

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES**



**Faculté des Sciences de l'Ingénieur**

**Département de Technologie Alimentaire**

**Laboratoire de Recherche Technologie Alimentaire LRTA**

**Option : Technologie Alimentaire**

## **MEMOIRE DE MAGISTER**

**Thème :**

**Analyse du processus traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes tel qu'appliqué au sud algérien :  
essai d'optimisation**

**Présenté par : Mr BOUKHIAR Aissa**

**Le 01- 07-2009**

Soutenu devant le jury composé de :

Mr AMMOUCHE Ali

Mr SAHMOUNE Mohamed Nasser

Mme AMELLAL Hayet

Mr BENAMARA Salem

Mlle HALLADJ Fatima

Pr, ENSA El harrach

MC-B-, UMBB

MC-B-, UMBB

Pr, UMBB

CC, UMBB

Président

Examineur

Examineur

Promoteur

Co-promoteur

Année universitaire : 2008/2009

## ملخص

يوجد حالياً على المستوى العالمي ميول ملحوظ للمستهلكين نحو المنتجات البيولوجية المحلية خاصة. يعد خل التمر المنتج بطريقة تقليدية في بعض مناطق الجنوب الجزائري غير موثوق في نوعيته. إذ أنه لا يستجيب للمعايير الفيزيوكيميائية التي ينادي بها التشريع المعمول به. كون محتوى الأحماض الكلية يقدر بـ  $(2.48 \pm 0.02 \%)$  وهو أقل بكثير من الحد الأدنى المطلوب (5%). أما كمية الكحول فنقدر بـ  $(4.83 \pm 0.07 \%)$  فهي تتجاوز بكثير الحد الأقصى المرخص به (0.5%). أظهرت التجارب التي أجريت في المخبر أنه يستحيل الحصول على خل التمر مطابق لمواصفات النوعية بالتخمير المزوج (الكحولي - الأسييتيلي) المتزامن التلقائي. إن هذه الطريقة التقليدية محفوفة بالمخاطر و قد تؤدي بصحة المستهلكين إلى الخطر، ومن أجل تفادي ذلك قمنا باقتراح تحسين لهذه الطريقة . لأجل إيجاد الشروط المثلى، كل مراحل إنتاج الخل تعرضت للدراسة. كخطوة أولى ، قمنا بدراسة استخراج العصير من التمر بتطبيق المخطط التجريبي. العصير المستخرج خضع للتخمير الكحولي بواسطة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. قصد تسهيل مراقبة التخمير الكحولي درسنا إمكانية استخدام refractometry (جهاز قياس انحراف الأشعة) . وقد سمح هذا الأخير بالكشف عن علاقة جيدة ( $R^2 = 0.98$ ) بين  $^{\circ}\text{Brix}$  (تركيز المواد المذابة) الأولي والنهائي :  $^{\circ}\text{Brix}_f = 0.377 \times ^{\circ}\text{Brix}_i$  . وبالإضافة إلى ذلك ، تمكنا من التحقق من وجود علاقة بين التغير في  $^{\circ}\text{Brix}$  الأولي والنهائي ( $\Delta ^{\circ}\text{Brix}$ ) وكمية الكحول المنتجة ( $A_{\text{exp}}$ ) :  $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix}/A_{\text{exp}}} = 1.1$  . وهذا الأخير مكننا من رسم المنحنيات البيانية isoréponses التي تسمح بتحديد كمية الكحول و معدل السكر المتبقي خلال التخمير الكحولي (الخطأ النسبي المتوسط 5.35%). بعد التخمير الكحولي العصير يخضع إلى تخمر ثاني أسييتيلي الذي يفضى في الأخير إلى المنتج النهائي "خل التمر" المطابق لخصوصيات الخل البيولوجي.

**كلمات دالة :** تثمين، التمر، الخل ، التخمير الإيثيلي، التخمير الأسييتيلي ، الفينولات، الكحول ، انحراف الأشعة، استخراج العصير، المخطط التجريبي.

## Abstract

The trend of consumption worldwide is towards biological products especially the local ones. The quality of the vinegar obtained by traditional way in certain southern Algerian areas is questionable since its total acid content ( $2.48 \pm 0.02\%$ ) is much lower than the standards recommended (5%). The alcoholic rate is ( $4.83 \pm 0.07\%$  v/v) which is more higher than the standards recommended (0.5%). The experiments at the laboratory show that it is illusory to obtain lawful date vinegar by a double fermentation (alcoholic / acetic) simultaneously and spontaneously. This traditional process is sullied with risks (development of the moulds particularly) that is embodied in endangering the health of the consumers. To avoid these risks, we recommend an improvement in this process. To get ideal conditions, all the process of obtaining the vinegar was studied. Initially, the extraction of the juice-substrate was optimized by application of the experimental designs. The extracted juice undergoes an alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. The study of the possible use of refractometry as a sole means for the in situ control of this process revealed a good correlation ( $R^2 = 0.98$ ) between initial and final ° Brix:  $^{\circ}\text{Brix}_f = 0.377 \times ^{\circ}\text{Brix}_i$ . In addition, we verified the relationship between the variation in final and initial ° Brix ( $\Delta^{\circ}\text{Brix}$ ) and alcoholic rate produced ( $A_{\text{exp}}$ ):  $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix}} / A_{\text{exp}} = 1.1$ . This allows the tracing of abacus **isoresponses** that permit to determine the alcoholic and residual sugar rates with a mean relative error (MRE) of 5.35%. The product thus obtained from the first fermentation undergoes an acetification by the means of acetic bacteria leading to a finished product “date vinegar” having characteristics of biological one.

**Key words:** valorization, dates, *Degla-Beida*, phenolic compounds, alcoholic fermentation, acetic fermentation, vinegar, extraction, refraction index, experimental design.

## Résumé

La tendance de consommation à l'échelle mondiale va vers les produits biologiques et de terroir. La qualité du vinaigre de dattes obtenue par voie traditionnelle (double fermentation simultanée et spontanée : alcoolique/acétique) dans certaines régions du sud algérien est douteuse puisque son acidité totale est très en deçà ( $2.48 \pm 0.02\%$ ) des normes préconisées par la réglementation en vigueur (5%). La teneur en alcool est, quant à elle excessive ( $4.83 \pm 0.07\%$  v/v) alors que la norme recommande un seuil maximum de 0,5%. Les expériences au laboratoire ont démontré qu'il est illusoire d'obtenir un vinaigre de dattes réglementaire par un tel procédé. Ce qui nous a amené à proposer quelques mesures d'amélioration, tenant compte des risques encourus par la consommation d'un tel vinaigre : développement des moisissures particulièrement. Par soucis d'optimisation, tout le processus d'obtention du vinaigre a été étudié. Dans un premier temps, l'extraction du jus-substrat a été optimisée par application des plans d'expériences. Le jus extrait subit une fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae*. L'étude de la possibilité d'utilisation de la réfractométrie comme moyen unique pour le contrôle in situ de ce processus a révélé une bonne corrélation ( $R^2 = 0,98$ ) entre les °Brix initial et final :  $^{\circ}\text{Brix}_f = 0.377 \times ^{\circ}\text{Brix}_i$ . De plus, nous avons vérifié la relation entre la variation du °Brix final et initial ( $\Delta^{\circ}\text{Brix}$ ) et le degré alcoolique expérimental ( $A_{\text{exp}}$ ) :  $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix}/A_{\text{exp}}} = 1.1$ . Ce dernier permet le traçage d'abaque d'isoréponses facilitant l'accès au taux d'alcool produit et au taux de sucres résiduels avec une erreur relative moyenne (MRE) de 5,35%. Le produit de cette première fermentation a subi une acétification ayant abouti à un produit fini ayant des caractéristiques d'un vinaigre biologique.

**Mots clés :** valorisation, dattes, *Degla-Beida*, polyphénols, fermentation alcoolique, fermentation acétique, vinaigre, extraction, indice de réfraction, plans d'expériences.

## Remerciement

*Nous remercions le seigneur tout puissant de nous avoir accordé volonté et patience dans l'accomplissement de ce travail à terme.*

*Ce travail a été réalisé aux laboratoires pédagogiques du Département de Technologie Alimentaire, Laboratoire de Recherche Technologie Alimentaire, Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Boumerdes et l'entreprise de production du vinaigre SIDNA de l'Hussein Dey.*

*Mes remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail en particulier :*

*Mr Benamara S., Professeur à l'université de Boumerdes (UMBB) pour avoir accepté de m'encadrer et de me diriger, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Mlle Halladj F., Chargée de cours à l'université de Boumerdes (UMBB) pour l'encadrement et tous ce qu'elle nous a fait.*

*Mr Ammouche A., Professeur à ENSA d'El-Harrach pour l'honneur qu'il m'a fait en présidant mon jury.*

*Mr Sahmoune M. N., Maître de conférence à l'université de Boumerdes (UMBB) pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour ses encouragements tout au long de ce travail.*

*Mme Amellal H., Maître de conférence à l'université de Boumerdes (UMBB) pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour ses encouragements tout au long de ce travail.*

*Mr NOUANI A., Chef du Département de Technologie Alimentaire pour les facilités qu'il m'a accordé tout au long de ce travail.*

*Mme Annou, Mme Gougam, Mr Djouab, Mr Benchama, Mr Meddahi, Mr Iguedad, Mme Haderbache, Mr Megdoud, Mme Benmalek, ainsi que tous les enseignants (es) et laborantins (es) du DTA pour leur aide.*

*Un grand merci à Mr Ziani K, de m'avoir accueilli au sein de son entreprise « SIDNA ».*

*Sans oublier, Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à tous les Magisters de Technologie Alimentaire « promotion 2006 ».*

*Je dédie ce travail à*

*A la mémoire de mon père*

*A ma très chère mère*

*A mes très chères frères et sœurs*

*A toute ma famille*

*A tous mes amis (es)*

*A BARBACHA*

# *Sommaire*

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## **Synthèse bibliographique**

### **Chapitre I : La datte**

I-1- Les dattes .....	3
I-2- Formation et évolution de la datte.....	3
I-3- Classification des dattes.....	5
I-4- Production de dattes.....	5
I-5- Production des dattes communes .....	7
I-6- Composition biochimique de la datte.....	8
I-7- Usage médicinale et alimentaire de la datte.....	10
I-8- La technologie de la datte.....	10
I-8-1- Conditionnement de la datte.....	10
I-8-2-Transformation de la datte.....	10
I-8-3-Importance économique de la transformation de la datte.....	12

### **Chapitre II : Le vinaigre**

II-1- Définition et réglementation .....	14
II-2- Les différents types de vinaigre et les matières premières utilisées.....	14
II-3- La consommation du vinaigre.....	15
II-4- Technologie du vinaigre.....	15
II-4-1- La fermentation alcoolique .....	17
II-4-2- La fermentation acétique .....	20
II-5- La double fermentation spontanée.....	25
II-6- la composition du vinaigre .....	25
II-7- Les utilisations du vinaigre.....	26
II-8- Les vertus du vinaigre.....	26

### **Chapitre III : Matériel et Méthodes**

III-1- Matériel végétal .....	28
III-1-1- Choix de la variété.....	28
III-1-2- Obtention et conservation des échantillons.....	28
III-2- Méthodes d'analyses.....	28
III-2-1- Caractérisation morphologique de la datte entière et de ses deux tissus.....	29



III-2-2- Caractérisation physicochimique de la pulpe.....	29
III-2-3- Essai de production du vinaigre à partir de la datte Degla-Beida selon la méthode traditionnelle (Appliquée dans la région du M'Zab dans le sud algérien).....	36
III-2- 4- Caractérisation physicochimique des produits obtenus.....	39
III-2-5- Essai d'obtention du vinaigre à partir d'un extrait (jus) de dattes par l'application du procédé industriel.....	41
III-2-5-1- Extraction d'un jus sucré à partir de dattes (Degla-Beida).....	41
A- Modélisation du processus d'extraction du jus de dattes.....	41
B- Obtention effective du jus de dattes.....	42
C- Caractérisation et correction du jus obtenu.....	42
III-2-5-2- Essai d'utilisation de la réfractométrie comme méthode rapide d'estimation du degré alcoolique et de la teneur en sucres résiduels au cours de la fermentation alcoolique.....	42
A- La réfractométrie .....	43
B- Réalisation expérimentale.....	44
III-2-5-3- Phases et étapes de la production du vinaigre de dattes par double fermentation..	44
A- Fermentation alcoolique en discontinu.....	45
B- Fermentation acétique .....	48

## **Chapitre IV : Résultats et Discussions**

IV-1- Caractéristiques de la matière première (Degla-Beida) .....	50
IV-1- 1- Caractéristiques morphologiques de la datte.....	50
IV-1- 2- Caractérisation physicochimique et biochimique de la datte.....	52
IV-2- Analyse du processus traditionnel de production du vinaigre.....	57
V-2-1- Fermentation à la température ambiante.....	57
V-2-2- Fermentation à la température 30 °C.....	62
V-2-3- Caractérisation physicochimique du produit obtenu au laboratoire (température ambiante) et du vinaigre provenant de la région M'Zab.....	63
IV-2-4- Proposition d'amélioration du processus de fabrication du vinaigre traditionnel....	65
IV-3- Essai d'obtention du vinaigre à partir d'une double fermentation provoquée d'un jus de dattes de la variété « Degla-Beida » .....	66
IV-3-1- Extraction du jus de dattes.....	66
IV-3-1-1- Modélisation de l'extraction du jus de dattes.....	66
A- Modélisation de l'évolution du TSS (°Brix) au cours du processus d'extraction.....	66

