optimization of bioethanol production from simultaneous saccharification and fermentation of pineapple peels using Saccharomyces cerevisiae*. 5386.

## Listes des références

---

- Ory, I. De, & Romero, L. E. (1998). *Modelling the kinetics of growth of Acetobacter aceti in discontinuous culture : influence of the temperature of operation*. 189–193.
- Ould El Hadj, M. D., E, A. H. S., & Département, O. S. (2001). Qualité hygiénique et caractéristiques physico-chimiques du vinaigre traditionnel de Ouargla. *Article. Université de Ouargla*, 6, 87–92.
- Ould ELHadj, M. D., Z., B., & O, S. (2006). Etude De La Production De Levure Boulangere (Saccharomyces Cerevisiae) Cultivee Sur Mout De Rebut De Dattes Product Engineering of Yeast Baker (Saccharomyces Cerevisiae) Cultivated on Must of Dates Rejects. *Courrier Du Savoir*, 7, 13–18.
- Pochat-Bohatier, C., Bohatier, C., & Ghommidh, C. (2000). Modeling the kinetics of growth of acetic acid bacteria to increase vinegar production: analogy with mechanical modeling. *Fourteenth International Symposium of Mathematical Theory of Networks and Systems*.
- Raspor, P., & Goranovič, D. (2008). Biotechnological applications of acetic acid bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(2), 101–124. <https://doi.org/10.1080/07388550802046749>
- Rennes, D. E., De, D., Rennes, D. E., Mati, S. D. La, & Chimiques, S. (2015). *Sofien CHNITI Optimisation de la bioproduction d ' éthanol par valorisation des refus de l ' industrie de conditionnement des dattes*.
- Roukas, T. (2009). *Ethanol production from carob pods by Saccharomyces cerevisiae. February 2014*, 37–41. <https://doi.org/10.1080/08905439309549854>
- Shafaghat, H., Najafpour, G. D., Rezaei, P. S., & Sharifzadeh, M. (2010). Optimizacija rasta saccharomyces cerevisiae (ptcc 24860) na pretretiranoj melasi za proizvodnju etanola primenom metode odzivne površine. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 16(2), 199–206. <https://doi.org/10.2298/CICEQ100201029S>
- Sharafi, S., Rasooli I, & Beheshti-Maal. (2010). Isolation, characterization and optimization of indigenous acetic acid bacteria and evaluation of their preservation methods. *Journal Iranien de Microbiologie*, 2(1), 38–45. [www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk)
- Sievers, M., & Swings, J. (2015). *Beijerinck 1898*, 215. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00876>.
- Tajini, F., Bouali, Y., & Ouerghi, A. (2020). *Etude de la qualité nutritionnelle de fruit de Phoenix dactylifera L.: mesure des paramètres biochimiques. July*.
- TAKESHI ., T. Y. F. W., HAYASHI, S., & DOI, J. H. A. M. (1957). *RELATIONSHIPS AND AMONG AND YEASTS. 1(2)*.

## *Listes des références*

---

- Taylor, P., Saeki, A., Theeragool, G., Matsushita, K., & Toyama, H. (1997). *Development of Thermotolerant Acetic Acid Bacteria Useful for Vinegar Fermentation at Higher Temperatures Development of Thermotolerant Acetic Acid Bacteria Useful for Vinegar Fermentation at Higher Temperatures t. November 2014*, 37–41. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.138>
- Tesfaye, W., Morales, M. L., García-Parrilla, M. C., & Troncoso, A. M. (2002). Wine vinegar: Technology, authenticity and quality evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, 13(1), 12–21. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00023-7)
- Thabet, I. Ben, Attia, H., Besbes, S., Deroanne, C., Francis, F., Drira, N., & Blecker, C. (2007). *Physicochemical and Functional Properties of Typical Tunisian Drink : Date Palm Sap ( Phoenix dactylifera L .)*. 76–82. <https://doi.org/10.1007/s11483-007-9033-8>
- Tinsson, W. (2010). *Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques* (Vol. 67). Springer Science & Business Media.
- Velázquez, J. B., Longo, E., Sieiro, C., Cansado, J., Calo, P., & Villa, T. G. (1991). Improvement of the alcoholic fermentation of grape juice with mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* wild strains. Negative effect of *Kloeckera apiculata*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 7(4), 485–489. <https://doi.org/10.1007/BF00303374>
- Verma, L., & Joshi, V. (2000). *Technologie post-récolte des fruits et légumes : concepts et principes généraux* (Vol. 1). Indus Publishing.
- Wang, B., Shao, Y., Chen, T., Chen, W., & Chen, F. (2015). Global insights into acetic acid resistance mechanisms and genetic stability of *Acetobacter pasteurianus* strains by comparative genomics. *Nature Publishing Group*, November, 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep18330>
- Wang, Z., Yan, M., Chen, X., Li, D., Qin, L., Li, Z., Yao, J., & Liang, X. (2013). Mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter pasteurianus* for acetic acid production. *Biochemical Engineering Journal*, 79, 41–45. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.06.019>
- Wei, V. Q., Hill, G. A., & Macdonald, D. G. (1999). *Bioremediation of Contaminated Air Using an External-Loop Airlift Bioreactor*. 1995.
- Wu, X., Yao, H., Cao, L., Zheng, Z., Chen, X., Zhang, M., Wei, Z., Cheng, J., Jiang, S., Pan, L., & Li, X. (2017). Improving acetic acid production by over-expressing PQQ-ADH in *acetobacter pasteurianus*. *Frontiers in Microbiology*, 8(SEP), 1713. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01713>
- Yue, G., Yu, J., Zhang, X., & Tan, T. (2010). The influence of nitrogen sources on ethanol production by yeast from concentrated sweet sorghum juice. *Biomass and Bioenergy*, 39, 48–52. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.08.041>

