

الجمهوریة الجزائریة الديموقراطیة الشعبیة

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun-Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

KADRI Asma

Thème

**Isolement et caractérisation de quelques souches de bactéries acétiques
issues de sources locales**

Soutenu publiquement le 10/07/2025

Jury:

Président : Mr. HOCINE L.

Encadrant: Mm. LARADJ ZAZOU K.

Examinateur : Mr. MEKHLOUFI O.A.

Grade:

MCA

MCA

MCB

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

Avant tout, je m'incline avec humilité devant la grandeur divine. À Dieu, l'infiniment sage, je rendus grâce pour chaque souffle, chaque épreuve, chaque lumière entrevue dans l'obscurité. Sans sa miséricorde, je ne serais rien.

Après, je tiens particulièrement à adresser mes remerciements à Dr. LARADJ- ZAZOU. K ma promotrice, pour avoir dirigé ce travail et accepter de m'encadrer, conseiller et de m'orienter dans cette démarche scientifique.

Je remercie les membres du jury, Dr. LAREDJ Hocine et Dr. MEKHLOUFI Omar Amine pour avoir accepté d'évaluer et de discuter mon travail.

Mais permettez-moi, en ces lignes, d'ouvrir une brèche dans le temps pour m'adresser à mon père bien-aimé, KADRI MOHAMED, parti trop tôt, mais plus présent que jamais dans mon cœur.

À mes frères, sœurs, et à toute ma famille, merci pour vos silences pleins de soutien, pour votre foi en moi, même quand je doutais de tout.

À mes ami(e)s fidèles, qui ont su être là sans poser de questions, qui ont tendu la main sans rien attendre : merci d'avoir été mon abri.

Enfin, à toutes les âmes bienveillantes croisées en chemin, je vous porte, chacune, dans la gratitude discrète mais éternelle de ce travail.

Dédicace

Au nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux Dis: « Travaillez, et Dieu verra votre travail, ainsi que Son Messager et les croyants. »

Un Dieu dont la nuit n'est agréable qu'en le remerciant, dont le jour n'est agréable qu'en lui obéissant, et dont les moments ne sont agréables qu'en se souvenant de lui, Dieu Tout-Puissant

Sa Majesté

à celui qui a transmis le message et rempli la mission, notre maître Mohamed, que Dieu le bénisse et lui accorde la paix

Le voyage est terminé. Le voyage n'est pas court, il n'était pas facile, et le rêve n'était pas proche, quelle que soit sa durée cela continuera avec ses hauts et ses bas

Et en ce moment, je suis très fier de dédier cette œuvre à celui qui m'a élevé et s'est battu pour moi, à la lampe qui a éclairé mon chemin et à celui

Dont je porte le nom avec fierté,

...Mon cher père

À mon ange dans la vie, Dont les prières ont été le secret de ma réussite et dont la tendresse a été le baume pour mes blessures, à mon précieux et au paradis de mon cœur qui m'a accompagné et guidé

Tous les voyages de ma vie...ma chère mère, que Dieu la protège

À ma côté inébranlable qui ne vacille jamais, à celle m'a été donnée comme soutien et comme premier et dernier refuge, à celle qui a éloigné les épines de l'échec de mon chemin, à ma sœur bien-aimée

À mes chers frères et soutien dans la vie

A nos enseignants et mon encadrante bien-aimés qui nous ont aidés et rendus heureux dans ce travail

Louange à Dieu pour la bonne fin et conclusion

KADRI ASMA

Liste des figures

Figure 01 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

Figure 02 : photographie d'un résultat positif et négatif d'une catalase.

Figure 03 : Schéma de principe de test oxydase.

Figure 04 : Photographie d'un résultat positif et négatif d'une oxydase.

Figure 05 : Schéma qui représente la méthode de conservation des souches isolées pendant quelques semaines.

Figure 06 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

Figure 07 : Morphologie des colonies de bactéries acétiques cultivées sur milieu gélosé GYC.

Figure 08 : Morphologie des colonies d'une souche de bactérie acétique après une troisième purification sur milieu gélosé de GYC.

Figure 09 : Morphologie des cellules bactériennes après coloration de Gram, observées au microscope optique (grossissement $\times 100$).

Figure 10. Résultats du test à la catalase réalisé sur la souche acétique S1.

Figure 11. Résultats de Fabrication du vinaigre de datte et vinaigre de cidre à l'aide de levure et bactéries acétiques.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification actuelle des genres et espèces AAB

Tableau 02. Les échantillons utilisés pour l'isolement des bactéries acétiques.

Tableau 03 : Caractéristiques générales des caractères culturaux des bactéries acétiques isolées sur milieu GYC

Liste des abréviations

S1 : Souche de mère de vinaigre

ADH : Alcool DésHydrogénase

ALDH : Aldéhyde Déshydrogénase ou acétaldéhyde tière Sèche Totale.

DHA : DésHydroxyAcetone.

AAB: Acetic Acid Bacteria.

D.O : Densité optique

h : Heur

GYC : Glucose, Yeats extracts and calcium carbonate (Glucose, Extrait de levure et Carbonate de calcium

pH : Potentiel d'Hydrogène

Table des Matières

Introduction	1
Revue bibliographique	
I.Généralités sur le thème.....	4
I.1.Histoire du vinaigre.....	4
I.2.Définition du vinaigre	4
I.3.Les principaux types de vinaigres.....	5
I.3.1.Vinaigre de vin.....	5
I.3.2.Vinaigre de cidre et de poiré	5
I.3.3.Vinaigre de riz.....	5
I.3.4.Vinaigre de betterave	6
I.3.5.Vinaigre de malt.....	6
I.3.6.Vinaigre de balsamique.....	6
I.3.7.Vinaigre de datte	6
I.4.Élaboration de vinaigre	6
Produits du métabolisme des AAB:le vinaigre	6
I.5.Domaine d'utilisation du vinaigre	7
I.6.Intérêt du vinaigre	8
II.1.Bactéries acétiques.....	10
II.1.1.Caractéristiques des bactéries acétiques	10
II.1.2.Aspects généraux du métabolisme des bactéries acétiques(AAB)	10
II.2.Facteurs influençant la croissance des bactéries acétiques.....	11
II.2.1.Oxygène.....	11
II.2.2.Température	11
II.2.3.pH	12
II.2.4.Concentration en éthanol	12
II.2.5.Lumière	12
II.2.6.Acide acétique	12
Chapitre I: Matériel et méthodes	
1. Objectif de travail.....	15
2. Echantillonnage.....	15

2.1. Préparation de l'échantillon de la mère de vinaigre	15
2.2. Préparation de l'échantillon des fruits en décomposition	15
2.2. Isolement des bactéries acétiques.....	16
2.2.1. Technique d'isolement des bactéries acétiques à partir de vinaigre et des fruits en décomposition	16
2.2.2. Technique d'isolement partir de la mère de vinaigre	16
2.3. Purification des colonies isolées	17
3. Études des caractères culturaux.....	17
4. Étude des caractéristiques microscopiques	17
4.1. Examen microscopique à l'état frais	17
4.2. Examen microscopique après coloration de gram.....	18
5. Étude des caractères biochimiques.....	18
5.1. Test de catalase.....	18
5.2. Test d'oxydase.....	18
6. Conservation des souches isolées	19
7. Fabrication du vinaigre de datte à l'aide de levure et de bactéries acétiques isolées	20
7.1. Ingrédients et matériel nécessaires	20
7.2. Les étapes de fabrication	21
Chapitre II: Résultats et discussion	
1. Résultats de l'isolement des bactéries acétiques	23
2. Résultats des examens microscopiques des colonies isolées	24
3.Résultats de la pré-identification des bactéries acétiques	25
4. Fabrication du vinaigre de datte à l'aide de levures et des bactéries acétiques isolées.....	26
Conclusion.....	29
Références bibliographiques	32
Annexes.....	37
Résumé	44



Introduction

Introduction

Le vinaigre est l'un des produits fermentés les plus anciens connus de l'humanité, et son utilisation à travers les âges a été liée aux dimensions nutritionnelles, sanitaires et de conservation des aliments, réunissant à la fois la connaissance scientifique traditionnelle et les applications modernes dans l'industrie agroalimentaire (**Matsushita et al, 2016**). Le vinaigre est principalement constitué d'acide acétique, produit par l'oxydation de l'éthanol grâce aux bactéries acétiques (Acetic Acid Bacteria – AAB), appartenant essentiellement aux genres *Acétobacter* et *Gluconobacter*, caractérisées par leur aérobiose obligatoire et leur capacité à transformer les sucres et les fruits fermentés en produits finaux aux propriétés sensorielles et fonctionnelles uniques (**Sengun, 2017**).

À travers l'histoire, le vinaigre a représenté une double valeur ; il constitue un moyen efficace de conservation des aliments et de protection contre certaines maladies, tout en reflétant une exploitation durable des ressources agricoles locales (**Rahman et al, 2024**). Il contient des composés phénoliques et des antioxydants confirmant son rôle en santé publique, tout en constituant un système biologique intégré influencé par les caractéristiques des matières premières utilisées pour sa production (**Kourouma et al, 2021**).

La diversité des matières premières utilisées pour la production de vinaigre, à l'échelle mondiale et nationale, reflète un fort potentiel de production industrielle et traditionnelle ; du raisin, des pommes, de l'anacardier, de la mangue aux fruits excédentaires ou pourris, il est possible de produire des vinaigres aux propriétés variées selon la teneur en sucres et la nature du fruit (**Gomes et al, 2018**). Dans le contexte algérien, où les zones climatiques varient entre les côtes, les plaines intérieures et le désert, cette diversité fruitière offre de véritables opportunités pour exploiter les fruits excédentaires ou détériorés afin de produire un vinaigre local de haute qualité et à forte valeur ajoutée économique (**Ouattara et al, 2025**).

La production du vinaigre se déroule en deux étapes essentielles : la fermentation alcoolique, au cours de laquelle les sucres sont convertis en éthanol par les levures, et la fermentation acétique, assurée par les bactéries acétiques qui oxydent l'éthanol en acide acétique, déterminant ainsi les caractéristiques finales du produit en termes de goût, d'arôme et de couleur (**Romero-Cortes et al, 2012**). Les bactéries acétiques jouent un rôle essentiel dans les processus fermentaires. Des recherches récentes ont montré que les souches isolées de milieux naturels tels que les fruits fermentés et le vinaigre traditionnel possèdent une remarquable capacité d'adaptation à des conditions difficiles, notamment de fortes concentrations en éthanol et des variations de température, assurant ainsi la qualité et la stabilité des produits fermentés (**Han et al, 2024**).