B- Modélisation de l'évolution de la couleur (IB) au cours du processus d'extraction...	69
C- Modélisation de l'évolution du pH au cours du processus d'extraction.....	72
IV-3-1-2- Approche d'optimisation du processus d'extraction .....	74
IV-4- Détermination de quelques caractéristiques physicochimiques et biochimiques du jus obtenu.....	79
IV-5- Essai d'utilisation de la réfractométrie comme méthode rapide d'estimation simultanée de la teneur en alcool et en sucres résiduels au cours de la fermentation alcoolique par <i>S. cerevisiae</i> .....	80
IV-5-1- Changement du milieu au cours de la fermentation alcoolique.....	80
IV-5-2- Effet de certains composés du moût de dattes sur l'indice de réfraction : essai préliminaire.....	80
IV-5-3- Etude de l'influence du °Brix du jus de dattes et d'alcool sur l'indice de réfraction (ou °Brix) du mélange réactionnel .....	81
IV-5-4- Taux de conversion « C <sub>SA</sub> » du sucre en alcool pendant la fermentation alcoolique par <i>S. cerevisiae</i> .....	83
IV-5-5- Détermination de la courbe d'évolution du taux de sucres en fonction du °Brix dans le cas d'une fermentation d'un jus de datte à 12,5 °Brix.....	84
IV-5-6- Validation de la méthode réfractométrique dans le suivi de la fermentation alcoolique.....	87
IV-6- Procédés de fermentation alcoolique du jus de dattes obtenu.....	92
IV-7- Fermentation acétique et mesures d'améliorations possibles du procédé traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes.....	99
IV-7-1- Fermentation acétique.....	99
IV-7- 2- Mesures d'améliorations possibles du procédé traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes .....	100
<b>Conclusion</b> .....	101

## Références bibliographiques

### Annexes

Annexe 1 : Méthodologie des plans d'expériences

Annexe 2 : Courbes d'étalonnage

Annexe 3 : Essai préliminaire

## Liste des figures

Figure I-1 : Datte et noyau du palmier dattier.....	3
Figure I-2 : Formation et maturation des dattes.....	4
Figure I-3 : Les importants changements pendant le développement des dattes.....	5
Figure I-4 : La production des dattes .....	6
Figure I-5 : Prévision de la série production de dattes sèches.....	7
Figure I-6 : Technologies de la datte.....	13
Figure II-1 : Part du marché mondial du vinaigre par type.....	15
Figure II-2: Fermentation alcoolique.....	18
Figure II-3 : Schéma de biosynthèse de l'acide acétique.....	21
Figure II-4: Représentation graphique des deux méthodes de production de vinaigre (culture en surface et culture submergée) .....	22
Figure II-5 : Schéma d'un tonneau préparé pour l'acétification selon le procédé d'Orléans.....	22
Figure II-6 : Schéma de l'acétification à biomasse fixée sur des copeaux de hêtre.....	23
Figure II-7 : Acetator de Frings.....	24
Figure III-1 : Photographie de la datte entière Degla-Beida et de ses tissus constitutifs.....	28
Figure III-2 : Principales étapes d'extraction des polyphénols. ....	34
Figure III-3 : Principe du processus de la double fermentation combinée appliquée dans la production traditionnelle du vinaigre de dattes (Sud Algérien).....	37
Figure III-4 : Diagramme de préparation du vinaigre traditionnel au laboratoire.....	37
Figure III-5 : Dispositif de mesure de l'acidité volatile.....	40
Figure III-6 : Organigramme d'extraction du jus de dattes.....	42
Figure III-7 : Production du vinaigre par une double fermentation tel qu'appliquée à l'échelle industrielle.....	45
Figure III-8 : Etapes de préparation du jus de dattes « moût » pour la fermentation.....	45
Figure III-9 : Diagramme de déroulement de la fermentation alcoolique.....	46
Figure III-10 : Dispositif de la fermentation alcoolique (ce dispositif est introduit dans une étuve thermo-sta-tée). ....	47
Figure III-11 : Procédures de suivi de quelques paramètres physicochimiques du milieu réactionnel.....	47
Figure III-12 : Diagramme de déroulement de la fermentation acétique.....	49
Figure IV-1 : Pourcentage de la pulpe, de ses deux tissus constitutifs et du noyau dans la datte entière. ....	51
Figure IV- 2 : Teneur en polyphénols de la datte en fonction du type de solvants et de la durée d'extraction.....	55
Figure IV-3 : Evolution de la température au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de la variété Degla-Beida.....	57

Figure IV- 4 : Evolution du °Brix au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de la variété Degla-Beida. ....	58
Figure IV-5 : Evolution du pH au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de variété Degla-Beida. ....	59
Figure V-6 : Evolution du °Brix au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de variété Degla-Beida. ....	60
Figure V-7 : Evolution du taux d'alcool au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de la variété Degla-Beida à température ambiante. ....	60
Figure IV-8: Evolution de la conductivité électrique au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de la variété Degla-Beida. ....	62
Figure IV-9: Quelques photos sur le développement des moisissures au cours de la fermentation à 30 °C.....	62
Figure IV-10 : Conception d'un schéma de production traditionnelle du vinaigre.....	65
Figure IV-11 : Représentation graphique des effets de la température, du temps et du degré de désintégration sur l'évolution du °Brix. ....	68
Figure IV-12: Représentation graphique des valeurs prédites en fonction des valeurs mesurées (°Brix) .....	69
Figure IV-13: représentation graphique des effets de la température, du temps et du facteur de désintégration sur l'IB du jus de dattes.....	71
Figure IV-14 : Représentation graphique des valeurs prédites en fonction des valeurs mesurées (IB). ....	71
Figure IV-15: Représentation graphique des effets de la température, du temps et du degré de désintégration sur le pH du jus.....	73
Figure IV-16 : Représentation graphique des valeurs prédites en fonction des valeurs mesurées (pH).....	74
Figure IV-17 : Variation du TSS en fonction du temps et du degré de désintégration : a - 80°C, b - 60°C et c - 40°C (variables codées). ....	76
Figure IV-18 : Variation de l'IB en fonction du temps et du degré de désintégration : a - 80°C, b - 60°C et c - 40°C (variables codées). ....	77
Figure IV-19 : Variation du pH en fonction du temps et du degré de désintégration : a - 80°C, b - 60°C et c - 40°C (variables codées). ....	78
Figure IV-20 : Représentation graphique des effets de la teneur en sucres et d'alcool sur le °Brix du mélange. ....	82
Figure IV-21 : Courbes de variation de la teneur en alcool et en sucres résiduels en fonction du °Brix du moût (théorique). ....	85
Figure IV-22: Courbe de variation de la teneur en alcool et en sucres résiduels en fonction de l'IR du moût (théorique). ....	85
Figure IV-23: Courbe de détermination de la teneur en alcool par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales (théorique). ....	86
Figure IV-24 : Courbe de détermination de la teneur en sucres résiduels par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales (théorique). ....	86

Figure IV-25: Courbe de détermination de la teneur en alcool produite par mesure de l'IR à différentes concentrations initiales (théorique). .....	87
Figure IV-26 : Courbe de détermination de la teneur en sucres résiduels par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales.....	87
Figure IV-27: Corrélation entre le °Brix initial et final du moût au cours de la fermentation alcoolique. ....	89
Figure IV-28 : Courbes (abaque) de détermination du taux d'alcool par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales.....	90
Figure IV-29: Courbes (abaque) de détermination de la teneur en sucres résiduels par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales. ....	90
Figure IV-30 : Courbes (abaque) de détermination du taux d'alcool par mesure de l'IR à différentes concentrations initiales. ....	91
Figure IV-31 : Courbes (abaque) de détermination de la teneur en sucres résiduels par mesure de l'IR à différentes concentrations initiales.....	91
Figure IV-32 : Evolution du taux d'alcool au cours de la fermentation alcoolique du jus de dattes Degla-Beida par <i>S. cerevisiae</i> . ....	92
Figure IV-33 : Evolution du taux de CO <sub>2</sub> (cumul) dégagé au cours de la fermentation alcoolique du jus de dattes Degla-Beida par <i>S. cerevisiae</i> .....	93
Figure IV-34 : Evolution du °Brix au cours de la fermentation alcoolique du jus de dattes Degla-Beida par <i>S. cerevisiae</i> . ....	94
Figure IV-35 : Evolution du taux de sucres réducteurs au cours de la fermentation alcoolique du jus de dattes Degla-Beida par <i>S. cerevisiae</i> .....	94
Figure IV-36 : Evolution de l'état d'avancement de la fermentation en fonction du temps.....	95
Figure IV-37: Corrélation expérimentale entre la production d'éthanol et la variation du °Brix du milieu. ....	96
Figure IV-38: Corrélation expérimentale entre la production d'éthanol et la quantité de CO <sub>2</sub> produite. ....	96
Figure IV-39: Corrélation expérimentale entre la variation du °Brix du milieu et la quantité de CO <sub>2</sub> produite. ....	96

## Liste des tableaux

Tableau I-1 : Stades d'évolution et appellation de la datte.....	4
Tableau I-2 : Production des dattes en Algérie lors de la campagne agricole (2000/2001).....	6
Tableau I-3 : Principales variétés de dattes algériennes et leurs localisations.....	7
Tableau I-4 : Minéraux et vitamines pour 100 g de pulpe.....	9
Tableau I-5 : Composition biochimique du noyau de dattes.....	9
Tableau II-1: Les principales fermentations microbiennes.....	16
Tableau II-2 : Les produits secondaires formés par <i>S. cerevisiae</i> à différents pH.....	20
Tableau III-1 : Composition pondérale de chaque constituant du mélange.....	38
Tableau IV-1 : Caractéristiques physiques de la datte Degla-Beida.....	50
Tableau IV-2: Pourcentage en poids de la pulpe des différentes variétés de dattes sèches algériennes.....	51
Tableau IV-3 : Caractéristiques physicochimiques de la pulpe de datte Degla-Beida.....	52
Tableau IV-4 : Teneur en sucres (totaux et réducteurs) de quelques variétés de dattes.....	53
Tableau IV-5 : Caractérisation microbiologique de la datte étudiée.....	56
Tableau IV-6 : Evaluation de quelques paramètres physicochimiques au cours de la fermentation traditionnelle des dattes Degla-Beida à 30°C.....	63
Tableau IV-7 : Caractérisation physicochimique du produit de la double fermentation spontanée de la datte Degla- Beida à température ambiante.....	63
Tableau IV-8 : Caractérisation physicochimique du vinaigre de dattes provenant de la région de M'Zab (Automne 2008) .....	64
Tableau IV-9 : Matrice des expériences pour l'extraction du jus des dattes Degla-Beida (°Brix)	66
Tableau IV-10 : Les paramètres du modèle (°Brix) et leurs critères de Student calculés.....	67
Tableau IV-11: Expériences au centre du domaine (°Brix) .....	69
Tableau IV-12 : Matrice des expériences pour l'extraction du jus des dattes Degla-Beida (IB)...	70
Tableau IV-13 : Les paramètres du modèle (IB) et leurs critères de Student calculés.....	70

Tableau IV-14 : Matrice des expériences pour l'extraction du jus de dattes Degla-Beida (pH)...	72
Tableau IV-15 : Les paramètres du modèle (pH) et leurs critères de Student calculés.....	72
Tableau IV-16 : Expérience au centre du domaine (pH).....	74
Tableau IV-17 : Comparaison entre les effets (valeurs absolues) de T, t et D sur les trois paramètres étudiés.....	74
Tableau IV-18 : Quelques caractéristiques physicochimiques et biochimiques du jus de dattes à 12,5 °Brix. ....	79
Tableau IV-19 : Matrice d'expériences et calcul des coefficients de régression.....	81
Tableau IV-20 : Expériences au centre du domaine.....	82
Tableau IV-21: Estimation des erreurs au centre du domaine.....	82
Tableau IV-22 : Comparaison des °Brix expérimentaux et théoriques des solutions A et B.....	83
Tableau IV-23 : Tableau de conversion théorique sucre/alcool durant la fermentation alcoolique. ....	84
Tableau IV-24 : Taux de conversion obtenu à différentes conditions expérimentales.....	88
Tableau IV-25 : Variation du °Brix et du °GL au cours de la fermentation alcoolique (sont donnés aussi le °GL calculé tenant compte du « $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix}/A \text{ exp.}} = 1,1$ »).....	89
Tableau IV-26 : Caractéristiques physicochimiques du jus de dattes fermenté .....	97

## Abréviations

ADP : Adenosine di-phosphate

ATP : Adenosine triphosphate

Cc : Critère Cochran calculé

Ct : Critère Cochran tabulé

DO : Densité Optique

EAG : Equivalent en acide gallique

EAA : Equivalent en acide ascorbique

IB : Indice de Brun

F<sub>c</sub>: Critère Fischer calculé

F<sub>t</sub>: Critère Fischer tabulé

IR : Indice de réfraction

MED.: Méditerranéen

MF : Matière fraîche

MRE : Erreur relative moyenne

MS : Matière sèche

NADP : Nicotinamide adenine dinucléotide phosphate

Pi : Phosphate inorganique

qsp : Quantité suffisante pour

R<sup>2</sup> : Coefficient de corrélation

SSE : Somme des écarts au carré

t<sub>c</sub>: Critère Student calculé

t<sub>t</sub>: Critère Student tabulé

TSS : Taux du solide soluble

°GL : Degré alcoolique (ml d'éthanol/100ml)

α : probabilité de l'erreur

σ<sup>2</sup> : Variance

V : Degré de liberté



# *Introduction*

Le Sahara représente 90% de la superficie d'Algérie, soit plus de 2 millions de km<sup>2</sup>. Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) est un arbre d'une grande importance écologique et socio-économique dans les oasis de ces régions désertiques (**El Hadrami et al., 2005**). En conséquence, il constitue l'axe principal de l'agriculture et assure la principale ressource financière des oasiens. En effet, les dattes ont représenté un fruit providentiel pour l'alimentation aussi bien humaine qu'animal. Leur succès, sur une aussi longue période, s'explique par les qualités nutritionnelles de ces fruits particulièrement riches en sucres et en minéraux (**Benchelah et Maka, 2008**).