## *Listes des références*

---

- Zahoor, T., Siddique, F., & Farooq, U. (2006). Isolation and characterization of vinegar culture (*Acetobacter aceti*) from indigenous sources. *British Food Journal*, 108(6), 429–439. <https://doi.org/10.1108/00070700610668405>
- Zheng, Y., Zhang, R., Yin, H., Bai, X., Chang, Y., & Wang, M. (2017). *Acetobacter pasteurianus* metabolic change induced by initial acetic acid to adapt to acetic acid fermentation conditions. *iv*. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8453-8>
- Zohary, D., & Hopf, M. (2000). Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. *Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia, Europe and the Nile Valley.*, Ed.3.

**Annexe A : dosage des proteins méthode Bradfrd (1976)**

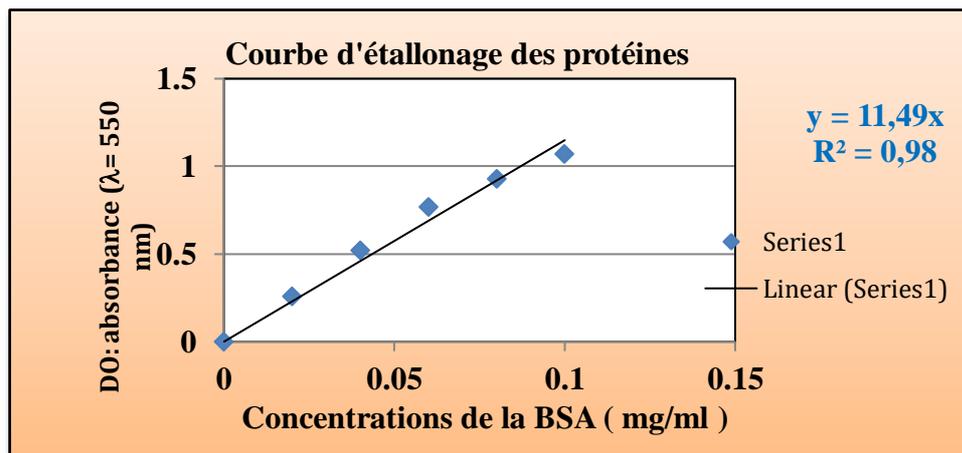
**1. préparation du réactif de Bradford (1976).**

- BBC G-250.....100 mg.
- Ethanol absolu .....50 ml.
- Acide phosphorique à 85%.....100 ml.
- Compléter à 1000 ml avec l'eau distillée.
- Conservation pendant 3 semaines à 4 °C et à l'abri de la lumière.

**2. la courbe d'étalonnage**

Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère de sérum albumine bovine (BSA) (1mg/1ml), le protocole suivie est résumer dans le tableau suivant.

Tube contenu	Blanc	1	2	3	4	5
<b>Eau distillée (µl)</b>	100	80	60	40	20	0
<b>Solution de BSA (µl)</b>	0	20	40	60	80	100
Réactif de Bradford	3ml					
Abs à 595nm						



Courbe d'étalonnage des protéines

**Annexe B : Dosage des sucres totaux méthode de DUBOIS(1956).**

**1. Composition des solutions CAREZ :**

➤ **la solution CAREZ I :**

- Acétate de zinc trihydraté.....23.8g.
- Acide acétique glaciale .....3g.
- Eau distillé.....100ml.