Par ailleurs, ces souches peuvent être isolées à partir de fruits variés comme la pomme, le raisin, la mangue, la cerise et le figuier de Barbarie. Elles présentent une diversité métabolique notable et une grande efficacité dans la production d'acide acétique, tout en résistant à des conditions environnementales extrêmes. Ces caractéristiques en font une ressource biologique précieuse pour des applications industrielles et agricoles durables,

notamment dans la valorisation des ressources locales pour produire un vinaigre de haute qualité (**Román-Camacho et al, 2023; Ge et al, 2025**).

L'exploitation des souches locales offre des opportunités pour développer l'industrie traditionnelle et moderne du vinaigre en Algérie, en produisant des produits alimentaires innovants et économiquement et écologiquement durables, tout en réduisant les pertes de fruits saisonniers et en soutenant la recherche scientifique locale et le développement des technologies biotechnologiques (**Ouoba et al, 2012**). Dans une optique de valorisation intelligente des ressources agricoles inexploitées, l'isolement de souches d'acétobacteries thermotolérantes à partir de fruits détériorés s'impose comme une approche à la fois écologique et technologiquement prometteuse. Ces souches, caractérisées par leur tolérance au stress thermique et à l'éthanol, permettent d'optimiser la productivité du processus fermentaire, tout en ancrant la production locale dans une dynamique d'innovation compétitive à l'échelle internationale (**Sahoo et al, 2020**).

En résumé, cette étude s'inscrit dans une démarche scientifique visant à isoler et caractériser des souches locales de bactéries acétiques, à partir de fruits excédentaires, altérés et de vinaigre traditionnel, dans le but de valoriser ces ressources en produits à haute valeur ajoutée, tout en renforçant la durabilité dans les secteurs agricole et agroalimentaire en Algérie (**Diba, Alam & Talukder, 2015**).

Ce travail a pour objectif l' isoler et caractériser des bactéries acétiques à partir des fruits en décomposition et des vinaigres traditionnels, et évaluation de leur pouvoir de production de l'acide acétique, et production d'un vinaigre traditionnel à partie des bactéries acétiques isolées.

Notre travail s'articule autour de deux parties principales:

La première partie de ce travail est consacrée à une synthèse bibliographique. Elle comprend un seul chapitre qui présente les généralités relatives au thème de recherche, en vue de situer le sujet dans son contexte scientifique et de poser les bases théoriques nécessaires à l'étude expérimentale.

La deuxième partie porte sur une étude expérimentale répartie également en deux chapitres:

Chapitre 3: Matériel et méthode.

Chapitre 4: Résultats et discussion.

Une conclusion, accompagnée de perspectives, vient clore ce travail.



Partie bibliographique

I. Généralités sur le thème

Depuis les débuts de l'agriculture, le vinaigre accompagne l'histoire de l'humanité, apparaissant parallèlement à la découverte de la fermentation alcoolique des fruits, des céréales et des légumes. Son origine est si étroitement liée à celle du vin qu'il est souvent difficile de les distinguer. Bien que le vinaigre ait longtemps été perçu comme un sous-produit de moindre valeur issu de la fermentation, il a néanmoins occupé une place essentielle dans les pratiques alimentaires traditionnelles. Utilisé comme condiment pour relever les saveurs, comme agent de conservation naturel, et dans certaines cultures, comme boisson bénéfique pour la santé, le vinaigre témoigne d'une polyvalence remarquable dans l'histoire des aliments fermentés (**Esteban & Albornoz, 2012**).

I.1. Histoire du vinaigre

L'histoire du vinaigre remonte à plus de 5000 ans, et son apparition est étroitement liée à celle du vin, dont il tire son nom. En effet, lorsqu'il est exposé à l'air pendant une certaine durée, le vin subit naturellement une transformation qui le conduit à devenir un liquide à la saveur acide : c'est ainsi que naît le vinaigre, littéralement le « vin aigre ». En 1822, le botaniste Persoon, s'appuyant sur les travaux de Fabroni et Chaptal, attribue ce phénomène à un voile qui se forme à la surface du vin laissé à l'air libre. Pensant avoir affaire à un champignon, il le nomme *Mycoderma aceti* (**Rehouma et Ben Retmia, 2016**).

Il faudra cependant attendre les recherches décisives de Louis Pasteur, publiées en 1864 dans son célèbre mémoire sur la fermentation acétique, pour que les mécanismes réels de cette transformation soient enfin compris. Pasteur démontre que le vinaigre résulte de l'oxydation de l'alcool sous l'effet de l'oxygène atmosphérique, processus rendu possible grâce à l'action d'un micro-organisme spécifique : *Mycoderma aceti*. Grâce à ses travaux, il identifie également de manière scientifique les cinq conditions fondamentales nécessaires à la production efficace du vinaigre (**Rehouma et Ben Retmia, 2016**).

I.2. Définition du vinaigre

La définition du vinaigre n'est pas universelle et varie selon les pays. Toutefois, selon le Codex Alimentarius (1987), le vinaigre est défini comme un liquide destiné à la consommation humaine, obtenu à partir de matières premières agricoles appropriées, contenant de l'amidon, des sucres ou une combinaison des deux, et élaboré par un procédé en

deux étapes : une fermentation alcoolique suivie d'une fermentation acétique. Cette définition englobe une large gamme de vinaigres, parmi lesquels figurent le vinaigre de céréales, le vinaigre d'alcool et le vinaigre de fruits. Les matières premières utilisées dans sa fabrication sont nombreuses et diverses, incluant le riz, le raisin, le malt, la pomme, le miel, la pomme de terre, le lactosérum, ainsi que toute autre substance alimentaire riche en sucres .De fait, une grande variété de vinaigres est produite à travers le monde. Bien que la majorité provienne de sources végétales, certaines variétés peuvent également être issues de matières d'origine animale (**Esteban & Albornoz, 2012**).

I.3. Les principaux types de vinaigres

Les diverses catégories de vinaigres se distinguent essentiellement par la nature de leur matière en voici les principales:

I.3. 1.Vinaigre de vin

Le vinaigre de vin se définit comme une solution aqueuse riche en acide acétique, issue d'un processus de fermentation acétique du vin, qu'il soit spontané ou contrôlé. La couleur de ce vinaigre dépend directement de celle du vin d'origine, variant ainsi du blanc translucide au jaune pâle, voire au rouge selon les cépages utilisés. Il se caractérise par une odeur agréable, qui s'intensifie notablement lors d'un vieillissement prolongé en fût avant sa mise sur le marché. Sur le plan organoleptique, sa saveur acide est bien équilibrée et ne génère aucune sensation désagréable, même après une consommation répétée (**Maredj & Keddar, 2023**).

I.3.2.Vinaigre de cidre et de poiré

Le vinaigre issu de la fermentation des jus de pomme (cidre) et de poire (poiré) se caractérise par une couleur jaune pâle et une forte acidité. Il est particulièrement riche en substances pectiques, ce qui lui confère des propriétés organoleptiques marquées, notamment une saveur acide prononcée (**Aliat & Doudou, 2022**).

I.3.3.Vinaigre de riz

Couramment produit en Asie, le vinaigre de riz résulte d'un processus combinant la saccharification de l'amidon de riz puis une fermentation alcoolique. Sa forme varie selon les

pays: rouge, piquant et acide en Chine, alors qu'au Japon, il est souvent blanc, doux, moelleux et délicatement parfumé (**Bachi & Bensayah, 2017**).

I.3.4. Vinaigre de betterave

Le vinaigre de betterave est obtenu par le processus d'acétification du jus de betterave, c'est-à-dire sa transformation en acide acétique sous l'action de bactéries acétiques. Afin d'en améliorer les caractéristiques organoleptiques et d'équilibrer sa composition, ce vinaigre est généralement mélangé à parts égales avec du vinaigre d'alcool. Cette combinaison permet d'obtenir un produit final aux propriétés sensorielles et technologiques optimisées (**Dahmani & Rebbouh, 2009**).

I.3.5. Vinaigre de malt

Le vinaigre de malt, largement consommé en Angleterre, est obtenu à partir de la fermentation d'un mélange d'orge et d'autres céréales. Il est souvent aromatisé à l'aide de bois tels que le hêtre ou le bouleau, ce qui lui confère une saveur riche et prononcée. Ce type de vinaigre accompagne fréquemment des plats traditionnels, notamment le fameux "fish and chips", dont il accentue le goût de manière caractéristique (**Bhat, Akhtar & Amin, 2014**).

I.3.6. Vinaigre balsamique

Originaire de Modène, au nord de l'Italie, le vinaigre balsamique est obtenu à partir de moût de raisins sucrés, récoltés tardivement. Cette particularité lui confère une richesse en sucres naturels, une saveur unique, une couleur brun foncé ainsi qu'un arôme à la fois intense et légèrement sucré (**Beneddine & Bentadj, 2009**).

I.3.7. Vinaigre de datte

Les dattes, riches en sucres fermentescibles, constituent une matière première favorable à la production de vinaigre, notamment le vinaigre de datte (**Bekkair, 2025**).

4. Élaboration de vinaigre

4.1. Produits du métabolisme des AAB: le vinaigre

Le vinaigre est une solution aqueuse composée principalement d'acide acétique, accompagnée d'autres constituants secondaires. Apprécié à travers le monde, il est largement

utilisé en tant que condiment et agent de conservation alimentaire. Son usage remonte à plus de 10 000 ans, et les civilisations anciennes y avaient déjà recours, notamment en médecine traditionnelle, pour désinfecter les plaies ou se laver les mains à des fins préventives contre les infections (**Gomes et al, 2018**).

Aujourd’hui, le vinaigre demeure un ingrédient de base dans la préparation des cornichons, des vinaigrettes et d’autres produits culinaires. En parallèle à ses applications alimentaires, il est également reconnu pour ses nombreuses propriétés fonctionnelles: activité antibactérienne, réduction de la pression artérielle, effet antioxydant, régulation de la glycémie chez les personnes diabétiques, et prévention des maladies cardiovasculaires (**Gomes et al, 2018**).

La production de ce composé repose sur un processus fermentaire en deux phases. La première est une fermentation anaérobiose, où les sucres sont transformés en éthanol par des levures. Elle est suivie d’une seconde phase, aérobiose cette fois, au cours de laquelle l’éthanol est oxydé en acide acétique par l’action des bactéries acétiques (AAB). Lorsque les matières premières sont riches en amidon ou en glucides complexes, une étape préalable de saccharification est nécessaire afin de libérer les sucres fermentescibles (**Gomes et al, 2018**).