Le patrimoine phoenicicole algérien a subi un préjudice certain, il a été le plus souvent délaissé pour d'autres activités plus lucratives. Les palmeraies sont réorganisées pour satisfaire une demande sans cesse croissante en dattes de qualité supérieure à l'instar du cultivar *Deglet-Nour*. Cette réorganisation a fait que la phoeniculture est passée d'un système de culture traditionnelle riche et diversifiée à un système industriel axé sur une oligoculture voire monovariétale d'où le risque de fragilisation du système phoenicicole (**Acourene et Tama, 1997 ; Kaidi et al., 2001 ; Zehdi et al., 2006**).

Pour parer à cette menace, Il serait intéressant que les recherches se focalisent sur des utilisations autres que la consommation traditionnelle des dattes. Dans cette optique, la mise en œuvre d'une industrie de transformation de dattes de qualité commerciale médiocre et de déchets de dattes par des procédés biotechnologiques assez simples aiderai le phoeniculteur à trouver de sérieux débouchés pour sa récolte et répondrait parfaitement aux besoins socio-économiques du pays (**Kaidi et al., 2001**).

Dans cet ordre d'idées, l'homme a toujours su utiliser empiriquement un grand nombre de réactions biochimiques pour obtenir des aliments, des boissons ou des produits susceptibles d'améliorer sa condition (**Simon et Meunier, 1970**). Dans les oasis, diverses cultures étaient traditionnellement associées aux palmiers. L'une des ancestrales traditions des populations sahariennes est la production à l'échelle domestique du vinaigre à partir du fruit entier de dattes de diverses variétés et plus particulièrement les dattes communes de faible valeur marchande au goût généralement acide (**Ould El Hadj et al., 2001**).

Notons que L'Algérie, avec une production de 516 milles tonnes de dattes (**FAO, 2007**), ne dispose à notre connaissance d'aucune technologie de transformation des dattes à l'exception de la production de pâtes « *Ghars* » à partir des dattes molles du même nom.

Bien que le vinaigre soit un produit universel, ses variétés diffèrent selon les régions. De nos jours, les variétés traditionnelles du vinaigre, particulières à des marchés régionaux, font leur entrée sur le marché mondial en tant que produits nouveaux et novateurs dont on commercialise les bienfaits pour la santé et les utilisations multiples (**Anonyme, 2007**).

En plus des ses utilisations alimentaires multiples, le vinaigre est reconnu très tôt pour ses étonnantes propriétés bienfaites. Récemment, le dépistage du cancer du col de l'utérus par l'acide acétique, composant du vinaigre, à été mis en évidence (**LD, 2007**).

Le présent travail porte sur trois parties essentielles :

- La première est consacrée à la caractérisation morphologique, physicochimique et microbiologique de la datte sèche « *Degla-Beida* ».
- La deuxième consiste en une reproduction au laboratoire de la méthode traditionnelle d'obtention du vinaigre de dattes telle qu'appliquée à la région M'Zab avec tentative d'amélioration. De plus, un échantillon du vinaigre produit localement (Ghardaïa) a été analysé.
- Quant à la troisième partie, elle est constituée de trois étapes :
  - Modélisation du processus d'extraction du jus de dattes par application des plans d'expériences.
  - Proposition de la réfractométrie comme seule méthode permettant une détermination simultanée des teneurs en alcool produit et en sucres résiduels durant la phase de fermentation alcoolique.
  - Obtention du vinaigre par la double fermentation, alcoolique puis acétique, du jus extrait.

# Partie bibliographique

# **Chapitre I**

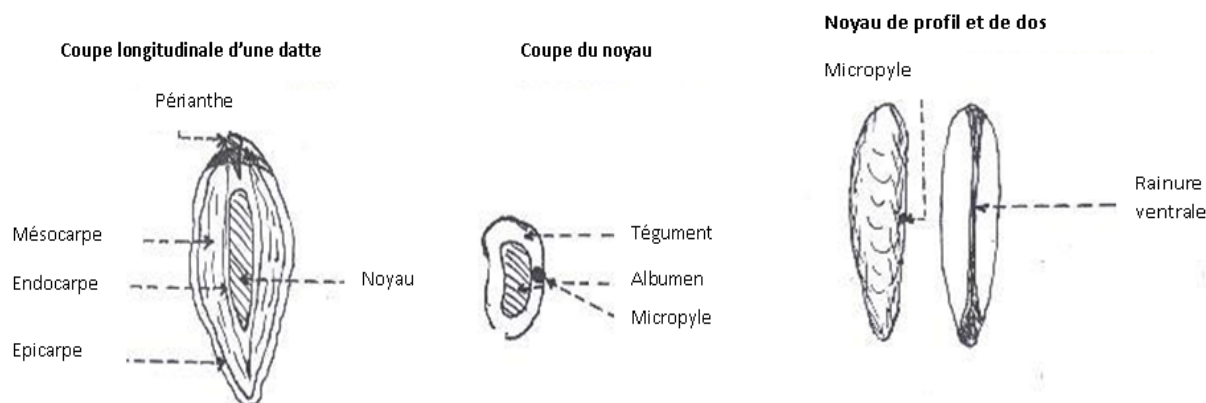
## *La datte*

*Dans ce chapitre, nous donnons un aperçu général sur la datte, fruit du palmier dattier, sa composition biochimique, son utilisation traditionnelle et les différentes technologies découlant de l'utilisation de ce fruit.*

### I-1- Les dattes

Ce sont des baies à une seule graine « noyau ». avec un mésocarpe « la pulpe » épais et charnu recouvert d'un péricarpe très fin. Le noyau est dur avec un endocarpe réduit à une mince membrane. La maturation est longue, elle débute vers les mois de mars-avril, tandis que la récolte commence en octobre, dans le nord du Sahara. Dans les oasis du Sahara central, on cueille les premières dattes, une friandise, dès le mois d'août, et même en juillet. Dans le sud, le régime des pluies diffère, on doit alors cueillir les dattes à la fin de la saison sèche, début juillet, avant les pluies d'été (Meunier, 1973 ; Benchelah et Maka, 2006).

La figure I-1 montre une coupe de la datte et du noyau



**Figure I-1:** Datte et noyau du palmier dattier (Belguedj, 2001).

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Leur couleur va du blanc jaunâtre au noir en passant par les couleurs ambre, rouges, brunes plus ou moins foncées (Djerbi, 1994).

Un arbre produit en moyenne 60 kg de dattes par an mais, dans certains cas, il peut donner plus de 100 kg, et cela pendant cinquante à quatre-vingts ans, et jusqu'à cent ans parfois. (Benchelah et maka, 2006).

### I-2- Formation et évolution de la datte

Chaque étape de la maturation de la datte à été identifiée nominalement, ce qui permet de suivre l'évolution du fruit au cours de son développement. Les expressions utilisées sont celles de la nomenclature Irakienne adoptées par de nombreux auteurs.

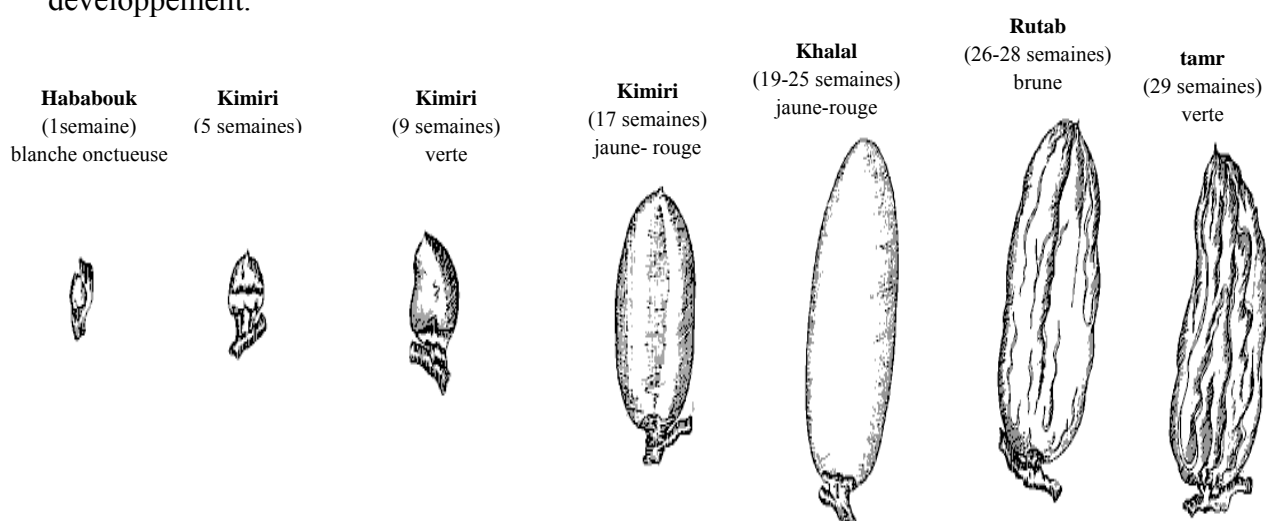
Le tableau I-1 illustre les nomenclatures des différents stades d'évolution adoptées dans quelques pays producteurs de dattes.

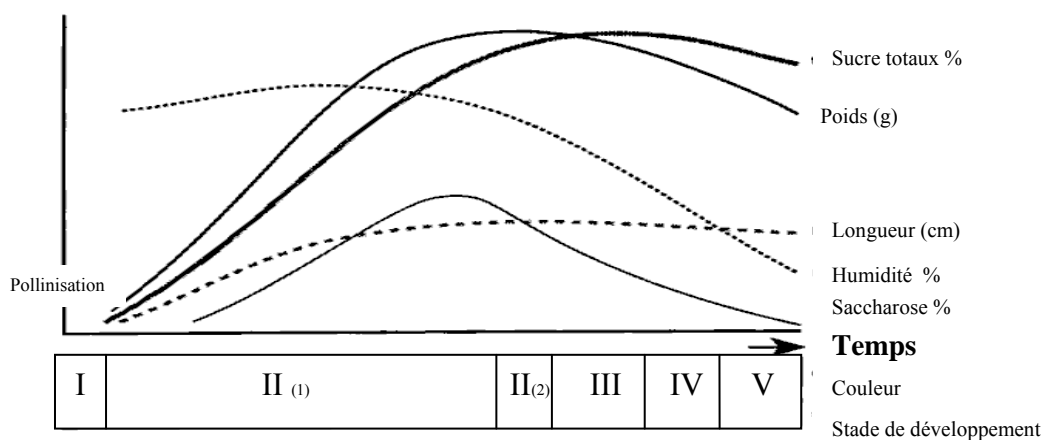
**Tableau I-1** : Stades d'évolution et appellation de la datte (Meunier, 1973).

Pays	Stades de développement de la datte				
	I	II	III	IV	V
<b>Sahara Algérien</b>	Loulou	Kh'lal	Bser	Mretba ou Martouba	Tamr
<b>Irak</b>	Hababouk	Kimiri	Khalal	Routab	Tamr
<b>Libye</b>	-	Gamag	Bissir	Routab	Tamr
<b>Mauritanie</b>	Zeï	Tefejena	Engueï	Blah	Tamr

- **Stade I (Hababouk)** : stade qui suit la pollinisation ;
- **Stade II (Kimiri)** : caractérisé par le grossissement des dattes (augmentation du poids et du volume), un taux d'humidité élevé, une accumulation de sucres réducteurs et une très forte acidité ;
- **Stade III (Khalal)** : marqué par une augmentation rapide de la teneur en sucres totaux, du saccharose et de la matière solide, alors que l'acidité et le taux d'humidité décroissent.
- **Stade IV (Routab)** : la datte devient molle et perd son astringence (les tannins sous la peau précipitent sous forme insoluble) ;
- **Stade V (Tamr ou Mûr)** : correspond à l'étape finale de la maturation du fruit ; la datte a alors perdu presque toute son eau (Booij *et al.*, 1992).

Les figures I-2 et I-3 résument les différents changements de la datte au cours de son développement.

**Figure I-2** : Formation et maturation des dattes (Barreveled, 1993).



**Figure I-3 :** Les importants changements pendant le développement des dattes (**Barreveled, 1993**).

La teneur en eau des fruits varie avec le degré de maturité (figure I-4) (**Hussein et al., 1974**), mais dépend également du caractère variétal.

### I-3- Classification des dattes

D'après la consistance, On a coutume de distinguer à maturité trois catégories de dattes : les molles, les sèches, les demi-molles (la *Deglet Nour* est un bon exemple de demi-molle). (**Booij et al., 1992**).