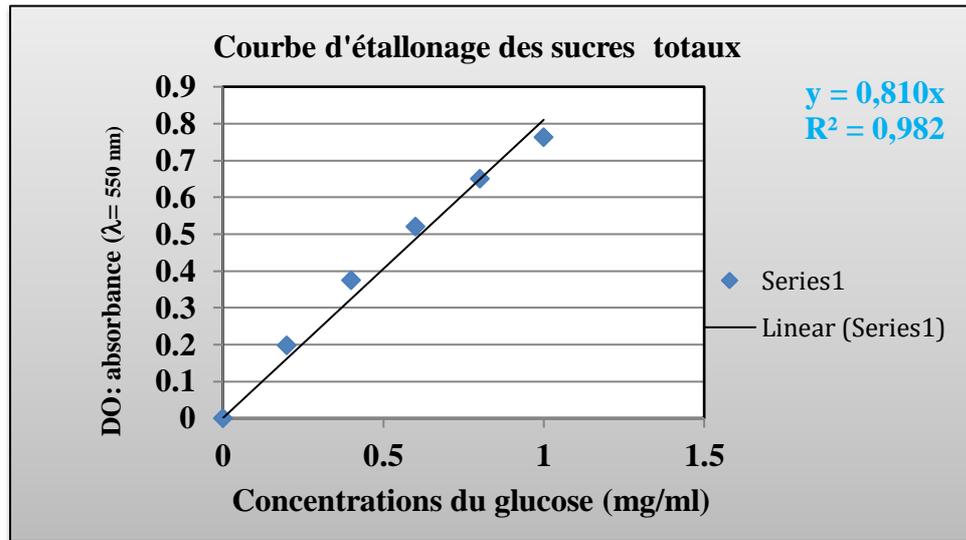
➤ **La solution CAREZ II :**

- Ferrocyanure de potassium.....10.6g.
- Eau distillé .....100ml.

**2. la courbe d'étalonnage**

Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère (1mg de Glucose / ml d'eau distillé), le protocole suivie est résumer dans le tableau suivant :

Tube	Blanc	1	2	3	4	5
Contenu						
Volume SM (ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Volume eau distillé (ml)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
Volume finale (ml)	1					
Volume phénol (ml)	1					
Volume H2SO4 (ml)	2					
Absorbance 550 nm						



Courbe d'étalonnage des sucres totaux

**Annexe C : Dosage des sucres réducteur (Miller, 1959).**

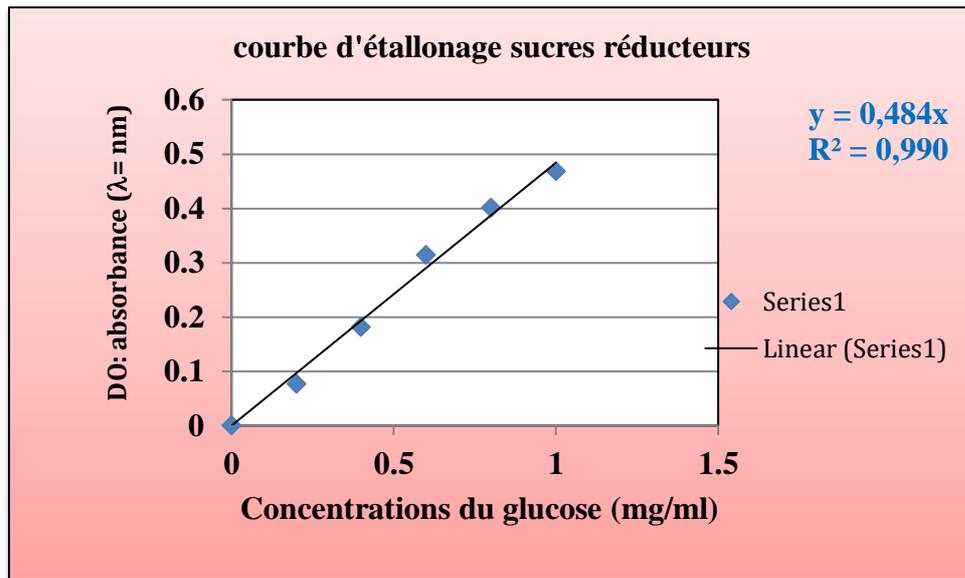
**1. composition du réactif DNS**

- DNS.....2g.
- Soude.....3.2g.
- Tartrate double sodium potassium.....60g.
- Eau distillé.....100 ml.

**2. Elaboration de la courbe d'étalonnage**

Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère (1ml de Glucose / 1 ml d'eau déstillé), en utilisant le DNS. le protocole suivie est résumer dans le tableau suivant.

Tube	Blanc	1	2	3	4	5
Contenu						
Volume SM (µl)	0	200	400	600	800	1000
Volume eau distillé (µl)	1000	800	600	400	200	0
Volume finale (µl)	1000					
Volume récupérer (µl)	200					
DNS (µl)	300					
Chauffage pendant 5min à 100°C						
Eau distillé (ml)	1.5					
Absorbance 530 nm						



Courbe d'étalonnage des sucres réducteurs

### Annexe C : milieu de cultures

#### Bouillon nutritif

- Peptone.....10,0 g/L.
- Chlorure de sodium.....5,0 g/L.
- Extrait de bœuf.....10,0 g/L.