La demande croissante en vinaigre a conduit au développement de diverses techniques de production. Trois grandes méthodes industrielles sont aujourd’hui en usage : la fermentation lente en surface (aussi appelée méthode orléanaise ou traditionnelle), le procédé génératrice (connu sous le nom de procédé allemand), et le procédé immergé (**Gomes et al, 2018**).

5. Domaines d'utilisation du vinaigre

I-5-1. Utilisation en médecine

Depuis l’antiquité et jusqu’au moyen âge, le vinaigre était largement utilisé à des fins thérapeutiques, considéré comme l’un des premiers « antibiotiques » naturels. Il servait notamment au traitement de maladies graves telles que la lèpre, la peste ou encore les morsures de serpents. Son usage s’est poursuivi jusqu’à la première guerre mondiale, où il fut employé pour limiter la propagation du scorbut. En médecine populaire, il est également recommandé contre divers maux tels que l’arthrite, l’ostéoporose, les céphalées, les douleurs

musculaires, les irritations cutanées, les maux de gorge, les démangeaisons ou encore les infections fongiques (**Benkhelifa, 2018**).

I-4-2. Utilisation en cuisine

Le vinaigre joue un rôle fondamental en gastronomie, où il est utilisé pour sublimer les saveurs des mets. Il constitue un ingrédient clé dans les vinaigrettes, les marinades de viandes et légumes, ainsi que dans une variété de sauces, offrant une acidité harmonieuse qui rehausse la palette gustative. De plus, grâce à ses propriétés antimicrobiennes, le vinaigre agit comme un conservateur naturel efficace, prolongeant la conservation des aliments périssables tels que viandes, poissons, fruits et légumes. Il est également largement employé pour déglacer les sucs de cuisson, apportant finesse et profondeur aromatique aux préparations culinaires (**Aissa & Talah, 2023**).

I-4-3. Utilisation domestique

Usage domestique du vinaigre Le vinaigre, reconnu pour ses propriétés antiseptiques, est largement utilisé dans le cadre domestique. Il sert au nettoyage des sols, des vitres et des surfaces vitrées. Il joue également un rôle d'antimoustique naturel, de désinfectant, de désodorisant et de détartreur. Mélangé à de la farine, il peut être employé comme colle, et il est aussi utilisé comme fixateur de couleur pour les textiles, entre autres applications (**Khelil, 2022**).

L'efficacité antimicrobienne du vinaigre repose principalement sur sa teneur en acide acétique, généralement autour de 3,6 %. Parmi les acides organiques utilisés dans l'agroalimentaire -tels que les acides malique, citrique, tartrique ou lactique —l'acide acétique se distingue par sa capacité unique à inhiber la croissance de nombreux micro-organismes dans une plage de pH comprise entre 3,2 et 5,2. Cette propriété explique en grande partie la persistance de son usage à la fois culinaire et sanitaire à travers les siècles (**Dahmani & Rebbouh, 2009**).

6. Intérêt du vinaigre

Le vinaigre occupe une place incontournable dans l'art culinaire, grâce à la diversité de ses usages. Il est couramment utilisé comme condiment, notamment dans la préparation des vinaigrettes, des mayonnaises et de la moutarde. Il joue également un rôle important dans

la prévention de l’oxydation des fruits et des légumes, tout en contribuant à la prolongation de leur durée de conservation (**Dahmani & Rebbouh, 2009**).

Au-delà de ses usages culinaires, le vinaigre a longtemps occupé une place importante dans les pratiques de la médecine traditionnelle. Les anciens médecins lui attribuaient diverses vertus thérapeutiques : apaisement des douleurs gastriques, traitement de la jaunisse, amélioration du fonctionnement de la rate, stimulation de l’appétit et soutien à la digestion. Toutefois, ils reconnaissaient également certains effets indésirables en cas de consommation excessive, tels que l’affaiblissement du système nerveux ou de la vision. Ces connaissances empiriques, issues de l’observation et de l’expérience, sont évoquées dans des travaux récents portant sur les effets du vinaigre sur la santé (**Beneddine & Bentadj, 2009**).

II. Bactéries acétiques

II.1. Caractéristiques des bactéries acétiques (AAB)

Les bactéries acétiques (AAB) sont des micro-organismes strictement aérobies, généralement à coloration gram négatif ou variable, catalase positive et oxydase négative. Leur morphologie varie de forme ellipsoïdale à celle de bâtonnets, et elles peuvent se présenter isolément, en paires ou en chaînes. Ce sont des bactéries mésophiles, dont la température optimale de croissance se situe entre 25 et 30 °C. Le pH favorable à leur développement varie entre 5,0 et 6,5, bien qu'elles soient capables de croître dans des conditions plus acides (Gomes et al, 2018).

Les espèces d'AAB se distinguent par leur remarquable capacité à oxyder divers composés, tels que les alcools, les aldéhydes, les sucres ou encore les polyalcools, en présence d'oxygène. Cette activité oxydative entraîne l'accumulation, dans le milieu de culture, de produits d'oxydation comme les acides carboxyliques. Les réactions impliquées sont catalysées par des déshydrogénases primaires localisées sur la face externe de la membrane cytoplasmique (Gomes et al, 2018).

Bien que d'autres espèces bactériennes puissent également oxyder l'éthanol en condition aérobie, peu d'entre elles conservent cette capacité en milieu acide. Les souches d'AAB réalisent l'oxydation de l'éthanol en acide acétique via deux étapes catalytiques successives. D'abord, l'éthanol est transformé en acétaldéhyde grâce à une alcool déshydrogénase (ADH) membranaire dépendante de la pyrroloquinoline quinone (PQQ). Ensuite, l'acétaldéhyde formé est immédiatement oxydé en acétate par une aldéhyde déshydrogénase (ALDH) également ancrée dans la membrane, à proximité de l'ADH (Gomes et al, 2018).

Il est important de souligner que, lors de cette oxydation, aucune accumulation ou libération mesurable d'aldéhyde libre n'est observée, ce qui témoigne de l'efficacité et de la coordination enzymatique de ce système métabolique (Gomes et al, 2018).

II.2. Aspects généraux du métabolisme des bactéries acétiques (AAB) dans la biosynthèse de l'acide acétique

Les bactéries acétiques (AAB) sont des microorganismes strictement aérobies, ce qui signifie que leur croissance dépend étroitement de la disponibilité en oxygène moléculaire, utilisé comme accepteur final d'électrons dans leur chaîne respiratoire. Toutefois, en

condition d’oxygénéation limitée – comme cela peut être le cas lors de la fermentation alcoolique – certains composés, tels que les quinones, peuvent temporairement jouer ce rôle d’accepteur alternatif (**Esteban & Albornoz, 2012**).

Les AAB possèdent par ailleurs une remarquable aptitude à oxyder de manière incomplète une variété d’alcools et de sucres, sans que les métabolites intermédiaires ainsi produits ne présentent de toxicité pour la cellule. Un exemple caractéristique de cette capacité est la conversion de l’éthanol en acide acétique, réalisée par l’action séquentielle de deux enzymes membranaires : dans un premier temps, l’éthanol est transformé en acétaldéhyde par l’alcool déshydrogénase, puis ce dernier est converti en acétate grâce à l’aldéhyde déshydrogénase. Dans les deux étapes, les électrons issus des réactions d’oxydation sont transférés à l’oxygène (**Esteban & Albornoz, 2012**).

L’alcool déshydrogénase membranaire utilise la pyrroloquinoline quinone (PQQ) comme cofacteur, fonctionne indépendamment du NADP et présente un pH optimal autour de 4. Une forme cytoplasmique de cette enzyme, dépendante du NADP, a également été identifiée, mais son efficacité catalytique est nettement inférieure en raison de son activité spécifique réduite et de son pH optimal plus élevé, limitant ainsi sa contribution à l’oxydation de l’éthanol (**Esteban & Albornoz, 2012**).

II.3. Facteurs influençant la croissance des bactéries acétiques

II.3.1.Oxygène

De nombreuses études ont mis en évidence que la fermentation acétique s’effectue efficacement en milieu liquide bien oxygéné. Une performance remarquable a été observée, avec une production spécifique, avec une production spécifique atteignant 21g d’acide acétique par gramme de biomasse bactérienne et par heure à une température de 30°C. La formation d’un gramme d’acide nécessite l’oxygène contenu dans environ deux litres d’air. L’interruption de l’apport en oxygène entraîne une détérioration rapide des cellules bactériennes. Toutefois, à des concentrations élevées, l’oxygène peut induire une oxydation excessive de l’acide acétique (**Frouhat & Drid, 2017**).

II.3.2.Température

La température joue un rôle déterminant dans la vitesse du processus d’acétification. Elle influence directement l’activité métabolique des bactéries acétiques. Ce processus

s'effectue généralement dans une plage de 15°C à 40°C, avec une température optimale observée autour de 30°C pour une croissance et une production maximales d'acide acétique (**Maredj & Keddar, 2023**).

II.3.3.pH

Un pH compris entre 3,5 et 5 est considéré comme optimal pour la réussite du processus de fabrication du vinaigre. En dessous de cette plage, la croissance bactérienne est possible mais fortement ralentie (**Frouhat et Drid, 2017**).

II.3.4. Concentration en éthanol

La conversion de l'éthanol en acide acétique s'effectue efficacement lorsque la concentration d'éthanol se situe entre 10 % et 13 % (v/v). En revanche, pour des teneurs supérieures à 14 % (v/v), le processus d'oxydation de l'éthanol devient lent et partiel. De même, une concentration inférieure à 7 % (v/v) limite également cette conversion. Par ailleurs, l'acide acétique produit peut être oxydé en dioxyde de carbone (CO₂) et en eau (H₂O) (**Maredj & Keddar, 2023**).

II.3.5.Lumière

L'exposition directe à la lumière solaire inhibe presque totalement la fermentation acétique. La lumière diffuse permet une fermentation très lente, tandis que l'obscurité favorise nettement l'activité bactérienne. Les rayons ultraviolets sont particulièrement nuisibles à ce processus (**Frouhat et Drid, 2017**).

II.3.6.Acide acétique

Il a été constaté que l'acide acétique exerce un effet stimulant sur la croissance des Acétobacter lorsque sa concentration ne dépasse pas 2°. Cette limite représente un seuil au-delà duquel l'acide peut devenir inhibiteur pour l'activité bactérienne (**Maredj & Keddar, 2023**).