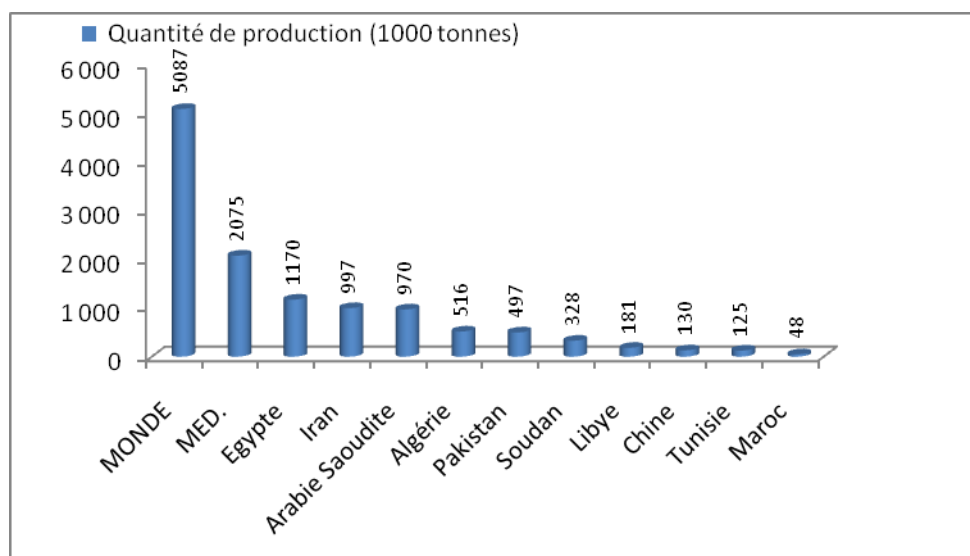
- **Les dattes sèches :** moins de 20% d'humidité, riche en saccharose. Selon notre investigation *Degla-Beida* tout particulièrement, *Mech-Degla*, *Frezza* ... sont les plus répandues en Algérie;
- **Les dattes demi-molles :** de 20 à 30% d'humidité, elles occupent une position Intermédiaire à l'exception de la *Deglet-Nour*, datte à base de saccharose par excellence (**Cook et Furr, 1952**) ;
- **Les dattes molles :** taux d'humidité supérieur ou égal à 30%, elles sont à base de sucres invertis (fructose, glucose).

### I-4- Production de dattes

Les principaux pays producteurs de dattes sont : l'Egypte, l'Iran, l'Arabie-Saoudite, le Pakistan, l'Algérie et le Soudan, les Emirats Arabes Unis... (Figure I-4). La production mondiale de dattes réalisée en 2007 est de 5,09 millions de tonnes (**FAO, 2007**). L'Irak, quant à lui, a atteint une production de 0,91 millions de tonnes (**FAO, 2004**).

Du point de vue quantitatif, la production algérienne représente 10 % de la production mondiale occupant ainsi la quatrième place, mais du point de vue qualitatif, elle occupe le premier rang grâce à la variété *Deglet-Nour*, la plus appréciée mondialement.





**Figure I-4 :** La production des dattes (FAO, 2007).

La production de dattes dans les différentes wilayas d'Algérie en 2001 est résumée dans le tableau I-2.

**Tableau I-2 :** Production des dattes en Algérie lors de la campagne agricole (2000/2001).

Wilayas	Deglet-Nour	Ghars et analogues (Dattes molles)	Degla-Beïda et analogues (Dattes sèches)	Total de la production	
				En quintaux	En %
Adrar	0	0	572 000	572 000	13,67
Laghouat	350	1990	2070	4 410	0,10
Batna	210	1430	4870	6510	0,15
Biskra	769 620	134 760	292 280	1 196 660	28,60
Bechar	0	0	94 890	94 890	2,27
Tamanrasset	0	0	47 930	47 930	1,14
Tebessa	4620	4000	1740	10 360	0,25
Djelfa	250	100	50	400	0,01
M'sila	0	0	2500	2500	0,06
Ourgla	434 110	207 760	66740	708 610	16,94
El-Bayadh	0	8750	0	8750	0,21
Illizi	90	620	8000	8710	0,21
Tindouf	0	500	0	500	0,01
El-Oued	895 450	234 920	105 820	1 236 190	29,54
Khenchela	1610	4880	1480	7970	0,19
Naama	0	1690	190	1880	0,05
Ghardaïa	106 000	38 600	131 400	276 000	6,60
<b>Total</b>	<b>2 212 310</b>	<b>640 000</b>	<b>1 331 960</b>	<b>4 184 270</b>	<b>100</b>

D'après ce tableau, près de 58,14 % de la production nationale de dattes est réalisée par les deux wilayas, El-Oued (29,54 %) et Biskra (28,6 %).

La variété *Deglet-Nour*, occupe la première place et représente 52,87 % de la production totale des dattes.

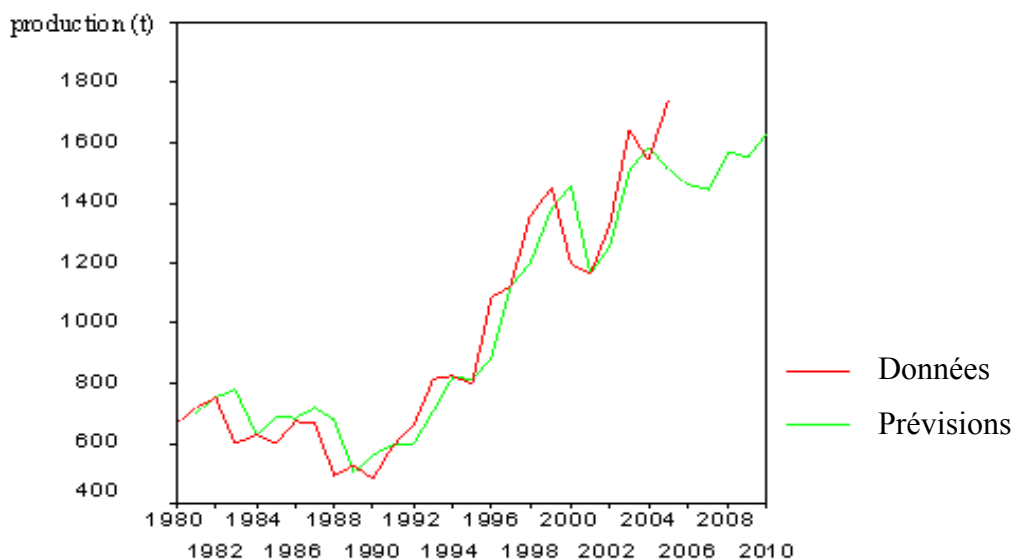
### I-5- Production des dattes communes

Les oasis en Algérie sont connues par la richesse de leur biodiversité. La localisation de quelques principales variétés algériennes sont données dans le tableau I-3.

**Tableau I-3** : Principales variétés de dattes Algérienne et leurs localisations (**Selselet, 1990**).

Variété	Localisation
<i>Deglet-Nour</i>	El –Oued, Zibans, Souf, Ouargla, M'Zab, El-Goléa.
<i>Degla-Beida</i>	El –Oued, Zibans, Souf.
<i>Mech-Degla</i>	Souf, M'Zab, El–Oued.
<i>Ghars</i>	El–Oued, Zibans, Souf, Ouargla, M'Zab, El-Goléa.

La production de dattes sèches en Algérie au fil des dernières années et la prévision pour l'an 2010 sont données dans la figure I-5.



**Figure I-5** : Prévision de la série production de dattes sèches (**Chekroune, 2008**).

D'après les prévisions (méthode Box-Junkins) réalisées par **Chekroune (2008)**, il convient de s'attendre à une augmentation de la production de dattes sèches en Algérie d'ici

l'an 2010. Nous suggérons de ce fait une attention particulière à la valorisation de dattes sèches issues des palmerais du sud algérien.

## 1-6- Composition biochimique de la datte

La datte est constituée de deux parties distinctes : une comestible « la pulpe ou la chair » et une autre non comestible « noyau » qui révèlent des compositions très intéressantes.

### 1-6-1- Composition biochimique de la pulpe

Le sucre et l'eau sont les constituants prédominants de la chair. C'est leurs proportions qui déterminent la consistance de la datte (**Meunier, 1973**). En plus de ces deux composés, la pulpe renferme : des fibres, des éléments minéraux, des protéines, des lipides, des polyphénols, des vitamines...

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

**b- Les glucides :** les sucres sont le constituant le plus prédominant de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélée essentiellement la présence de trois types de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose (**Estanove, 1990 ; Acourene et al., 1997**). Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faibles proportions tels que : le galactose, le xylose...).

Les dattes constituent une source de prédilection de sucres avec une teneur de 60 et 80 % contre environ 12 à 20% dans le cas de la betterave et la canne à sucre (**Decloux, 2008**). Il n'y a aucune raison de les purifier (sucres de dattes) entièrement et de les débarrasser de toute trace de minéraux et micronutriments avant de les utiliser dans la confection des aliments (**Rémésy, 2008**).

**c- Les protides :** les dattes présentent des teneurs faibles en composés protidiques, généralement moins de 3% (MS) (**Khallil et al., 2002 ; Besbes et al., 2009**).

**d- les lipides :** les matières grasses sont pratiquement absentes dans la pulpe (moins de 0,5% MS) (**Chaira et al., 2007 ; Benchellah et maka, 2008**).

**e- Fibres :** une grande partie de ces composés sont insolubles constituées principalement par la cellulose.

Les dattes fines, comme la Deglet-Nour, ne contiennent qu'une faible proportion en cette substance, mais des proportions plus élevées atteignant parfois plus de 10 % dans le cas des dattes communes particulièrement fibreuses (**Meunier, 1973**).

Selon **Bonaz et al. (2007)** Il se pourrait que l'augmentation de la consommation des sucres raffinés, la diminution de la consommation de fibres, de vitamines, de sels minéraux et d'acides gras essentiels jouent un rôle dans les maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin.

**f- Les minéraux :** la caractéristique la plus remarquable des dattes réside dans la présence de minéraux et d'oligoéléments particulièrement abondants dépassant nettement les autres fruits secs (tableau I-4).

**g- Les vitamines :** la pulpe de dattes contient des vitamines en quantités variables avec les types de dattes et leur provenance. En général, elle contient des caroténoïdes et des

vitamines du groupe B en quantités appréciables, mais peu de vitamine C (Meunier, 1973).

Dans le tableau I-4 sont présentées les compositions en différents minéraux et vitamines de la pulpe de datte.

**Tableau I-4 :** minéraux et vitamines pour 100 g de pulpe (Benchelah et Maka, 2008).

Minéraux			Vitamines	
Potassium	670 à 750	mg	B3	1,7 mg
Calcium	62 à 65	mg	B5	0,8 mg
Magnésium	58 à 68	mg	B2	0,10 mg
Fer	3	mg	B6	1,15 mg
Phosphore	3	mg	Vitamines PP signalées provitamines A	0,03 mg
Cuivre	3	mg	La vitamine C	Présente en faible quantité dans la datte fraîche, a presque disparu dans la datte sèche
Zinc	3	mg		
Manganèse	3	mg		
sodium	1 à 3	mg		

### 1-6-2- Composition biochimique du noyau

Dans le tableau I-5 est citée la composition des noyaux de deux dattes Mauritanienne et Irakienne.

**Tableau I-5:** Composition biochimique de noyau de dattes (Meunier, 1973).

Constituant	Noyau (Mauritanie) %	Noyau (Irak) %
Eau	7,16	6,46
Cendres	1,22	1,12
Lipides	8,86	8,49
Protides	6,54	5,22
Glucides	58,90	62,51
Cellulose	17,32	16,20

Comme le montre ce tableau, le noyau constitue donc un sous produit des plus intéressants, qui ne doit pas être négligé et doit être récupéré au niveau des ateliers de traitement et de conditionnement.

## **1-7- Usage médicinale et alimentaire de la datte**

On a recours à la datte sous différentes formes. Les utilisations sont en fait multiples et variables d'une région à l'autre, qu'elles soient médicinales ou alimentaires (**Benchelah et Maka, 2006**).

### **1-7-1- Quelques usages alimentaires de la datte**

Les dattes constituent la matière première pour l'élaboration d'un bon nombre de produits alimentaires. Elles accompagnent les plats cuisinés, tels que couscous, tajines, en une grande variété de recettes propres à chaque région, elles se marient bien avec les viandes. Elles entrent dans la composition de nombreuses pâtisseries sous forme de pâtes de dattes, ainsi les célèbres *makrout* sont très appréciés (**Ould El Hadj et al., 2001; Benchelah et Maka, 2008**).

Quant aux noyaux, même si l'auteur n'est pas explicite, ils seraient utilisés comme compléments alimentaires en périodes difficiles. Aussi, ils sont utilisés comme café après torréfaction (**Benchelah et Maka, 2008**).

### **1-7-2- Usage médicinale des dattes**

Energétique et riche en minéraux, le fruit permet de lutter contre l'anémie et les déminéralisations, il est donc recommandé aux femmes qui allaitent. Les dattes pilées dans de l'eau soignent les hémorroïdes, les constipations et aussi l'ictère (jaunisse). Quant aux diarrhées, elles sont traitées par les dattes vertes tonifiantes. Calmantes sous forme de sirop très concentré, le *robb*, cette préparation apaise et endort les enfants. Elle est aussi utilisée pour les maladies nerveuses et dans les affections broncho-pulmonaires. En décoction ou en infusion, les dattes traitent les rhumes. En gargarisme, elles soignent les maux de gorge (**Benchelah et Maka, 2008**).

## **I-8- La technologie de la datte**

La technologie de la datte recouvre toutes les opérations qui, de la récolte à la commercialisation, ont pour objet de préserver toutes les qualités des fruits et de transformer ceux qui ne sont pas consommés, ou consommables, à l'état, en divers produits, bruts ou finis, destinés à la consommation humaine ou animale et à l'industrie (**Estanove, 1990**).