#### Préparation

- Mettre en solution Le milieu de base déshydraté dans un litre d'eau- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
  - Répartir en tubes ou en flacons.
  - Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7,0 \pm 0,2$ .

#### Milieu de culture Carr

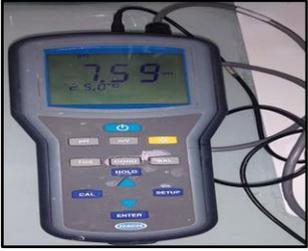
##### Composition milieux

- Extrait de levure..... 30g
- Agar .....20g
- vert de bromcreosol .....0.02g
- Eau distille..... 1000ml

Après stérilisation à 110°C durant 10 min le milieu lassai refroidir jusqu'à 45°C .le milieu ainsi refroidis, on ajoute 20 ml d'alcool éthyliques à 15% stérile au bain marie pendant 10 minutes à 100°C.

**Annexe D : Analyse physico-chimique**

Matériel pour analyse physico-chimique, établi par nos soins.

<b>Paramètre</b>	<b>Appareil utilisé</b>
<b>Mesure du pH</b>	pH mètre 
<b>Détermination de la teneur en eau</b>	dessiccateur  étuve 
<b>Mesure de la densité optique</b>	 Spectrophotomètre UV-Visible

*Annexes*

---

<p><b>Verrerie utilisée</b></p>	<p>Tubes à essais Erlenmeyer Becher Entonnoir</p>
<p><b>Alcomètre funke-Gibber</b></p>	

[Tapez un texte]

## Resumé

Ce travail est réalisé dans le but d'une meilleure exploitation de la variété de datte mech-degla et cela par optimisation des paramètres qui influencent sa bioconversion par *Saccharomyces cerevisiae* en éthanol, qui sera convertis en acide acétique par fermentation acétique à l'intervention de *Acétobacter sp.* Les analyses physico-chimiques permettent de déterminer la concentration de différents composés de cette variété : taux d'humidité, de cendre totale, pH, acidité titrable, sucres totaux, et sucres réducteurs, et une teneur en protéine et en azote total de l'ordre 10,83% ; 2,94 % ; 5,2 ; 1,3 ; 77,64% ; 23,42 % ; 1,86% ; 2,65%, respectivement. Des essais préliminaires sont effectués pour pouvoir fixer le temps d'incubation de 3 jours et une concentration de 3g/100mL de poudre de dattes. Une production maximale d'alcool 33,288g/L par *Saccharomyces cerevisiae* est obtenue dans des conditions de température 35°C ; pH=4 et 0.4g/L de sulfate d'ammonium, après application du model BBD à trois niveaux des paramètres précédents. Le model BBD est également appliqué sur les paramètres suivants: température ; concentration initiale en acide acétique à trois niveau (-1,0,+1) pour déterminer les conditions optimales de production de l'acide acétique par *Acétobacter sp* à partir de l'éthanol produit précédemment par la levure.

**Mots clés :** datte ; acide acétique ; fermentation ; box-behenken ; *saccharomyces cerivisiae* ; *Acétobacter sp.*

## Abstract

This work is carried out with the aim of a better exploitation of the variety of mech-degla date , and that by optimization of the parameters which influence its bioconversion by *Saccharomyces cerevisiae* into ethanol which will be converted into acetic acid by acetic fermentation by acetobacter sp. The physico-chemical analyses allow the determination of concentration of different compounds of this variety: moisture content, total ash, pH, titratable acidity, total sugars, and reducing sugars. total sugars, proteins and total nitrogen content in the order of 10.83%; 2.94 %; 5.2; 1.3 %; 77.64%; 23.42 %; 1.86%; 2.65%, respectively. Preliminary tests are conducted to be able to set an incubation time of 3 days and a concentration of 3g/100ml of date powder. A maximum alcohol production of 33.288 g/L by *Saccharomyces cerevisiae* is obtained under conditions of temperature 35°C; pH=4 and 0.4g/L of ammonium sulfate, after applying the BBD model at three levels of the previous parameters. The BBD model is also applied on the following parameters: temperature; initial concentration of acetic acid at three levels (-1,0,+1) to determine the optimal conditions for the production of acetic acid by *Acetobacter sp.* from the ethanol previously produced by the yeast.

**key words :** date ; acetic acid ; fermentation ; box-behenken ; *Saccharomyces cerivisiae* ; *Acétobacter sp.*