Tableau 01 : Classification actuelle des genres et espèces AAB (Esteban & Albornoz, 2012).

Genus	Species		
<i>Acetobacter</i> (20 species)	<i>A. aceti</i>	<i>A. malorum</i>	<i>A. peroxydans</i>
	<i>A. cerevisiae</i>	<i>A. nitrogenifigens</i>	<i>A. syzygii</i>
	<i>A. cibinongensis</i>	<i>A. oeni</i>	<i>A. fabarum</i>
	<i>A. estunensis</i>	<i>A. orientalis</i>	<i>A. ghanaensis</i>
	<i>A. indonesiensis</i>	<i>A. orleanensis</i>	<i>A. senegalensis</i>
	<i>A. lovaniensis</i>	<i>A. pasteurianus</i>	<i>A. farinalis</i>
	<i>A. pomorum</i>	<i>A. tropicalis</i>	
<i>Gluconobacter</i> (13 species)	<i>G. albidus</i>	<i>G. oxydans</i>	<i>G. kanchanaburiensis</i>
	<i>G. cerinus</i>	<i>G. roseus</i>	<i>G. uchimurae</i>
	<i>G. frateurii</i>	<i>G. sphaericus</i>	<i>G. nephelii</i>
	<i>G. japonicus</i>	<i>G. thailandicus</i>	
	<i>G. kondonii</i>	<i>G. wancherniae</i>	
<i>Gluconacetobacter</i> (17 species)	<i>Ga. azotocaptans</i>	<i>Ga. entanii</i> ^a	<i>Ga. rhaeticus</i> ^a
	<i>Ga. diazotrophicus</i>	<i>Ga. europaeus</i> ^a	<i>Ga. saccharivorans</i> ^a
	<i>Ga. sacchari</i>	<i>Ga. hansenii</i> ^a	<i>Ga. swingsii</i> ^a
	<i>Ga. johannae</i>	<i>Ga. sucrofermentans</i> ^a	<i>Ga. nataicola</i> ^a
	<i>Ga. liquefaciens</i>	<i>Ga. intermedius</i> ^a	<i>Ga. oboediens</i> ^a
	<i>Ga. xylinus</i> ^a	<i>Ga. kombuchae</i> ^a	
<i>Asaia</i> (5 species)	<i>As. bogorensis</i>	<i>As. siamensis</i>	<i>As. krungthrpensis</i>
	<i>As. lannensis</i>	<i>As. spathodeae</i>	
<i>Neokomagataea</i> (2 species)	<i>Nk. thailandica</i>	<i>Nk. tanensis</i>	
<i>Acidomonas</i>	<i>Ac. methanolica</i>		
<i>Neoasaia</i>	<i>N. chiangmaiensis</i>		
<i>Swaminathania</i>	<i>Sw. salitolerans</i>		
<i>Kozakia</i>	<i>Kz. baliensis</i>		
<i>Granulibacter</i>	<i>Gr. bethesdensis</i>		
<i>Saccharibacter</i>	<i>S. floricola</i>		
<i>Tanticharoenia</i>	<i>T. sakaeratensis</i>		
<i>Ameyamaea</i>	<i>Am. chiangmaiensis</i>		



Partie expérimentale

1. Objectif du travail

- Isoler et caractériser des bactéries acétiques à partir des fruits en décomposition et des vinaigres traditionnels.
- Évaluation de leur pouvoir de production de l'acide acétique.
- Production d'un vinaigre traditionnel à partie des bactéries acétiques isolées.

2. Echantillonnage

2. 1. Préparation de l'échantillon de la mère de vinaigre

Le vinaigre a été stocké dans une température ambiante (environ 30°C) pendant 2 mois, avec une agitation quotidienne pour assurer l'aération du vinaigre, la mère de vinaigre apparaît sous forme de disque visqueux et gélatineux.

2.2. Préparation de l'échantillon des fruits en décomposition

Les fruits de pommes rouges ont été placés dans un environnement légèrement humide et chaud pour accélérer le processus de maturation. Les bactéries acétiques peuvent se développer sur les fruits en décomposition, les bactéries acétiques y jouent un rôle important dans la transformation des sucres en acide acétique.

Tableau 02. Les échantillons utilisés pour l'isolement des bactéries acétiques.

N°	Échantillon	Wilaya d'origine	Mode d'obtention
1	Pommes avariées	Batna	Achat au marché
2	Vinaigre de raisin	Constantine	Achat auprès d'une usine
3	Vinaigre de dattes	Constantine	Achat auprès d'une usine
4	Vinaigre de pommes	Constantine	Achat auprès d'une usine
5	Vinaigre de cidre	Constantine	Achat auprès d'une usine
6	Mère de vinaigre dans vinaigre de pommes artisanal	Bouira	Cultivée en maison

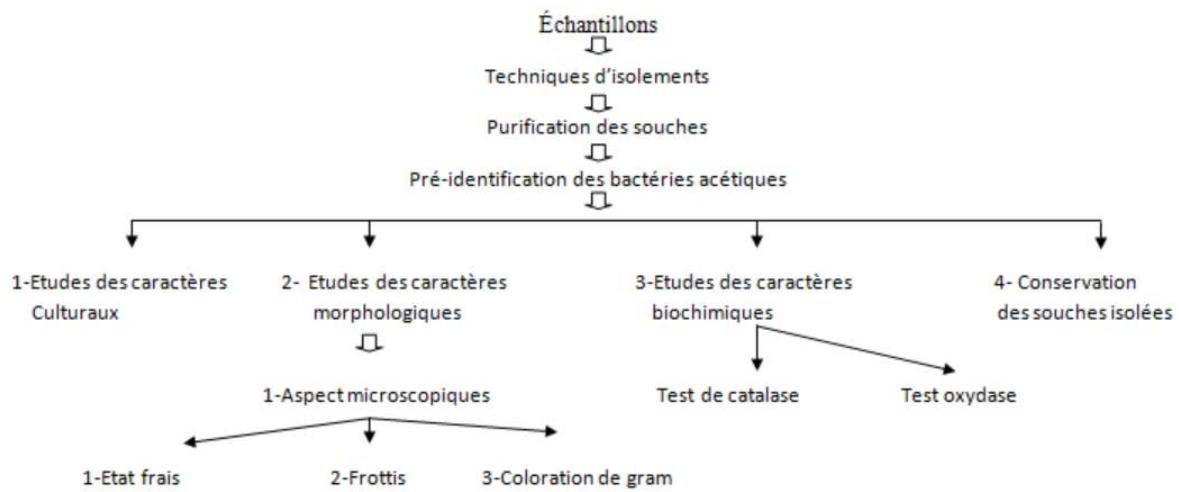


Figure 01 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

2.2. Isolement des bactéries acétiques

Deux méthodes d'isolement ont été réalisées : la première par dilution décimales à partir du vinaigre et de cidre en décomposition et la deuxième à partir de la mère de vinaigre en utilisant la méthode d'enrichissement.

2.2.1. Technique d'isolement des bactéries acétiques à partir de vinaigre et des fruits en décomposition

Des dilutions décimales ont été préparées à partir des pommes en décomposition et des vinaigres traditionnels (vinaigre de cidre, de datte et de raisin) en prenant 9ml d'eau physiologique dans un tube à essai et en y ajoutant 1ml de solution mère. On prépare également la deuxième dilution en partant de la première dilution suivie d'une agitation pour homogénéiser la solution (**Senouci et Abdelouahid, 2010**).

La technique d'isolement consiste à prélever 0,2 ml de solution mère. Contrairement aux autres dilutions (à) dans lesquelles 0,1 ml est prélevé (**Bachi & Bensayah, 2017**).

2.2.2. Technique d'isolement partir de la mère de vinaigre

À partir des disques de la mère de vinaigre, un prélèvement d'une petite fraction de cette dernière est réalisé et ensuite transféré dans un milieu d'enrichissement (bouillon nutritif). Les tubes sont incubés à 30°C pendant une semaine. L'apparition des troubles indique une croissance effective des colonies des bactéries acétiques. Avec une anse de platine, ces colonies ont été étalées sur des boîtes de Pétri contenant le milieu GYC et incubées à 30°C pendant 48h (**Hamdi, 2021**).

2.3. Purification des colonies isolées

Suite à la culture de bactéries sur des milieux sélectifs, un grand nombre de colonies a été récupéré. Pour obtenir des souches pures, des isolations successives sur milieu Frateur ou GYC sont effectuées jusqu'à l'acquisition de colonies bien distinctes, homogènes et stables. La technique des stries est utilisée pour la purification des souches sur un milieu gélosé. Plusieurs repiquages sur des boîtes de pétri avec un milieu solide sont réalisés pour contrôler la pureté de la souche. La confirmation de la pureté des souches se fait par biais de prélèvements de colonies après chaque repiquage, en utilisant l'observation au microscope.

Les colonies isolées sont ensemencées et conservées dans des tubes de culture inclinés pour leur identification et caractérisation (**Hamdi, 2021**).

3. Études des caractères culturaux

Une analyse macroscopique sur le milieu GYC (forme, taille, couleur, présence d'un halo claire autour des colonies) est réalisée sur les colonies des souches récupérées en vue de confirmer qu'elles présentaient les caractéristiques morphologiques typiques des bactéries acétiques.

4. Étude des caractéristiques microscopiques

Ces dernières offrent la possibilité d'examiner la morphologie, la dimension, le type de rassemblement des cellules bactériennes, le procédé de reproduction et le mouvement des cellules bactériennes. Cette recherche inclut des analyses microscopiques sur des échantillons frais, suivies de l'examen microscopique après coloration à partir de frottis fixés (coloration de Gram).

4.1. Examen microscopique à l'état frais

Une fraction des colonies bactérienne est prélevée avec une pipette pasteur, et ensuite déposée sur une goutte d'eau distillée stérile. La suspension été couverte par une lamelle et observée au microscope optique en utilisant 2 grossissements : $\times 40$ et $\times 100$ (**Senouci & Abdelouahid, 2010**)

4.2. Examen microscopique après coloration de gram

Une préparation d'un frotti fixé était réalisée, une goutte d'eau distillée est déposée sur une lame, puis une colonie isolée est prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile, la colonie est ensuite étalée sur la lame et fixer par la chaleur du bec bensun pendant 10 à 15 minutes (**Senouci & Abdelouahid, 2010**). Une coloration de Gram était effectuée suivi d'une observation microscopique à un grossissement de $\times 100$ (**Madigan & John, 2007**).