### **I-8-1- Conditionnement de la datte**

L'industrie de conditionnement joue un rôle primordial dans la préservation, l'amélioration de la qualité et l'augmentation de la valeur marchande des fruits, surtout celles qui sont destinées à l'exportation.

### **I-8-2-Transformation de la datte**

Des milliers de tonnes de dattes restent non utilisées et peuvent dépasser les 30 % de la production, qui pourraient être valorisées (récupérées et transformées), d'après les statistiques du Ministère de l'Agriculture (**2001**).

Par ailleurs, le secteur phoenicicole, malgré les richesses qu'il procure dans les zones désertiques très difficiles, accuse un retard technologique. En effet, dans le domaine de la technologie de la datte et sa valorisation, les systèmes pratiqués sont restés archaïques.

Les produits qui peuvent être issus de la transformation de la datte sont très divers.

### I-8-2-1- confiserie à base de dattes

Les dattes utilisées doivent être saines car il est important d'éviter tout arrière goût de fermentation.

- a) **Pâte de datte** : Les dattes molles ou ramollies par humidification donnent lieu à la production de pâte de datte. La fabrication est faite mécaniquement. Lorsque le produit est trop humide, il est possible d'ajouter la pulpe de noix de coco ou la farine d'amande douce. La pâte de datte est utilisée en biscuiterie et en pâtisserie (**Espiard, 2002**).
- b) **Farine (poudre) de datte** : Elle est préparée à partir de dattes sèches ou susceptibles de le devenir après dessiccation. Riche en sucre, cette farine est utilisée en biscuiterie, pâtisserie, aliments pour enfants (**Aït-Ameur, 2001**) et yaourt (**Benamara et al., 2004**).

Le sucre raffiné affecte la couverture des minéraux, vitamines et autres micronutriments dont nous avons besoin causant ainsi de nombreuses maladies (**Rémésy, 2008**). Selon **Bonaz et al. (2007)**, il peut être même à l'origine des MICI (maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin). Les poudres de dattes sont accompagnées d'une fraction non énergétique végétale très complexe, fibres, minéraux et des micronutriments protecteurs, indispensables au bon fonctionnement de notre organisme.

- c) **Sirop, crèmes et confitures de dattes** : Selon **Espiard (2002)**, cette gamme de produit est basée sur l'extraction des sucres par diffusion de ces derniers et des autres composants solubles de la datte. Par mélange et cuisson de pâte ou de morceaux de dattes et de sirop nous pouvons obtenir des crèmes ou des confitures d'excellente qualité.

D'après **Besbes et al. (2009)**, les confitures produites à base des variétés tunisiennes *Allig* et *Kentichi* ont révélés des caractéristiques très satisfaisantes.

### I-8-2-2- Mise en valeur des déchets

Les dattes abîmées et de faible valeur marchande peuvent être utilisées en raison de leur forte teneur en sucre pour la production de :

- a) **Biomasse et protéines unicellulaires** : La production de protéines reste un objet essentiel afin de subvenir aux besoins mondiaux. A cet égard, des essais de production de protéines d'organismes unicellulaires par culture de la levure *Saccharomyces cerevisiae* sur un milieu à base de dattes ont été réalisés. Selon **Kendri (1999)**, l'analyse des biomasses produites montre leur richesse en protéines à raison de 32 à 40 % de poids sec.

- b) **Alcool** : Les dattes constituent un substrat de choix pour la production de l'alcool éthylique. Selon **Touzi (1997)**, l'alcool éthylique a été produit au laboratoire avec un rendement de 87 %.
- c) **Vinaigre** : Les dattes peuvent être utilisées pour l'élaboration de nombreux produits alimentaires parmi lesquels le vinaigre. Ce dernier est produit à partir d'un jus de dattes par une double fermentation, alcoolique puis acétique. La première par *Saccharomyces uvarum* (**Boughnou, 1988**) ou *Saccharomyces cerevisiae* (**Mehaia et Cheryan, 1991**) suivie d'une acétification par *Acetobacter aceti*. Selon **Ould El Hadj et al. (2001)** la double fermentation spontanée des dattes trempées dans l'eau permet la production d'un vinaigre traditionnel très apprécié au sud Algérien.
- d) **Acide citrique** : Selon **Roukas et Kotzekidou (1997)**, l'acide citrique est produit par fermentation (*Aspergillus Niger*) du sirop de dattes. Le prétraitement du sirop par l'addition de 4% (v/v) de méthanol puis traitement avec tricalcium phosphate à 2% augmente la quantité d'acide citrique produite de 55 à 90 g/l.

### I-8-2-3- Aliments de bétail

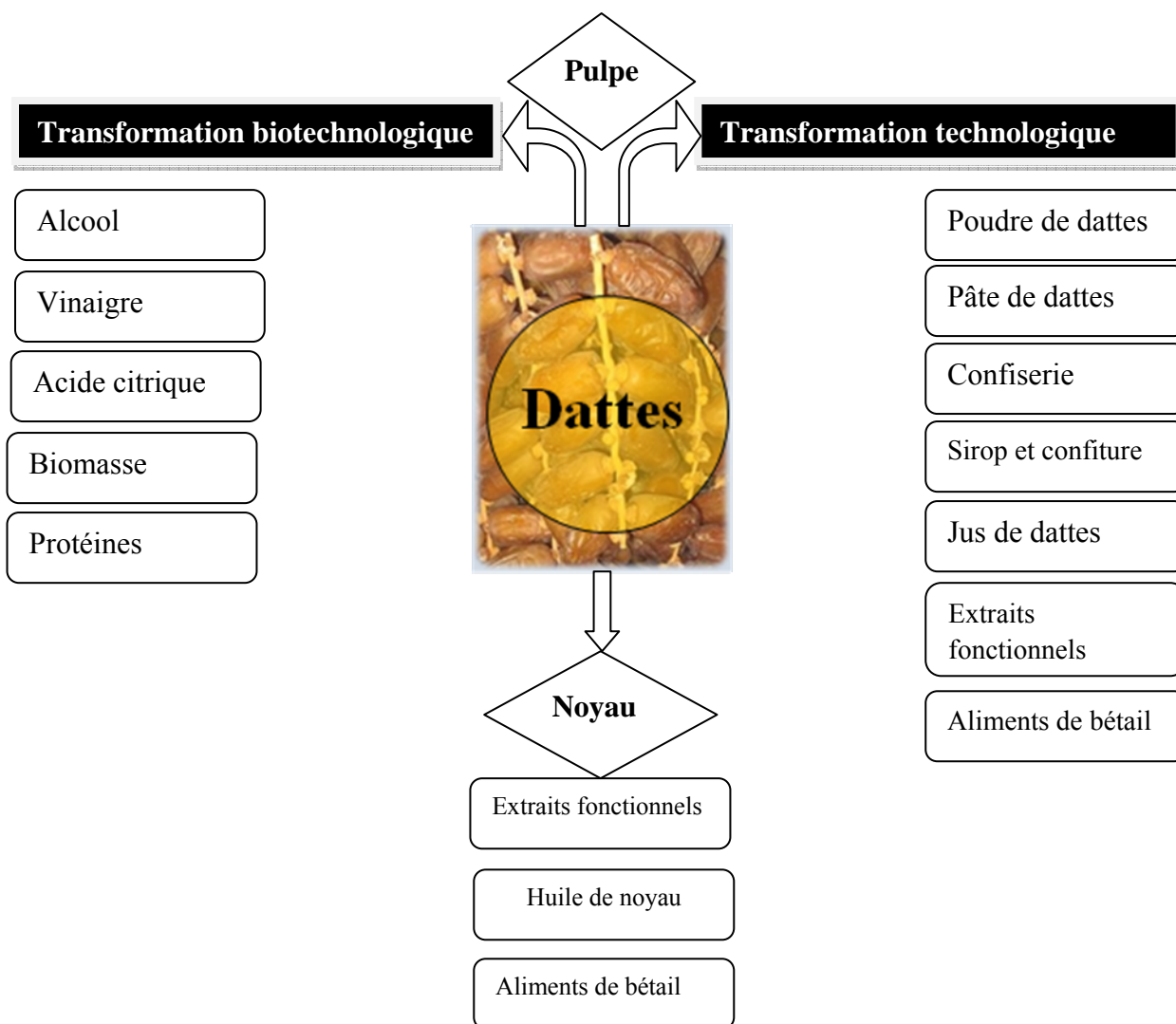
Les rebuts et les noyaux de dattes constituent des sous produits intéressants pour l'alimentation du bétail. L'incorporation de 10 % de la poudre des noyaux de dattes dans l'alimentation des poulets est sans influence négative sur leurs performances (**Guattieri et Rappaccini, 1990**).

### I-8-3-Importance économique de la transformation de la datte

La datte est un produit qui présente des avantages comparatifs aux autres fruits, pour lequel il n'existe pas de problèmes de concurrence entre les pays développés et les pays sous-développés, comme c'est le cas pour d'autres produits agricoles (tomates, agrumes, olives,... etc).

La datte, fait l'objet d'un commerce intérieur et extérieur important, surtout la variété Deglet-Nour. Les autres variétés, même si elles ne sont pas largement commercialisées sur les marchés, peuvent être transformées en divers produits de haute valeur ajoutée dont l'impact socio-économique est considérable tant du point de vue de la création d'emplois que de stabilisation des populations dans les zones à écologie fragile, contribuant enfin au développement industriel et agricole du pays. Ainsi, les produits issus de la transformation de la datte limiteraient, par ailleurs la dépendance économique du pays vis-à-vis de l'étranger et lui permettraient d'économiser des devises susceptibles d'être dégagées pour d'autres secteurs (**Touzi, 1997**).

La figure I-6 résume l'ensemble des produits dérivant de la transformation des dattes.



**Figure I-6 :** Technologies de la datte.

Du fait de sa forte teneur en sucre, elle constitue une matière première de choix pour la production du vinaigre biologique.



# **Chapitre II**

## *Le vinaigre*

Dans ce chapitre, nous décrivons les principales étapes du processus d'obtention du vinaigre.

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

**Pasteur** fut le premier à démontrer en 1868 que l'acide acétique provenait bien de l'oxydation de l'éthanol par des microorganismes, à qui il proposa le nom de *Mycoderma aceti* (**Bourgeois et Larpent, 1996**). Par la suite, **Hansen** a démontré en 1879 la présence de plusieurs espèces bactériennes. **Beijerinck** proposa en 1899 le nom du genre *Acetobacter* (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

## II-1- Définition et réglementation

Le vinaigre, étymologiquement de vin et aigre, c'est un vin rendu aigre par le développement de bactéries acétiques ; par extension, on a appelé vinaigre tout produit obtenu par la fermentation acétique de boissons ou des dilutions alcooliques (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

Selon **FAO (1987)**, le vinaigre est un liquide adapté pour la consommation humaine ; produit à partir du matériel approprié d'origine agricole, renfermant dans sa composition de l'amidon et/ou des sucres, il contient une quantité indiquée d'acide acétique obtenu par le processus de la double fermentation, alcoolique et acétique (**Tesfaye et al., 2002**).

Dans la législation française, la dénomination « vinaigre » est réservée aux produits obtenus par fermentation acétique de boissons ou dilutions alcooliques et renferment au moins 6% d'acide acétique (décret du 28 juillet 1908 modifié par le décret du 28 mars 1924). La fabrication de vinaigre est due aux bactéries acétiques « *Acetobacter* » (**Guiraud, 1998**).

De même que le Codex Alimentarius, la législation algérienne exige une teneur minimale d'acide acétique de 6% pour le vinaigre de vin et 5% pour les autres vinaigres (**Journal officiel algérien, 1998**).

## II-2- Les différents types du vinaigre et les matières premières utilisées

La tendance de consommation à l'échelle mondiale va vers les produits biologiques et de terroir. Bien que le vinaigre soit un produit mondial, ses variétés diffèrent selon les régions. De nos jours, les variétés traditionnelles du vinaigre, particulières à des marchés régionaux, font leur entrée sur le marché mondial en tant que produits nouveaux et novateurs dont on commercialise les bienfaits pour la santé et les utilisations multiples (**Anonyme, 2007**).

Les différences entre ces variétés (vinaigre) sont surtout liées à la matière première de départ, nous pouvons citer (**Bourgeois et Larpent, 1996**) :

- a) **Vinaigre d'alcool ou blanc** : Il est produit en plus grande quantité, utilisant comme matière première l'alcool pur dilué subissant préalablement une dénaturation par le vinaigre d'alcool. Ce vinaigre est notamment utilisé dans l'industrie condimentaire.

- b) **Vinaigre de vin** : Dans les pays producteurs de vin (France, Espagne, Portugal, Italie...), c'est généralement les vins de table de faible degré ou ayant un début de piqures acétiques qui servent de matière première.
- c) **Le vinaigre de bière ou de malt** : produit dans les pays anglo-saxons.
- d) **Vinaigre des jus de fruits** : dans chaque pays producteur d'un fruit donné, son vinaigre correspondant est généralement fabriqué ; on peut citer :
- Le vinaigre de pamplemousses
  - Le vinaigre de kiwi
  - Le vinaigre de mangues
  - Le vinaigre de citrons
  - Le vinaigre de cidre
  - Le vinaigre de dattes ....
- e) **Vinaigre des produits amylicés** : une étape de saccharification de l'amidon est indispensable avant la fermentation alcoolique. On cite parmi eux :
- Le vinaigre d'orge
  - Le vinaigre de blé
  - Le vinaigre de riz

La couleur et l'arome de tout vinaigre dépendent considérablement du substrat initial (Callejón et al., 2009).