5. Étude des caractères biochimiques

5.1. Test de catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène (O_2) selon la réaction suivante : $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 1/2 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$

Une goutte de l'eau oxygénée était déposée sur une lame de verre propre puis une colonie bactérienne y est ajoutée avec une boucle stérile.

Présence de bulles \Rightarrow Test positif (bactérie catalase positive)

Absence de bulles \Rightarrow Test négatif (bactérie catalase négative) (**Hamdi, 2021**).

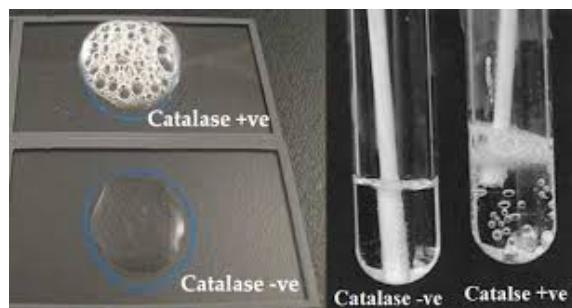
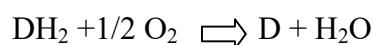


Figure 02 : Photographie d'un résultat positif et négatif d'une catalase (**Hamdi, 2021**).

5.2. Test d'oxydase

Le test de l'oxydase est essentiel pour l'identification bactérienne, car il met en évidence une enzyme de la chaîne respiratoire capable de catalyser des réactions d'oxydation.



Pour réaliser ce test, un disque d'oxydase est placé sur une lame propre, ensuite, une colonie bactérienne bien isolée est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur et écrasée sur le disque pendant une dizaine de secondes.

Présence violette en \rightarrow Test positif (bactérie oxydase positive)

Absence de coloration \rightarrow Test négatif (bactérie oxydase négative) (Hamdi, 2021).

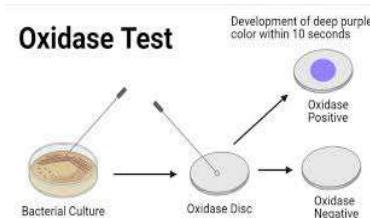


Figure 03 : Schéma de principe de test oxydase



Figure 04: Photographie d'un résultat positif et négatif d'une oxydase (Hamdi, 2021).

6. Conservation des souches isolées

Les souches bactériennes isolées et caractérisées ont été conservées dans une gélose inclinée à 4°C. Cette méthode est utilisée pour le maintien à court et moyen terme de la viabilité et des caractéristiques phénotypiques et génotypiques des micro-organismes. Cette technique repose sur la limitation du métabolisme cellulaire due à la basse température (Madigan & John, 2007).

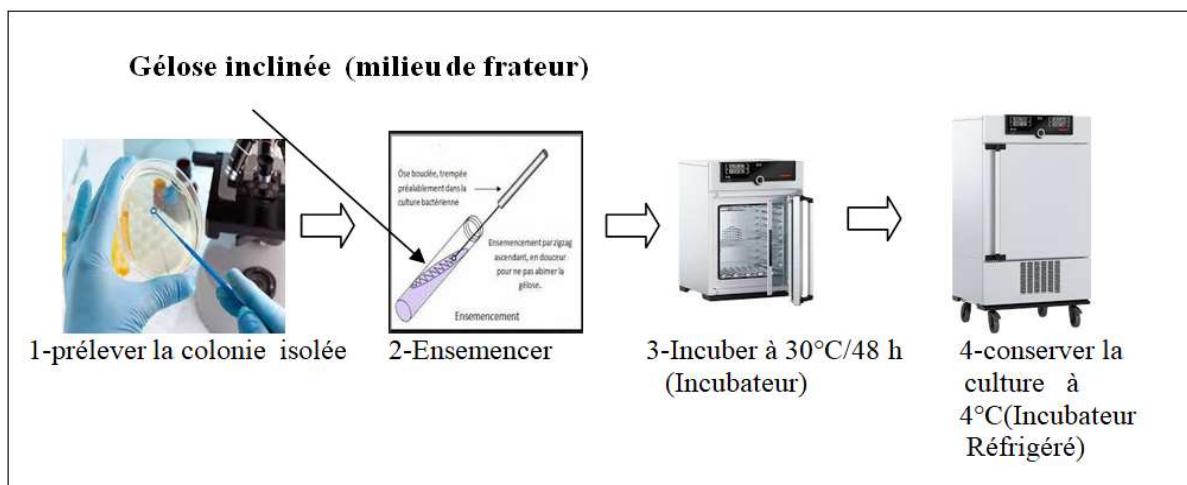


Figure 05 : Schéma qui représente la méthode de conservation des souches isolées pendant quelques semaines (Hamdi, 2021).

7. Protocole expérimentale de fabrication de vinaigre

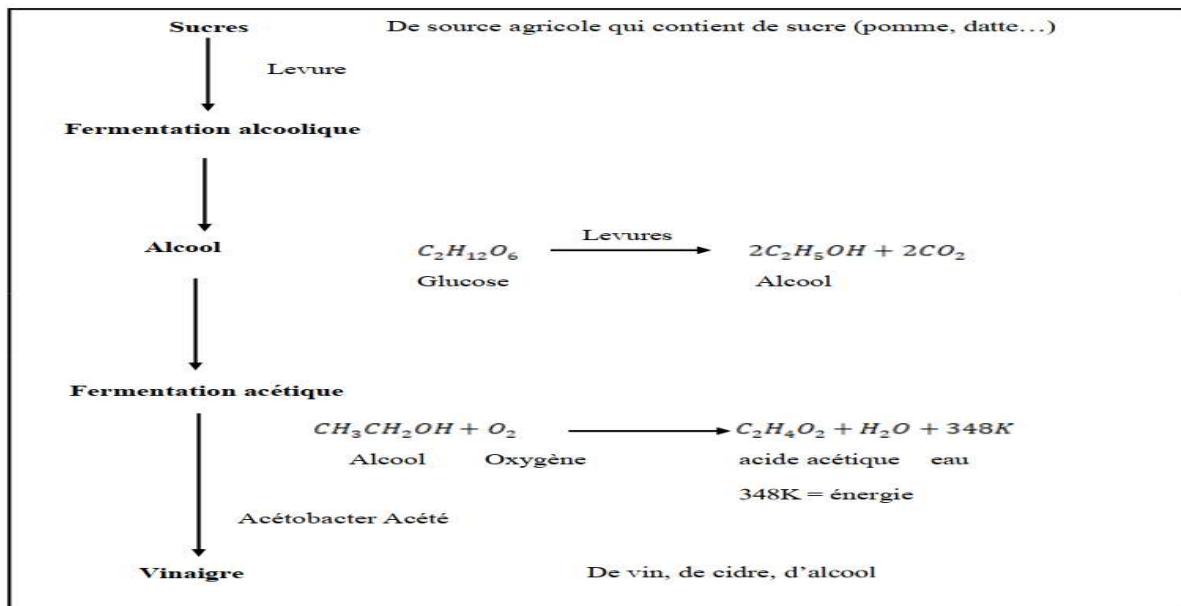


Figure 06: Schéma récapitulatif du protocole expérimental (Bekkair, 2025).

7. Fabrication du vinaigre de datte à l'aide de levure et de bactéries acétiques isolées

La production artisanale de vinaigre de datte à partir de levures et de bactéries acétiques est un procédé biotechnologique en deux étapes: une fermentation alcoolique suivie d'une fermentation acétique. Cette méthode contrôlée permet d'obtenir un vinaigre naturel de haute qualité, tout en préservant les propriétés nutritionnelles et organoleptiques des dattes.

7.1. Ingrédients et matériel nécessaires

Dattes: 1,5 Kg de dattes bien mûres.

Levure: Souche de *Saccharomyces cerevisiae*, spécifiquement adaptée à la fermentation alcoolique.

Bactéries acétiques: les souches acétiques isolées indispensables à la conversion de l'éthanol en acide acétique.

Eau potable: Utilisée pour la dilution et l'extraction des sucres.

Fermenteur: récipient en verre ou en acier inoxydable, assurant une inertie chimique optimale.

7.2 Les étapes de fabrication

7.2.1. Préparation de moût

Les dattes sont soigneusement dénoyautées, broyées, puis mélangées avec l'eau potable afin de constituer un moût riche en sucres. Ce mélange est laissé en macération durant une nuit pour permettre une bonne extraction des composés solubles.

7.2.2. Fermentation alcoolique

Le moût est ensuite ensemencé avec la levure *Saccharomyces cervisiae*, à raison de 1g de levure par litre de moût. La fermentation se déroule à une température contrôlée entre 20°C et 25°C pendant environ une semaine. Durant cette phase, les sucres sont transformés en éthanol.

7.2.3. Fermentation acétique

Une fois la fermentation alcoolique achevée, la boisson obtenue (vin de datte) est inoculée avec les bactéries acétiques isolées. Cette seconde fermentation, réalisée à une température optimale de 25°C à 30°C pendant environ trois semaines, permet l'oxydation de l'éthanol en acide acétique, principal constituant de vinaigre.

7.2.4. Filtration et conditionnement

À l'issue de la fermentation acétique, le vinaigre est soigneusement filtré afin d'éliminer les résidus solides et les microorganismes restants. Il est ensuite stocké dans des contenants hermétiques à l'abri de la lumière et de la chaleur pour préserver sa qualité.



Résultats et discussion

1. Résultats de l'isolement des bactéries acétiques

Les opérations d'isolement et de purification des colonies de bactéries acétiques ont été réalisées à partir d'échantillon de la mère de vinaigre, où elle s'est développée dans du vinaigre de cidre traditionnel.

Aucune colonie caractéristique des bactéries acétiques n'a été observée pour les échantillons de pommes en décomposition. Des bactéries Gram positives ont été observées à partir des pommes altérés. Leur présence indique probablement la prolifération de bactéries acido-tolérantes, possiblement du genre *Lactobacillus* ou *Bacillus*, capables de résister à des conditions acides, suggérant une fermentation secondaire ou une contamination.

Ces expérimentations ont été menées sur un milieu GYC (Glucose-Yeast extract-Calcium carbonate), milieu de culture gélosé couramment utilisé pour la sélection des bactéries acétiques, permettant l'apparition de colonies présentant des caractéristiques culturales spécifiques. L'ensemble de ces propriétés morpho-culturelles observées a été synthétisé et présenté de manière détaillée dans le tableau 3.

Tableau 3. Caractéristiques générales des caractères culturaux des bactéries acétiques isolées sur milieu GYC

	Forme	Couleur	Aspect	Taille
Bactéries isolées de la mère de vinaigre	Ronde irrégulière	Blanche	Lisse, bombée avec une zone claire	1 à 2mm

Les résultats issus de l'isolement des bactéries acétiques sur milieu GYC ont mis en évidence l'apparition de colonies blanches, de forme ronde à contours irréguliers, présentant une surface lisse et légèrement bombée. Ces colonies étaient systématiquement entourées d'une zone claire bien définie, témoignant de la dissolution du carbonate de calcium contenu dans le milieu. Ce phénomène, lié à la production d'acide acétique par la souche isolée, constitue une signature biochimique caractéristique des bactéries acétiques. L'observation de cette clairance renforce l'hypothèse de la présence de bactéries du genre *Acétobacter* ou *Gluconobacter* au sein de la mère de vinaigre utilisée comme source d'inoculum (**Figure 07**).

L'ensemble des colonies isolées à partir de la mère de vinaigre affichait une morphologie homogène, marquée par des marges irrégulières et un diamètre oscillant entre 1 et

2 mm. Les caractéristiques morpho-culturelles observées, notamment la présence d'une zone de clarification autour des colonies, sont en parfait adéquation avec les descripteurs classiques des bactéries acétiques recensés dans des recherches antérieures, notamment par **Ould Elhadj (2001)**. Ces résultats confirment l'efficacité de la méthodologie d'isolement notamment l'utilisation de milieu GYC pour la mise en évidence sélective de ces micro-organismes, attestant de leur activité métabolique typique via la solubilisation de CaCO_3 .



Figure 07. Morphologie des colonies de bactéries acétiques cultivées sur milieu gélosé GYC.



Figure 08. Morphologie des colonies d'une souche de bactérie acétique après une troisième purification sur milieu gélosé de GYC.

2. Résultats des examens microscopiques des colonies isolées

L'observation microscopique des souches à l'état frais révèle une mobilité caractéristique des bactéries acétiques. Après la coloration de gram, les cellules apparaissent sous forme de coccobacilles et des bacilles, de tailles variables, avec une coloration violette et rose indiquant leur nature gram variable. Au microscope, ces bactéries se présentent sous différentes configurations: isolées, en paires (diplobacilles), en chaînettes ou regroupées en amas (**Figure 09**) (**Sengun, 2017**).

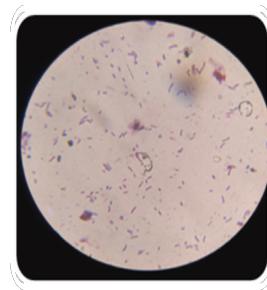


Figure 09. Morphologie des cellules bactériennes après coloration de gram, observées au microscope optique (grossissement $\times 100$).

Bien que les bactéries acétiques, notamment celles du genre *Acétobacter*, soient classées comme gram négatif, certaines cellules peuvent apparaître violettes lors de la coloration de gram, ce qui donne un profil gram-variable. Ce phénomène ne reflète pas une erreur de classification, mais plutôt une altération physiologique temporaire liée à l'état de la paroi cellulaire (Sengun, 2017).

Chez les cellules âgées ou soumises à un stress acide (comme dans le cas d'une culture prolongée dans du vinaigre riche en acide acétique), des modifications structurales surviennent dans l'enveloppe cellulaire.

L'exposition prolongée à l'acide peut provoquer une dégradation partielle de la membrane externe et une exposition accrue de la couche de peptidoglycane. Dans certains cas, cela permet au complexe violet de gentiane–iode (crystal violet–Lugol) de pénétrer et de se fixer plus fermement, rendant la cellule plus résistante à la décoloration par l'alcool.

De plus, le vieillissement cellulaire peut entraîner une rigidification ou un dessèchement de la paroi, ce qui réduit la perméabilité au décolorant et permet à la coloration primaire de persister. Ainsi, bien que la cellule reste gram négatif d'un point de vue structural, elle apparaît faussement gram positif à cause de ces altérations physiologiques.

Ce comportement "gram-variable" est donc un indicateur indirect de stress environnemental ou de sénescence cellulaire, bien documenté dans la littérature scientifique sur les bactéries acétiques (Sengun, 2017).

3. Résultats de la pré-identification des bactéries acétiques

La pré-identification de la souche pure (S1) isolée à partir des échantillons de mère de vinaigre de cidre, a été réalisée sur la base de ces caractéristiques physiologiques et biochimiques.

Pour le test de catalase réalisés sur les souches S1 un résultat positif a été observé suite à la formation des bulles d'aire après l'ajout de l'eau oxygénée sur la colonie testée comme illustré dans **la figure 10.**



Figure 10. Résultats du test à la catalase réalisé sur la souche acétique S1.

Selon **Khelif (2016)**, les isolats du genre *Acétobacter* provenant de la mère de vinaigre de cidre traditionnel présentent une activité catalasique positive. De même, **Arifuzzaman et al. (2014)** rapportent que l'ensemble des isolats d'*Acétobacter* obtenus à partir de mère de vinaigre expriment également une catalase positive. Cette enzyme joue un rôle essentiel dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), un sous-produit toxique de la chaîne d'oxydoréduction, en libérant de l'eau (H_2O) et de l'oxygène moléculaire (O_2), comme le souligne **Guiraud (2012)**.

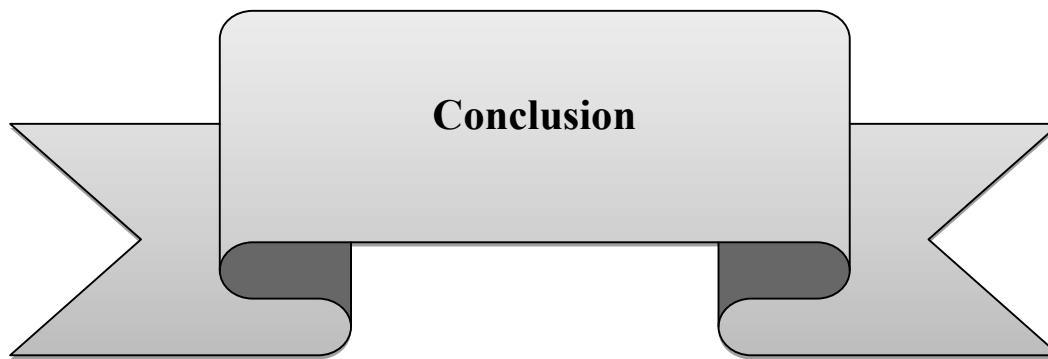
4. Fabrication du vinaigre de datte à l'aide de levures et des bactéries acétiques isolées



Figure 11. Résultats de Fabrication du vinaigre de datte et vinaigre de cidre à l'aide de levure et bactéries acétiques.

Le vinaigre de dattes a présenté des caractéristiques sensorielles et chimiques distinctes. Une odeur acétique intense s'en dégageait, traduisant une forte concentration en acide acétique, accompagnée d'une saveur acidulée marquée, signe d'une oxydation bien avancée. La couleur était brune, résultant des réactions d'oxydation ainsi que des composés phénoliques propres aux dattes.

Une mère de vinaigre bien développée a été observée à la surface, sous forme d'un biofilm cellulosique dense de couleur brune, témoignant d'une forte activité bactérienne, notamment de la part de souches acétiques capables de produire de la cellulose dans des conditions de fermentation favorables.



Conclusion

Conclusion

Cette étude avait pour objectif d'isoler et de caractériser des souches de bactéries acétiques à partir de sources locales, dans le cadre de la valorisation des ressources microbiennes indigènes et de l'exploration du potentiel biologique de l'environnement local.

Les travaux de laboratoire ont permis l'isolement réussi d'une souche appartenant au genre *Acetobacter* ou *Gluconobacter*, à partir d'un échantillon de vinaigre naturel. Les observations microscopiques ont révélé des bactéries en forme de bâtonnets, mobiles et à coloration gram variable. Les tests biochimiques ont confirmé les caractéristiques typiques des bactéries acétiques : catalase positive, oxydase négative, et capacité à oxyder l'éthanol pour produire de l'acide acétique sur milieu GYC (glucose-extrait de levure-carbonate de calcium).

La souche isolée a été utilisée pour la fermentation acétique de deux substrats : le jus de datte et le cidre (jus de pomme). Après 40 jours d'incubation à 30 °C, une production notable d'acide acétique a été observée.

Ces résultats démontrent clairement la capacité de la souche locale à transformer des substrats sucrés en vinaigre par voie biologique. Cela confirme l'intérêt d'exploiter les microorganismes indigènes pour des applications dans le domaine agroalimentaire, notamment la production artisanale de vinaigre.

Recommandations:

Étendre la collecte d'échantillons à d'autres environnements naturels riches en matière organique fermentescible.

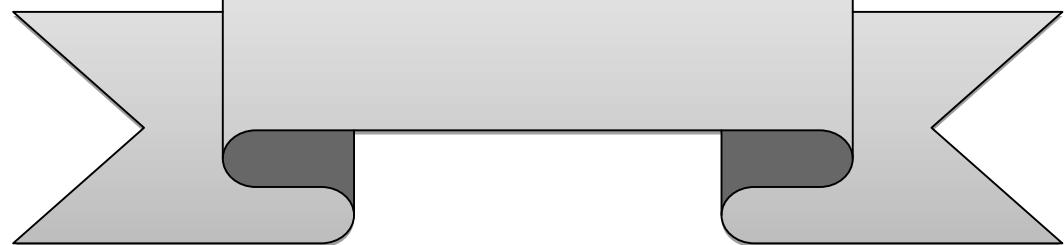
Optimiser les paramètres de culture (température, aération, durée de fermentation) pour améliorer le rendement en acide acétique.

Promouvoir des recherches appliquées autour de la valorisation industrielle des souches locales.

Encourager les collaborations entre instituts de recherche et acteurs industriels pour favoriser l'utilisation durable des ressources microbiennes.

En conclusion, bien que cette étude reste à un stade préliminaire, elle constitue une base scientifique solide pour le développement de projets de recherche orientés vers la biotechnologie microbienne et la valorisation des ressources locales.

Références Bibliographiques



A

Aissa, M., & Talah, I. Z. (2023). Étude sur le vinaigre et sa fabrication à partir des pommes. Université de Tlemcen.

Aliat, R., & Doudou, A. (2022). Analyses physico-chimique et microbiologique du vinaigre de datte. Université Mohamed Khider de Biskra.