### II-3- La consommation du vinaigre

Les consommateurs à l'échelle mondiale sont de plus en plus soucieux de leur santé, ce qui explique la hausse de la popularité des nouveaux assaisonnements, y compris le vinaigre (Anonyme, 2007).

Les parts du marché mondial de la consommation du vinaigre par type (2005) sont données par la figure II-1.

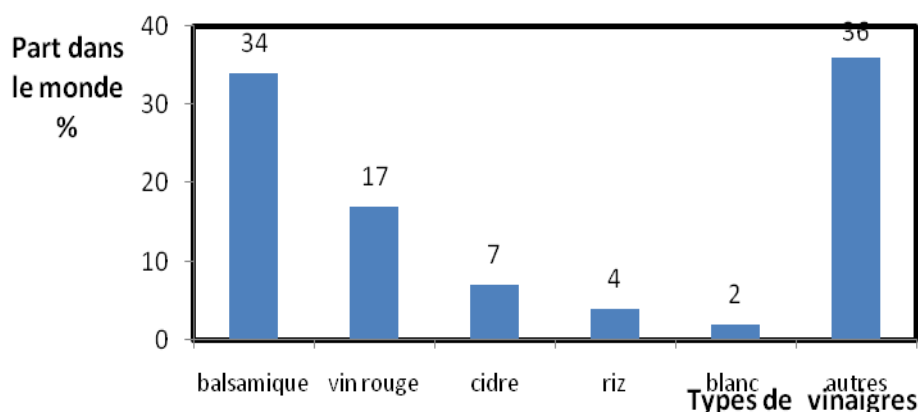


Figure II-1 : Part du marché mondial du vinaigre par type (Anonyme, 2007).

### II-4- Technologie du vinaigre

Le vinaigre est le résultat d'une double fermentation, alcoolique et acétique. Ces dernières permettent de transformer un aliment en modifiant dans un sens favorable ses propriétés.

Le choix de la souche est un paramètre déterminant et la connaissance de ses exigences nutritionnelles est indispensable ; le milieu de culture doit être optimisé (T°C, pH, aération,

concentration en différents substrats...etc.) ; le choix de la technologie (cellules libres ou immobilisées) ainsi que le procédé de mise en œuvre (cultures en continues ou en discontinues) doit se faire d'une manière judicieuse de manière à atteindre les objectifs attendus.

Avant d'entamer une explication grossière sur la double fermentation, on a intérêt à évoquer les principales voies fermentaires, les différents microorganismes impliqués ainsi que leurs principaux produits, et leurs domaines d'applications (tableau II-1).

**Tableau II-1:** Les principales fermentations microbiennes (**Branger, 2008**).

Fermentation	Principaux produits	Microorganismes	Applications
<b>Homolactique</b>	96 % d'acide lactique	<i>Lactococcus</i> <i>Lactobacillus Sc.</i> <i>thermophilus</i>	Salaisons, produits laitiers, choucroute, ensilage
<b>Hétérolactique</b>	40 % d'acide lactique, 19 % de CO <sub>2</sub> , 18 % d'éthanol, 18 % de glycérol	<i>Leuconostoc</i> Lactobacilles hétérofermentaires	Kéfir, accidents de fabrication
<b>Alcoolique</b>	50 % d'éthanol, 50 % de CO <sub>2</sub>	Levures du genre <i>Saccharomyces</i>	Vin, bières, pain, pâtisseries
<b>Acides mixtes</b>	50 % d'acide lactique, 20,5 % d'acides divers, 12 % de CO <sub>2</sub> , 0,5 % d'H <sub>2</sub> , 11 % d'éthanol	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> <i>Citrobacter</i>	Gonflements et mauvais goûts, risques de pathogénicité
<b>Butanediolique</b>	5 % d'acides divers, 40 % de CO <sub>2</sub> , 0,5 % d'H <sub>2</sub> , 15 % d'éthanol, 38 % de butanediol	<i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i>	Gonflements et mauvais goûts
<b>Butanoïque</b>	15 % d'acide acétique, 35 % d'acide butyrique, 48 % de CO <sub>2</sub> , 3 % d'H <sub>2</sub>	<i>Clostridium</i> <i>tyrobutyricum</i> <i>C.</i> <i>butyricum</i>	Gonflements en fromages à pâte cuite
<b>Acétonobutylique</b>	Acide acétique et butyrique, acétone, butanol	<i>Clostridium</i> <i>acetobutylicum</i> <i>et</i> <i>butylicum</i>	Production de solvants
<b>Propénoïque</b>	6 % d'acide acétique, 60 % d'acide propénoïque, 10 % d'acide succinique, 16 % de CO <sub>2</sub>	<i>Propionibacterium</i>	Fermentation gazogène dans les fromages à pâte cuite et production d'arôme
<b>Entner-Doudoroff</b>	50 % d'éthanol, 50 % de CO <sub>2</sub>	<i>Zymomonas mobilis</i>	Production d'éthanol
<b>Acétique</b>	Acide acétique	<i>Gluconobacter</i> <i>Acetobacter</i>	Production de vinaigre
<b>Méthanique</b>	Méthane	<i>Methanobacterium</i> <i>Methanococcus</i> plus des bactéries syntrophiques	Production de méthane en épuration anaérobie
<b>Malolactique</b>	Acide lactique à partir de l'acide malique	<i>Leuconostoc oenos</i> <i>Ln mesenteroides</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	Désacidification des vins

### II-4-1 La fermentation alcoolique

Elle est réalisée par des levures (essentiellement des *Saccharomyces*), par décarboxylation de l'acide pyruvique à la suite de la glycolyse puis réduction de l'acétaldéhyde en éthanol. Cette fermentation intervient dans la fabrication du vin, de la bière, de cidre et divers boissons fermentées, ces derniers peuvent servir de matières premières à la fabrication du vinaigre. Son but est essentiellement la fabrication de l'éthanol (**Branger, 2008**).

Environ 80 % de l'éthanol produit dans le monde est obtenu par fermentation, le reste provient de synthèse à partir de l'éthylène synthétisé par l'industrie du pétrole. L'éthanol commence à jouer un rôle de plus en plus important comme source d'énergie en remplaçant les produits pétroliers. Le cas du Brésil à cet égard est exemplaire car plus de 10 millions de tonnes d'éthanol sont produits par fermentation avec comme source carbonée le saccharose des mélasses de canne à sucre. L'éthanol peut être utilisé directement sans aucune modification et entraîne beaucoup moins de problèmes écologiques que les produits pétroliers. La production de l'éthanol est donc une alternative attrayante puisqu'il peut être produit à partir de sources renouvelables et disponible en grande quantités : sucres et amidon d'origine agricole, cellulose des déchets industriels et urbains (**Larpen-Gourgaud et Sanglier, 1992**).

#### II-4-1-1- La levure *Saccharomyces cerevisiae*

Les levures sont des eucaryotes unicellulaires, de forme sphérique avec un volume de 45  $\mu\text{m}^3$ , possédant les plus simples appareils végétatifs. Elles se présentent sous forme de cellules uniques libres indépendantes ou associées deux à deux. *Saccharomyces cerevisiae* est une levure alcooligène largement employée dans les industries de fermentation (**Larpen, 1991 ; Bourgeois et Larpen, 1996**). Elle contient de nombreux sous espèces et souches permettant d'expliquer son utilisation pour diverses productions à partir de substrats variés. Le taux d'alcool final dépend de la souche et de la concentration en substrat initial. Dans les vins, le taux limite est de 13 à 14% d'éthanol, mais certaines souches peuvent y'arriver jusqu'à 16 à 18 %. Généralement, l'arrêt de la fermentation est dû à l'auto-intoxication des cellules par l'alcool intracellulaires (**Branger, 2008**).

En raison de sa tolérance à l'éthanol, à la forte teneur en sucres et de sa capacité fermentaire élevée, *Saccharomyces cerevisiae* prend rapidement le dessus et elle est considérée comme responsable de la réalisation de la fermentation alcoolique.

Classiquement, la biosynthèse de l'éthanol se fait avec cette levure (*Saccharomyces cerevisiae*), à un pH de 4,5 – 5,0 et une température optimale de 30 °C. Leurs développement est très facile sur jus de betteraves ou hydrolysats de céréales. Par contre avec les mélasses, la teneur en substances non glucidiques élevée perturbe souvent leur croissance. Les substrats glucidiques autres que le glucose, fructose et le saccharose ne peuvent pas être directement fermenté par *Saccharomyces cerevisiae* et doivent au préalable, subir une hydrolyse enzymatique ou acide pour libérer les hexoses assimilables par la levure (**Larpen-Gourgaud et Sanglier, 1992**).

La figure II-2 résume les étapes de biosynthèse de l'éthanol par la levure *S. cerevisiae*.

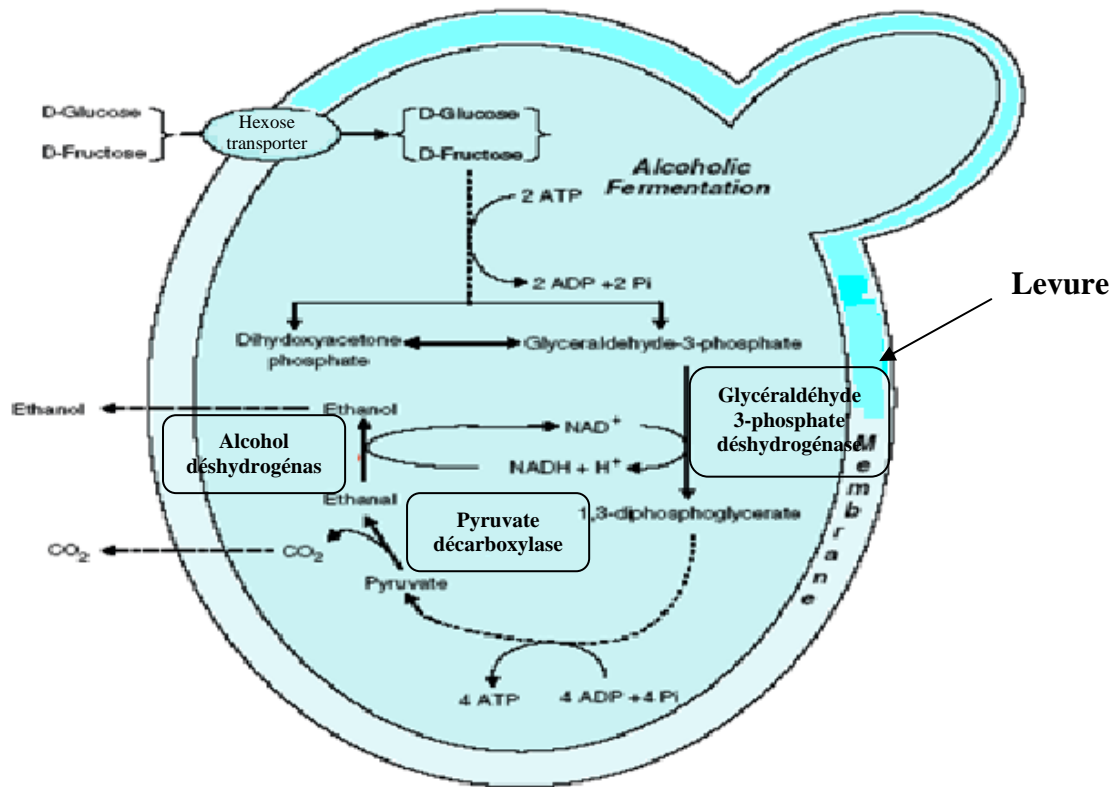


Figure II-2: Fermentation alcoolique (Zamora, 2009).

#### II-4-1-2- Les technologies de fermentation alcoolique

Les procédés traditionnellement utilisés pour la production de l'éthanol ou de boissons alcoolisées sont de type discontinu. Le moût est introduit dans une cuve où la fermentation se produit jusqu'à l'épuisement des sucres fermentescibles ou l'inhibition totale par l'éthanol. Ce type de procédé à l'avantage de sa simplicité de conduite, mais avec des productivités relativement faibles (actuellement, ce procédé est le plus utilisé dans le secteur brassicole et vinicole) ; toutefois, pour la production à grande échelle de l'éthanol c'est les procédés en continu qui s'imposent (Larpen, 1991):

- Fermentations continues avec recyclage des levures
- Fermentations continues à membranes
- Procédés à cellules immobilisées
- Fermentation avec distillation intégrée.

#### II-4-1-3- Les produits issus de la fermentation alcoolique

En plus de l'éthanol, de nombreux produits, mais en quantités faibles, intervenant dans les qualités organoleptiques sont aussi produit, ils se constituent essentiellement des alcools supérieurs, d'acides gras, d'esters, d'aldéhydes et cétones (Guiraud, 1998).

##### a- Ethanol

L'éthanol communément appelé alcool, est le composé majoritaire produit par les levures *Saccharomyces cerevisiae* à partir des sucres simples (6 carbones) au cours de la fermentation

alcoolique. La glycolyse suivie de la décarboxylation de l'acide pyruvique et de la réduction de l'éthanal entraîne sa production. Le rendement éthanol-sucre est d'environ 16,5 g / 1ml d'alcool (Akin, 2008).

### **b- Polyalcools : glycérol**

Après l'eau et l'alcool, le glycérol est le constituant du vin le plus abondant. Par sa saveur sucrée, égale à celle du glucose. Le glycérol est formé au début de la fermentation alcoolique du moût : les premiers 50 g/l de sucre fermenté donnent plus de la moitié de la teneur en glycérol du vin. Sa formation dépend de la quantité initiale de sucre, de la nature des levures et des conditions de fermentation : température, acidité, aération, sulfitation...etc (Akin, 2008).