Arifuzzaman, M., Zahid Hasan, M., Badier Rahman, S. M., & Kamruzzaman Pramanik, M. (2014). Isolation and characterization of *Acetobacter* and *Gluconobacter spp.* from sugarcane and rotten fruits. *BioSciences*, 8(9), 359–365.

B

Bachi, H., & Bensayah, S. (2017). Recherche et identification de quelques souches de bactéries acétiques issues du vinaigre traditionnel des dattes du cultivar Hamraya: Étude de la thermo-tolérance. Université Kasdi Merbah-Ouargla.

Bekkair, I. (2025). Fabrication de vinaigre à partir des dattes : comparaison avec les vinaigres commerciaux et analyse par chromatographie sur couche mince (CCM). Université de Ghardaïa.

Beneddine, D., & Bentadj, S. (2009). Recherche des substances toxiques dans le vinaigre traditionnel de datte. Université Kasdi Merbah – Ouargla.

Benkhelifa, N. (2018). Étude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et activité antioxydante de quelques vinaigres traditionnels de la région de Ghardaïa. Université de Ghardaïa.

Bhat, S.V., Akhtar, R., & Amin, T. (2014). An overview on the biological production of vinegar. *International Journal of Fermented Foods*, 3(2), 139–155. New Delhi Publishers.

C

Codex alimentaire. (1987). Norme codex pour le vinaigre. Norme régionale africaine. Codex. STAN, 162 p

D

Dahmani, S., & Rebbouh, I. (2009). Étude comparative des caractéristiques physicochimiques de différents types de vinaigres: Le vinaigre traditionnel de dattes (Deglet Nour, Degla Beida, Tacherwit) vinaigre de pommes et vinaigre vendu en épicerie. Université Kasdi Merbeh-Ouargla.

Références bibliographiques

Diba, F., Alam, F., & Talukder, A. A. (2015). Screening of acetic acid producing microorganisms from decomposed fruits for vinegar production. *Advances in Microbiology*, 5, 291–297. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.55028>

E

Esteban, C., & Albornoz, H. (2012). Microbiological analysis and control of the fruit vinegar production process. Doctoral thesis, Rovira i Virgili University, Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Oenology, Tarragona, Spain. 281 p.

F

Frouhat, A., & Drid, A. (2017). Recherche et identification de quelques souches des bactéries acétiques issues du vinaigre traditionnel de datte du cultivar Deglet-Nour : Étude de la thermotolérance. Université Kasdi Merbah-Ouargla.

G

Ge, Y., Wu, Y., Aihaiti, A., Wang, L., Wang, Y., Xing, J., Zhu, M., & Hong, J. (2025). The metabolic pathways of yeast and acetic acid bacteria during fruit vinegar fermentation and their influence on flavor development. *Microorganisms*, 13(3), 477. <https://doi.org/10.3390/microorganisms130>

Gibbs, B. M., & Shaotan, D. A. (1968). Identification methods for microbiologists (Technical Series No. 2). Academic Press.

Gomes, R. J., Borges, M. de F., Rosa, M. de F., Castro-Gómez, R. J. H., & Spínosa, W.A. (2018). Acetic acid bacteria in the food industry: Systematics, characteristics and applications. *Food Technology and Biotechnology*, 56(2). <https://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5593>

Guiraud J.P. (2012). *Microbiologie alimentaire*. Ed. Dunod, Paris, 696 p.

H

Hamdi, W. (2021). Recherche et identification de quelques souches de bactéries acétiques issues du vinaigre traditionnel de dattes Sahara Septentrional est-Algérien : Etude du pouvoir acidifiant. Université Kasdi Merbah Ouargla.

Hua, S., Wang, Y., Wang, L., Zhou, Q., Li, Z., Liu, P., Wang, Ke, Zhu, Y., & Han, D., & Yu, Y. (2024). Regulatory mechanisms of acetic acid, ethanol and high temperature tolerances of acetic acid bacteria during vinegar production. *Microbial Cell Factories*, 23(1), 324. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02602-y>

K

Références bibliographiques

Khelif, F. (2016). Recherche et identification des quelques souches des bactéries acétiques issues de vinaigre traditionnel des dattes du Sahara septentrional Est algérien : Étude du pouvoir acidifiant . Université Kasdi Merbah Ouargla.

Khelil, K. (2022). Étude comparative de deux vinaigres : vinaigre de dattes et vinaigre de pommes .Université Kasdi Merbah – Ouargla.

Kourouma, M. C., Mbengue, M., Sarr, K., & Touré Kane, C. (2021). Isolement, identification et caractérisation de souches de bactéries acétiques à partir d'un alcool de mangue fermenté. International Journal of Advanced Research, 9(3), 271–281.

<https://doi.org/10.21474/IJAR01/12580>

M

Madigan, M. T., & Martinko, J. M. (2007). Brock – Biologie des micro-organismes (11e éd., trad. D. Prieur). Pearson Éducation / De Boeck Université.

Maredj, S., & Keddar, F. (2023). Recherche et identification de quelques souches de bactéries acétiques issues du vinaigre traditionnel. Université Abdelhamid Iben Badis Mostaganem.

Matsushita, K., Toyama, H., Tonouchi, N., & Okamoto-Kainuma, A. (Eds.). (2016). *Acetic acid bacteria: Ecology and physiology*. Springer.
<https://doi.org/10.1007/978-4-431-55933-7>

O

Ouattara, Y. A., Soro, D., Fossou, K. R., Yebouet, A. C. I., Cissé, I. A., Akissi, D. M., Zézé, A., Assidjo, E., & Yao, K. B. (2025). Isolation and characterization of indigenous Acetobacter strains from cashew apple and their potential use in vinegar production. Fermentation, 11(1), Article 38.

Ould El Hadj M. D., Sebihi A. H., et Siboukeur O. (2001). Qualité Hygiénique et Caractéristiques Physico-Chimiques du Vinaigre Traditionnel de Quelques Variétés de Dattes de la Cuvette de Ourgla. Rev. Energ. Ren, Production et Valorisation-Biomasse, 6: 87–92.

Ouoba, L. I. I., Kando, C., Parkouda, C., Sawadogo-Lingani, H., Diawara, B., & Sutherland, J. P. (2012). The microbiology of Bandji, palm wine of Borassus akeassii from Burkina Faso: Identification and genotypic diversity of yeasts, lactic acid and acetic acid bacteria. Journal of Applied Microbiology, 113(6), 1428–1441.
<https://doi.org/10.1111/jam.12014>

R

Références bibliographiques

Rahman, M., Burhan uddin, M., Aziz, M. G., Abunaser, M., Haque, M. R., & Rana Siddiki, M.S.(2024, March). Isolation and characterization of acetic acid bacteria from pineapple, sugarcane, apple, grape, pomegranate, and papaya fruit. European Journal of Agriculture and Food Sciences, 14-18.

Rehouma, K., & Ben retmia, F. (2016). Contribution à l'amélioration de la méthode de fabrication du vinaigre de dattes. Université Kasdi Merbah Ouargla.

Román-Camacho, J. J., García-García, I., Santos-Dueñas, I. M., García-Martínez, T., & Mauricio, J. C. (2023). Latest trends in industrial vinegar production and the role of acetic acid bacteria: Classification, metabolism, and applications — A comprehensive review. Foods, 12(19), 3705.

<https://doi.org/10.3390/foods12193705>

Romero-Cortes, T., Robles-Olvera, V., Rodríguez-Jiménez, G., & Ramírez-Lepe, M. (2012). Isolation and characterization of acetic acid bacteria in cocoa fermentation. African Journal of Microbiology Research, 6(2), 339-347.

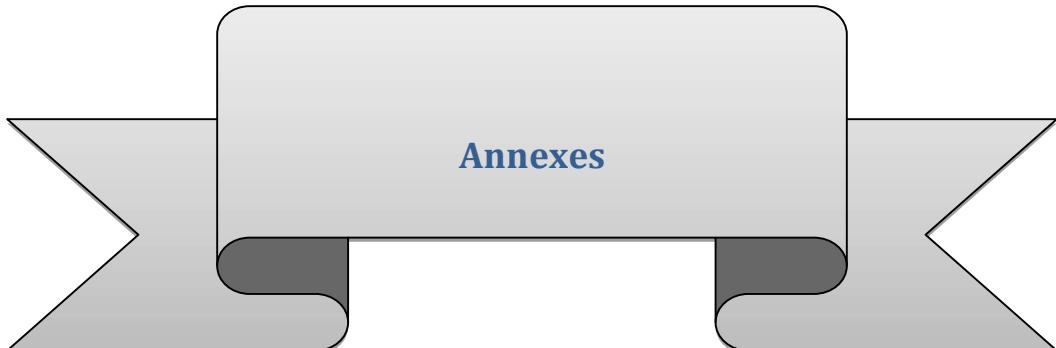
S

Sahoo, B. K., Mishra, R. R., & Behera, B. C. (2020). Isolation and Identification of Thermotolerent Acetic Acid Bacteria from Waste Fruits. Asian Journal of Biological and Life Sciences, 9(2), 42-46.

<https://doi.org/10.5530/ajbls.2020.9.32>

Sengun, I. Y. (2017). Acetic acid bacteria: Fundamentals and food applications. CRC Press.

Senouci Berekhi, M., & Abdelouhid, D. E. (2010). Méthodes et techniques en bactériologie (1.04.5168). Office de publications universitaires.

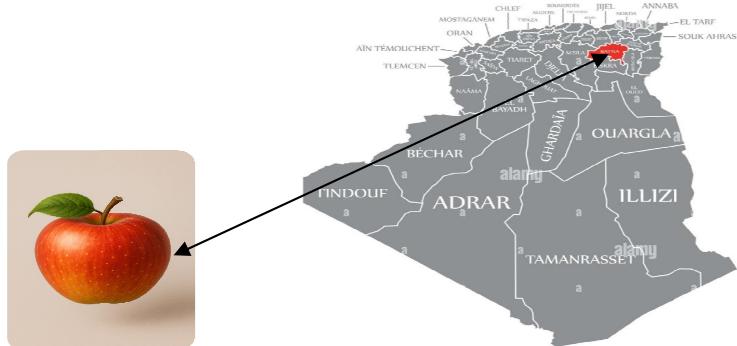


Annexes

Annexe 01

Pommes altéres :

Lieu de fabrication de cider	Batna
Quantité de cider :Kg	9



Vinaigre de datte:

Lieu de fabrication de vinaigre:	constantin
Datte de fabrication de vinaigre :	Fev 2024
Datte de l'échantillonnage :	Fev 2027
Quantité de vinaigre collecté : ml	750

Vinaigre de cidre :

Lieu de fabrication de vinaigre:	constantin
Date de fabrication de vinaigre :	/
Date de l'échantillonnage:	/
Quantité de vinaigre collecté : ml	500

Vinaigre de raisin :

Lieu de fabrication de vinaigre:	constantin
Datte de fabrication de vinaigre :	/
Datte de l'échantillonnage :	/
Quantité de vinaigre collecté : ml	/

Vinaigre de pomme :

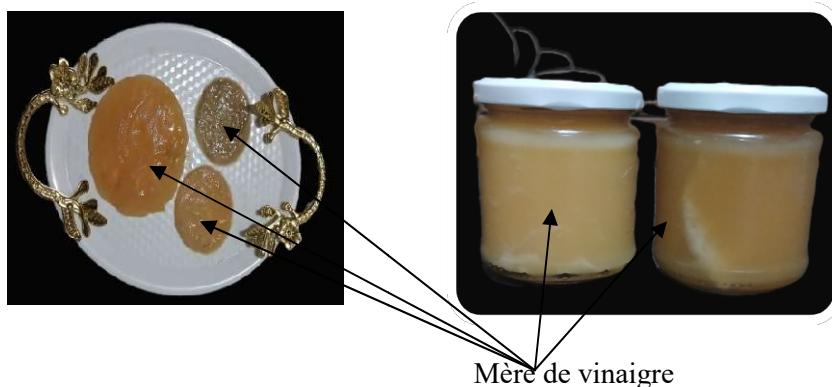
Lieu de fabrication de vinaigre:	constantin
Datte de fabrication de vinaigre :	JAN 2024
Datte de l'échantillonnage :	JAN 2027
Quantité de vinaigre collecté : ml	750

Vinaigre de pomme : (mère de vinaigre)

Lieu de fabrication de vinaigre	Bouira
Datte de fabrication de vinaigre :	08/02/2023
Datte de l'échantillonnage :	07/02/2028
Quantité de vinaigre collecté : ml	250



⇨ vinaigre



1. Milieu d'isolement et de purification

1.1. Milieu naturel

Constituants	Quantité en g/L
Agar	4g
Vinaigre de dattes	40mL
Eau distillée	160mL

pH ajusté à : 4,41

Le milieu est stérilisé à 120°C pendant 15minutes, puis refroidi à 45°C avant d'être verse dans des boîtes de pétri de manière aseptique.

1.2. Milieu Frateur

Constituants	Quantité en g/L
Extrait de levure	30 g
Carbonate de calcium (CaCO ₃)	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 mL

pH initial : 5,97

Mode de préparation:

Stériliser le milieu par autoclavage à 120 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45 °C, puis incorporer 100 mL d'éthanol à 15 %, préalablement stérilisé par filtration. Homogénéiser soigneusement le mélange avant de le couler dans des boîtes de Pétri.

1.2. Milieu GYC (Glucose-Extrait de levure-Carbonate de calcium)

Ce milieu est couramment utilisé pour l'isolement et la culture des bactéries acétiques, grâce à richesse en glucose et en nutriments essentiels:

Constituants	Quantité en g/L
Extrait de levure	10 g/L
D-glucose	50 g/L
Carbonate de calcium (CaCO ₃)	30 g/L
Agar	25 g/L
Eau distillée	1000 ml

pH ajusté à 6,10

Le milieu est stérilisé par autoclave à 120°C pendant 15minutes, puis refroidi à 45°C avant d'être coulé dans des boîtes de pétri de manière aseptique.

2.Milieu d'identification**2.1-Milieu de carr**

Constituants	Quantité en g/L
Extrait de levure	30 g
Vert de bromocrésol	0,02g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml

Après stérilisation à 120°C pendant 15minutes, le milieu est refroidi à 45°C, puis enrichi par l'ajout de 3% d'éthanol stérilisé par filtration. Il est ensuite homogénéisé et réparti dans des boîtes de pétri.

2.2-Milieu de test du pouvoir cétogène(oxydation du glycérol)

Constituants	Quantité en g/L
Extrait de levure	5 g
Glycérol	20g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml

Stériliser à 120°C pendant 15 minutes, puis refroidir à 45°C avant de couler en boîtes de pétri.

2.3-Milieu de Hoyer(utilisation de l'ammonium comme source d'azote)

Constituants	Quantité en g/L
(NH₄)₂SO₄	2g
K₂HPO₄	0,1g
KH₂PO₄	0,9g
MgSO₄·7H₂O	0,25g
FeCl₃·6H₂O	5mg
Eau distillée	1000 ml

Distribuer 9ml de ce milieu dans des tubes à essai, puis stériliser à 120°C pendant 15minutes. Après refroidissement, ajouter dans chaque tube 1ml d'éthanol à 30%, préalablement stérilisé par filtration.

2.4-Milieu de test de pigmentation:(test de formation de pigments bruns hydrosolubles)

Constituants	Quantité en g/L
Glucose	50 g
Extrait de levure	10 g
Carbonate de calcium (CaCO ₃)	30 g
Agar	25 g
Eau distillée	1000 ml

pH ajusté à 4,50

Stériliser le mélange à 120°C pendant 15minutes, laisser refroidir à 45°C, puis répartir dans des boîtes de pétri sous conditions aseptiques.

2.5- Milieu de formation d'acide gluconique

Constituants	Quantité en g/L
Extrait de levure	10 g
Glucose	100 g
Carbonate de calcium (CaCO ₃)	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

Le milieu est stérilisé à 120°C pendant 15 minutes, puis refroidi à 45°C avant d'être réparti de manière aseptique dans des boîtes de pétri.

2.6-Milieu de formation d'acide céto-gluconique

Ce milieu permet de détecter la production d'acide céto-gluconique, un métabolite secondaire issu de l'oxydation du glucose:

Constituants	Quantité en g/L
Extrait de levure	1 g
Peptone	1,5 g
Phosphate dipotassique(K ₂ HPO ₄)	1 g
Glucose	40 g
Eau distillée	1000 ml

Distribuer 10ml de ce milieu dans des tubes à essai, puis procéder à la stérilisation par autoclave à 120°C pendant 15minutes.

2-7-Milieu de test de production de cellulose (Bouillon pour bactéries acétiques)

Constituants	Quantité en g/L
Extrait de levure	10 g
Glucose	100 g
CaCO₃	20 g
Eau distillée	1000 ml

Verser 10mL dans chaque tube, puis stériliser à 120°C pendant 15minutes.

2-8-Eau physiologique

Constituants	Quantité en g/L
Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	1000 ml

2-9-Réactif de bendict

Il es prepare selon la formulation suivant

Constituants	Quantité en g/L
Sulfate de cuivre(CuSO₄)	1,7g
Carbonate de sodium anhydre	10 g
Citrate de sodium	17,3g
Eau distillée	1000 ml

Annexe:03

Tableau 2: Espèces des bactéries acétiques(Gibbs & Shapton,1968).

GENUS	Acetobacter							
SPECIES	<i>aceti</i>	<i>xylinum</i>	<i>mesoxydans</i>	<i>lovanicense</i>	<i>rancens</i>	<i>ascendens</i>	<i>peroxydans</i>	<i>paradoxum</i>
Overoxidation of ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	-	-
Growth in Hoyer's medium	+	-	-	+	-	-	+	-
Acid from glucose	+	+	+	+	+	-	-	-
Dihydroxyacetone from glycerol	+	+	+	-	-	-	-	-
Production of cellulose	-	+	-	-	-	-	-	-
Brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-

Résumé

Les bactéries acétiques sont des micro-organismes extrêmement importants dans l'industrie agroalimentaire, notamment en raison de leur capacité à oxyder l'éthanol en acide acétique, un processus clé dans la production de vinaigre.

Notre étude a porté sur l'isolement de bactéries acétiques à partir de la mère du vinaigre (souche S1). Cette souche a été soumise à des examens microscopiques et à une série de tests biochimiques. Les résultats ont permis de déterminer les caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques de l'isolat, qui a été identifié comme appartenant aux bactéries acétiques.

Pour la produire du vinaigre expérimental, des échantillons de datte ont été préparés et inoculés avec des cultures bactéries acétique. Les échantillons ont été placés dans des bocaux en verre recouverts d'un tissu aéré et incubés à 30 °C pendant 40 jours.

Mots-clés : bactéries acétiques, micro-organismes, vinaigre, vinaigre de cidre, vinaigre de datte.

Abstract

Acetic acid bacteria are extremely important microorganisms in the food industry, particularly due to their ability to oxidize ethanol to acetic acid, a key process in vinegar production.

Our study focused on the isolation of acetic acid bacteria from the parent of vinegar (strain S1). This strain was subjected to microscopic examinations and a series of biochemical tests. The results made it possible to determine the morphological, physiological, and biochemical characteristics of the isolate, which was identified as belonging to the acetic acid bacteria.

To produce experimental vinegar, two samples of date and cider were prepared and inoculated with Acétobacter cultures. The samples were placed in glass jars covered with aerated cloth and incubated at 30°C for 40 days.

Keywords: acetic acid bacteria, microorganisms, vinegar, cider vinegar, date vinegar, *Acetobacter* bacteria

ملخص

تعد بكتيريا حمض الأسيتيك كائنات دقيقة بالغة الأهمية في صناعة الأغذية، لا سيما لقدرتها على أكسدة الإيثانول إلى حمض الأسيتيك، وهي عملية أساسية في إنتاج الخل

ركزت دراستنا على عزل بكتيريا حمض الأسيتيك من أم الخل (السلالة S1).

حضرت هذه السلالة لفحوصات مجهرية وسلسلة من الاختبارات الكيميائية الحيوية.

أتاحت النتائج تحديد الخصائص المورفولوجية والفيسيولوجية والكيميائية الحيوية للعزلة، التي تم تحديدها على أنها تتتمى بكتيريا حمض اسيتيك

لإنتاج خل تجاري، تم تحضير عينتين من التمر وعصير التفاح وتلقيحهما بمستنبتات بكتيريا اسيتيك

وُضعت العينات في مرتديانات زجاجية مغطاة بقطعة قماش مهوية، وُحضرت عند درجة حرارة 30 درجة مئوية لمدة 40 يوماً.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض الأسيتيك، كائنات دقيقة، خل، خل التفاح، خل التمر،