D'autres polyalcools sont présents dans le vin mais à des niveaux de concentration très faibles ; citons par exemple l'inositol, le mannitol, le butanediol etc....

### **c- Acides organiques**

Au cours de la fermentation, la consommation du sucre par la levure (glycolyse) conduit à la formation d'acides organiques typiques de la fermentation. Les plus importants sont (Akin, 2008) :

- **L'acide succinique** : L'acide succinique est issu de la fermentation alcoolique du sucre. Sa production reste tout de même faible. Elle est d'environ 1 g pour 100 g d'alcool.
- **L'acide lactique** : Pendant la fermentation alcoolique, à partir des sucres, les levures peuvent synthétiser une faible quantité d'acide lactique, en majorité de l'acide D(-) lactique et moins de 10% de l'acide L(+) lactique. Mais l'essentiel est issu de la fermentation malolactique, et c'est alors l'isomère L(+) qui est en majorité (~75%).
- **L'acide acétique** : L'acide acétique est également un produit de la fermentation alcoolique du sucre. C'est un acide volatil. Sa production reste faible et inférieure à 1 g/l, bien que des niveaux supérieurs aux doses autorisées par les règlements d'appellation soient facilement atteints.  
Des teneurs plus élevées peuvent apparaître dans le cas de vinifications spéciales (blancs liquoreux) ou surtout en cas d'attaque bactérienne (bactéries lactiques à partir des sucres ou bactéries acétiques à partir de l'alcool).  
Il y a également l'acide citramalique, l'acide diméthylglycérique etc.... qui sont moins importants en quantité que les précédents.

#### **II-4-1-4- L'influence du pH sur la formation de quelques produits secondaires issus de la fermentation alcoolique par *S. cerevisiae***

Comme le montre le tableau II-2, il paraît que le pH est un paramètre déterminant qui permet d'orienter le déroulement de la fermentation.

**Tableau II-2** : les produits secondaires formés par *S. cerevisiae* à différents pH (Akin, 2008).

Produits (mmoles/l)	pH				
	3,0	5,0	5,8	7,0	8,0
Glycérol	84	80	112	169	209
Ac. Acétique	17	16,5	32	53	80,5
Ac. Succinique	6,3	6,3	5,6	9,3	10,1
Acétoïne	1,0	0,8	0,7	0,5	0,5
2,3 butanediol	7,2	7,2	6,3	4,8	4,1
Ethanal	1,0	1,1	1,3	1,0	1,0

D'après ce tableau, on constate que le pH du milieu influence d'une manière considérable sur la quantité des produits secondaires issus de la fermentation alcoolique par la levure *S. cerevisiae*. Lorsque le pH est autour du pH optimum, la concentration en ces produits secondaires est stable (un passage d'un pH de 3 à 5 ne modifie pas pratiquement les concentrations de ces composés). Toutefois, quand le pH passe de 5 à 5,8, la concentration en glycérol, en acide acétique augmente de 40% et 97% respectivement. Et plus le pH du milieu s'éloigne de l'optimum, les concentrations en glycérol, acide acétique et acide succinique augmente, lorsque le pH passe de 5 à 8, de 161%, 388% et 60% respectivement.

Les concentrations en acétoïne et en 2,3 butanediol contrairement aux trois composés précédents sont d'autant plus grandes quand le pH est faible. Concernant l'éthanal, sa concentration est pratiquement stable quelque soit le pH du milieu.

En plus, le temps que mettent les levures pour s'adapter et modifier les caractéristiques biochimiques du milieu est d'autant plus important que le pH s'éloigne de son pH optimum.

Tout cela démontre que le pH est un paramètre important qu'il faut contrôler, d'où l'intérêt de la régulation du pH du moût avant le lancement de la fermentation.

#### II-4-2 La fermentation acétique

La fermentation acétique est un processus biochimique où l'éthanol est oxydé en acide acétique par le biais de bactéries acétiques dans des conditions stricts d'aérobiose, elle nécessite donc une très forte aération. Les bactéries acétiques n'interviennent que si la teneur en alcool est faible, leur action peut être favorisée par l'intervention de levures qui oxydent l'éthanol et font donc baisser sa concentration (Guiraud, 1998 ; Tesfaye *et al.*, 2002).

L'acide acétique est un métabolite microbien très répandu. Cependant malgré sa facilité d'obtention par voie microbiologique, les énormes quantités d'acide acétique utilisées par l'industrie sont obtenues par voie chimique.

Néanmoins, la production d'acide acétique pour la préparation du vinaigre, par oxydation de l'éthanol par diverses espèces d'*acétobacter*, présente une certaine importance.

A cause de son intérêt alimentaire, la fabrication du vinaigre, connue depuis l'antiquité, à été l'objet de nombreux perfectionnement qui ont suivie de développement de la microbiologie industrielle (Simon *et al.*, 1970).



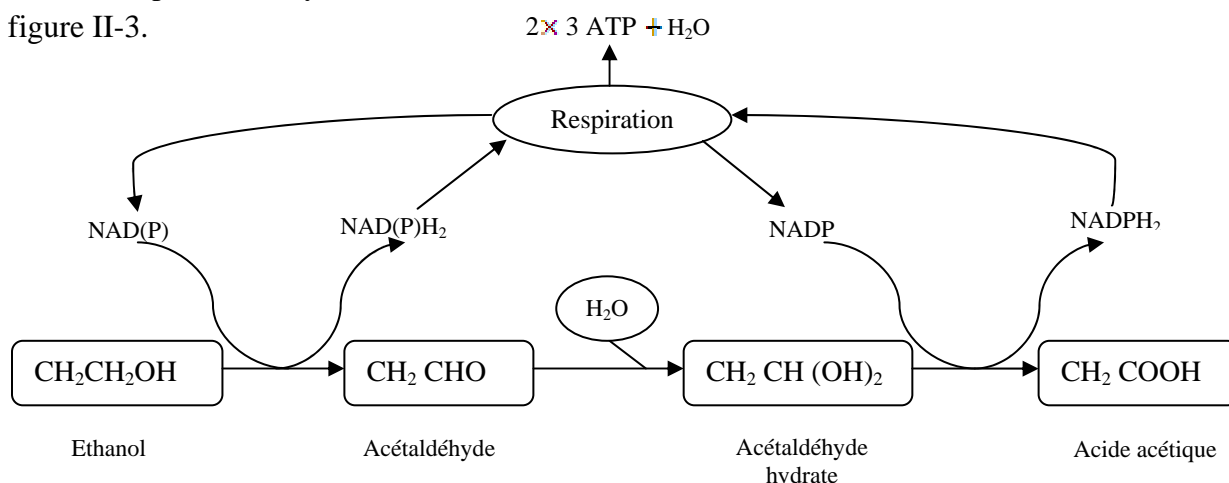
### II-4-2-1 Les bactéries acétiques

Les bactéries acétique constituent sont de gram négatif. Tous les membres de la famille des *Acetobacteraceae* sont strictement aérobies et leur métabolisme est strictement respiratoire où l'oxygène est l'accepteur final d'électron. Leurs température optimale de croissance se situe aux environs de 30 °C, leurs pH optimum de croissance est entre 5,4 et 6,3 (**Larpen, 1997 ; Kersters et al., 2006**). Leur croissance est inhibée par des teneurs au-delà de 40 g/l en acide acétique et un décroissement est enregistré à partir de la valeur limite de 120 g/l d'une part, et d'autre part pour des concentrations en substrat (éthanol) supérieur à 40 g/l (**Berraud, 2000**).

Elles sont très tolérantes aux pH acides. Leurs implications dans la fermentation acétique ont été mises en évidence par **Pasteur** en **1868**. Leurs développements se manifestent par la formation d'un voile de surface sur le vin ou le cidre (la mère du vinaigre). Seul ce voile contient des cellules vivantes aérobies strictes. Les acétobacters oxydent plus l'éthanol que le glucose, par contre les *Gluconobacter* ont plus d'affinité au glucose que pour l'éthanol. Contrairement au genre *Gluconobacter* qui s'arrête à l'acide acétique lors de l'oxydation de l'éthanol, le genre *Acétobacter* peut poursuivre l'oxydation jusqu'au stade  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$  quand la concentration en éthanol s'appauvrit (**Tesfaye et al., 2002 ; Branger, 2008**). Selon **Maruka et al. (1988)** et **Ebner et Follman (1983)** cités par **Bourgeois et Larpen (1996)**, un arrêt de l'oxygénation ou l'absence de l'éthanol entraîne la mort des cellules.

La résistance des bactéries à l'acide acétique et leur acidophilie, restent encore inexplicée. Il est possible que la richesse de la membrane de ces bactéries en acide gras saturés la rende relativement imperméable à cet acide qui se trouve sous forme indissocié dans les conditions industrielles (**Bourgeois et Larpen, 1996**).

Les étapes de biosynthèse de l'acide acétique à partir de l'éthanol est résumée dans la figure II-3.



**Figure II-3 : Schéma de biosynthèse de l'acide acétique (Larpen-Gourgaud et Sanglier, 1992).**

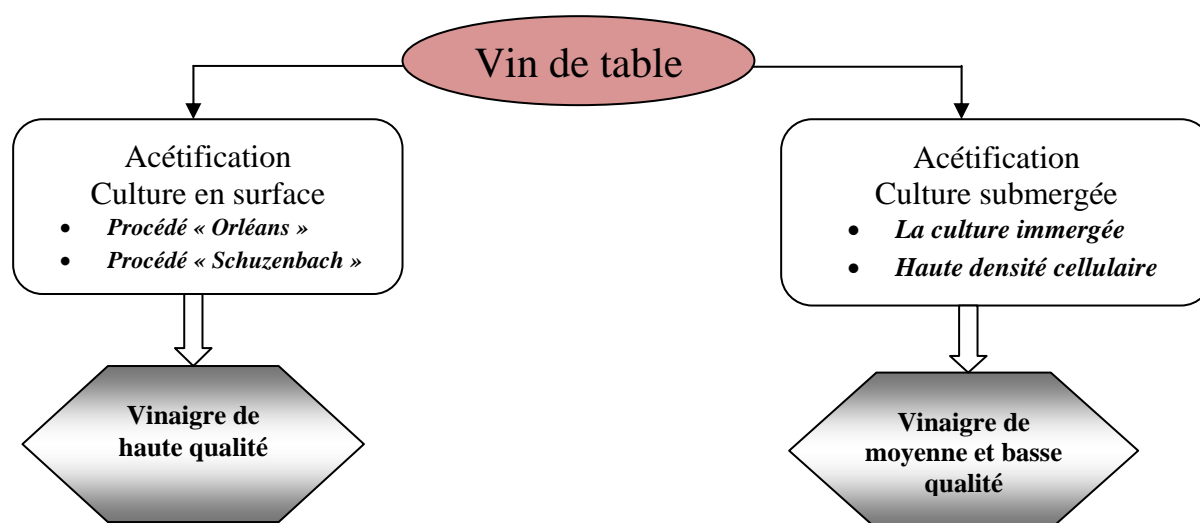
La production d'acide acétique est possible en anaérobiose. La tendance à utiliser des matières premières bon marché, à obtenir des taux de croissance plus élevés et à réduire les

coûts énergétiques plaident pour la méthode anaérobie. En effet les déchets cellulotiques peuvent être hydrolysés en glucose par des cellulases élaborées par des bactéries anaérobies. Le glucose peut ensuite être transformé en acide acétique par *Clostridium thermoaceticum* qui en fed-batch produit 35 g/l (Larpent-Gourgaud et Sanglier, 1992).

#### II-4-2-2 Les procédés d'acétification

Le premier procédé mis au point par les hommes consistait en la conversion spontanée du vin en vinaigre sous l'action de bactéries se trouvant sur les fruits, dans les récipients ou dans l'air, en laissant le vin en contact avec l'air (Bourgeois et Larpent, 1996).

Du point de vue technologique, il y a deux processus de fabrication du vinaigre (acétification).



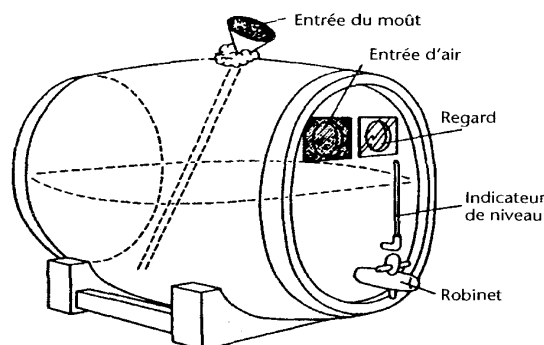
**Figure II-4:** Représentation graphique des deux méthodes de production de vinaigre (culture en surface et celle submergée) (Tefaye *et al.*, 2002).

##### II-4-2-2-1- Les processus traditionnels « lents »

C'est une méthode statique, où les bactéries acétiques sont placées dans l'interface liquide-air alors se trouvant en contact direct avec l'oxygène de l'air, on distingue :

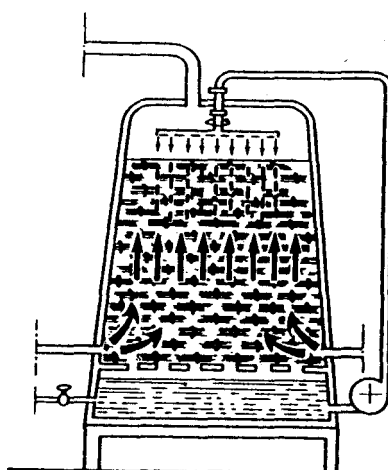
**A- Le procédé « d'Orléans » ou encore appelé le procédé de Pasteur :** le vin est oxydé dans des tonneaux exposés à l'air. Il se forme un voile de bactéries acétiques. Le soutirage du vinaigre et l'addition de vin se font par le fond du récipient (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Guiraud, 1998 ; Tefaye *et al.*, 2002 ; Callejón *et al.*, 2009).

Toutefois, cette méthode présente l'inconvénient de ne pouvoir produire que des petites quantités. Mais, un vinaigre d'excellente qualité.



**Figure II-5 :** Schéma d'un tonneau préparé pour l'acétification selon le procédé d'Orléans (Bourgeois et Larpent, 1996).

**B- Le procédé dit rapide « Schutzenbach » :** le vin ruisselle dans des colonnes contenant des copeaux de chêne ou de hêtre sur lesquelles se développent les bactéries acétiques, trouvant ainsi des conditions satisfaisantes pour oxyder l'éthanol. Le liquide en cours d'acétification est recyclé jusqu'à l'épuisement de l'éthanol. Frings (1932) améliora ce procédé en pratiquant une aération forcée et un contrôle de la température (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Guiraud, 1998).



**Figure II-6 :** Schéma de l'acétification à biomasse fixée sur des copeaux de hêtre (Bourgeois et Larpent, 1996).

Ces procédés traditionnels ne sont utilisés que pour certains vinaigres où l'acétification et le vieillissement sont simultanés (Tsfaye *et al.*, 2002).

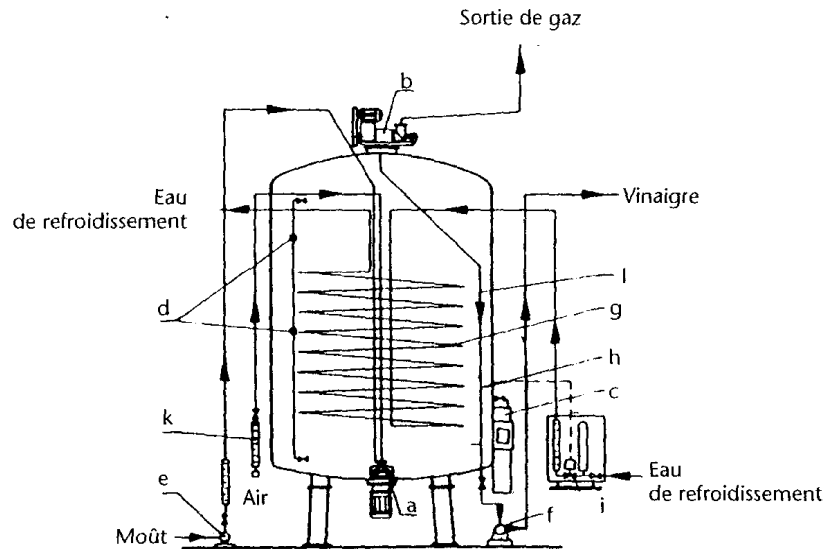
#### II-4-2-2-2 Les processus modernes « rapides »

**A- La culture immergée (submergée),** ce procédé s'effectue dans des fermenteurs muni d'un système d'aération forcée (Acétator, Cavitator, fermenteur de colonne...) (Guiraud, 1998).

Cette méthode est introduite au début du 20<sup>ème</sup> siècle. Aujourd'hui, elle est employée pour la production de la majorité des vinaigres commerciaux, destinés à tous types de consommation.

C'est Haromaka *et al.* (1950-1963) qui ont montré que la fermentation acétique est réalisable avec une bonne performance en milieu liquide bien aéré, soit une production

spécifique d'acide de 21 g par gramme de bactéries et par heure à 30 °C. Cependant, les arrêts d'oxygénation entraînent inexorablement la destruction des cellules bactériennes qui est d'autant plus importante pour des fortes concentrations en éthanol et en acide. Aussi, un arrêt irréversible du processus d'acétification lorsque les bactéries se trouvent momentanément sans éthanol, ce qui rend indispensable d'avoir un système de mesure du taux d'alcool (généralement un ébulliomètre) pour rajouter du substrat au moment opportun. De même, il faut éviter tout choc thermique ou osmotique au cours des cycles successifs d'où la nécessité d'avoir un système d'agitation vigoureux (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Callejón et al., 2009**).



**Figure II-7 : Acetator de Frings (Bourgeois et Larpent, 1996).**

**a** : moteur et aérateur; **b** : briseur de mousse; **c** : alcoolographe; **d** : niveaux de contrôle; **e** : pompe d'entrée ; **f**: pompe de soutirage ; **g** : circuit de refroidissement; **h** : thermomètre ; **I** : vanne d'arrivée d'eau ; **k** : débitmètre d'air; **I** : circuit de retour.

**Berraud (2000)** a réussi à produire, en fed-bach, des vinaigres d'alcool de 170 g/l d'acide acétique.

**B- Les réacteurs à haute densité cellulaire** : les productivités en acide acétique dans les cultures immergées restent relativement faibles (1,5 à 2 g d'acide/l.h avec une consommation de 1g/l.h d'oxygène. Le faible débit d'oxygénation permet de réduire les pertes en éthanol), et cela est dû à la modeste concentration en bactéries, de l'ordre de 100 mg/l. D'où l'idée de retenir la biomasse *in situ* par les techniques de recyclage de cellules ou d'immobilisation tout en augmentant l'aération avec de l'air enrichie en oxygène.

Park et Toda (1990) ont pu réaliser au laboratoire une productivité spectaculaire de 107 g/l.h et ce pour une teneur en acide de 45 g/l. Toutefois, les cultures successives s'accompagnent d'une importante mortalité, ce qui diminue l'efficacité (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

### II-4-2-2-3 Développements récents des processus d'acétification

Les récentes recherches sont focalisées dans le but d'augmenter le rendement tout en améliorant la qualité du vinaigre. Afin d'accomplir cet objectif, différentes stratégies sont envisagées (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Tesfaye et al., 2002**):

- Concevoir un meilleur système d'acétification ;
- Sélectionner les bactéries les plus productives ;
- Optimiser les conditions opératoires du processus...

Tous les procédés de fabrication du vinaigre utilisent des flores mixtes de bactéries acétiques.

*Toutefois, il ya dans certaines régions du sud algérien ceux qui se basent sur la double fermentation combinée et spontanée de dattes afin de produire leur propre vinaigre*

### II-5- La fermentation spontanée

Les matières organiques brutes contiennent une flore originelle qui peut entraîner le démarrage spontané de la fermentation (**Guiraud, 1998**).

Pour que celle-ci soit efficace, il faut que :

- La flore originelle du type souhaité soit abondante et en bonne état physiologique ;
- Les propriétés physicochimiques et nutritionnelles de l'aliment doivent être favorables pour un bon développement du microorganisme souhaité.

Ce type de mise en œuvre se rencontre en œnologie, en fromagerie, en vinaigrerie (**Guiraud, 1998 ; Ouled El Hadj et al., 2001**).

Lors d'une évolution spontanée, c'est la flore la plus performante et la mieux adaptée qui se développe en premier. Ce développement aboutissant généralement à une modification des paramètres du milieu. Ceux-ci peuvent devenir défavorables pour cette flore et au contraire pour une autre qui prend alors le relai et ainsi de suite (**Guiraud, 1998**).

### II-6- La composition du vinaigre

La composition d'un vinaigre est intimement liée à la matière première de départ. L'acide acétique constitue son composant majoritaire avec des concentrations dépassants généralement 45 g/l. Selon le type du vinaigre, les composants particuliers se présentent en quantités différentes. Les critères de différenciation sont, entre autres, les taux en extrait sans sucre, en sorbite, en acétoïne, en acide lactique, en acide tartrique, ou en lactose (**Matheis et al., 1995**).

- |  |                 |                           |
|--|-----------------|---------------------------|
| - Le vinaigre de vin                     | <b>contient</b> | l'acide L-tartrique       |
| - Le vinaigre de pomme                   |                 | l'acide L-malique         |
| - Le vinaigre de petit lait (lactosérum) |                 | l'acide D- et L- lactique |
| - Le vinaigre de citron                  |                 | l'acide citrique.         |

Toutefois, il est important de souligner la formation de nouveaux composés au cours du processus d'acétification (produit de fermentation) ou résultant de l'interaction entre des

composants entre eux : L'acétaldéhyde contribue à la saveur du vinaigre (**Boughnou, 1988**) et les « mélanoidines » à haut poids moléculaire procurent une coloration brune au vinaigre. Ces polymères sont dotés d'un pouvoir antioxydant remarquable qui a fait l'objet de plusieurs recherches (**Quigping et al., 2007**).

Afin de distinguer entre le vinaigre de fermentation du vinaigre artificiel (obtenu par simple dilution de l'acide acétique), trois paramètres peuvent être déterminés :

- **Teneur en ester éthylique totaux** : le vinaigre de fermentation renferme environ 0,008 à 0,022 g pour 100 ml, tandis que le vinaigre artificiel n'en renferme pas.
- **Indice d'oxydabilité permanganique des substances volatiles** : cet indice est négligeable dans le cas des vinaigres artificiels, et il descend rarement de 3 pour les vinaigres de fermentation.
- **Essai quantitatif à l'iode** : les vinaigres de fermentation fixent plus de dix fois que les vinaigres artificiels.

## II-7- Les utilisations du vinaigre

Le vinaigre ne contient pas de protéines, de matières grasses, de vitamines et de glucides. Il est très peu calorique ; sur le plan sanitaire, le vinaigre n'est pas un aliment dangereux en raison de son acidité.

Les utilisations culinaires du vinaigre sont nombreuses. Il est souvent aromatisé avec des herbes, des épices et d'autres ingrédients pour en faire des vinaigrettes. Il est, de même, utilisé pour faire des sauces, des marinades et des sauces pour salade. Le vinaigre est un condiment par lui-même et il est souvent utilisé lors de la macération des légumes et ajouté aux moutardes, aux ketchups et aux mayonnaises (**Burgeois et Larpent, 1996 ; Anonyme, 2007 ; Xu et al., 2007 ; Sakanaka et Ishihara, 2008**). Il est aussi utilisé pour conservation des fruits (poires, prunes...) (**Belitz et al., 2009**).

Comme tous les condiments, sa valeur nutritive est très faible et sa consommation doit être modérée surtout pour les personnes sensibles de l'estomac.

Dans la vie quotidienne, l'acide acétique constitue un excellent détartrant, il sert également pour rincer les lainages et il peut remplacer de nombreux produits d'entretien sans porter atteinte à l'environnement...

## II-8- Les vertus du vinaigre

D'après certaines recherches, le vinaigre serait un des aliments les plus sains au monde et reconnu très tôt pour ses étonnantes propriétés bienfaitrices. Il contribue à la régulation de la glycémie et de la pression sanguine, aide à la digestion et il stimule l'absorption du calcium. Il a été prouvé également qu'il réduit la fièvre, qu'il favorise l'extraction des substances toxiques corporelles, qu'il facilite les régimes alimentaires et qu'il agit comme désinfectant. En fait, la consommation de vinaigre pendant les repas accroît le sentiment de plénitude, ce qui réduit la quantité d'aliments consommés (**Anonyme, 2007 ; Xu et al., 2007**).

De plus, les résultats très encourageants présentés par Rengaswamy Sankaranarayanan et son équipe du Centre international de recherche sur le cancer (CIIRC) de Lyon, cité par **LD (2007)**, ayant développé une technique très peu onéreuse et efficace de dépistage du cancer du

col de l'utérus à base d'acide acétique, composant du vinaigre. En effet, le cancer de l'utérus est une maladie très peu dépistée et encore moins soignée dans les pays pauvres (question de moyens). Cette technique consiste en un examen visuel du col après application d'acide acétique dilué à 3 ou 5 %. Les lésions, annonciatrices de futurs cancers, apparaissent alors temporairement blanches. Sur un échantillon de 31 343 femmes, 3 088 se sont vu proposer des examens supplémentaires après apparition de ces marques blanches, et 1 874 présentaient effectivement des lésions cancéreuses. Ce test mené de 2000 à 2003 a permis de diminuer l'incidence du cancer de 25 % par rapport à un groupe contrôlé de 31 000 femmes (**LD, 2007**).

L'intérêt principal du vinaigre de riz, de cidre et des graines, en générale vient de leurs très grande richesse en minéraux comme le phosphore, le calcium, le soufre, le magnésium, le fer, le fluor, le silicium, le bore, en vitamines, en acides aminés essentiels, en enzymes et en pectines. Cette composition riche fait de lui un puissant reminéralisant naturel et lui donne aussi de nombreux vertus thérapeutiques. Bien entendu il n'y a aucun danger à consommer régulièrement du vinaigre de cidre et sa consommation à dose modérée ne provoque, comme beaucoup pourrait le croire, aucune brûlure d'estomac ni d'ulcère. Bien au contraire sa richesse en enzyme lui permet d'agir avec efficacité contre les bactéries intestinales tout en régulant l'acidité gastrique. Il est donc très bon contre les brûlures d'estomac, les intoxications alimentaires (**Xu et al., 2007**).

Au XVIII<sup>ème</sup> siècle, le vinaigre est recommandé pour le soin des animaux, en applications locales, pour soigner les lésions buccales de peste bovine, de fièvre aphteuse ou de clavelée, ou en potion pour soigner la morve (**Blancou et Vin-Niveaux, 2006**).

# Partie expérimentale

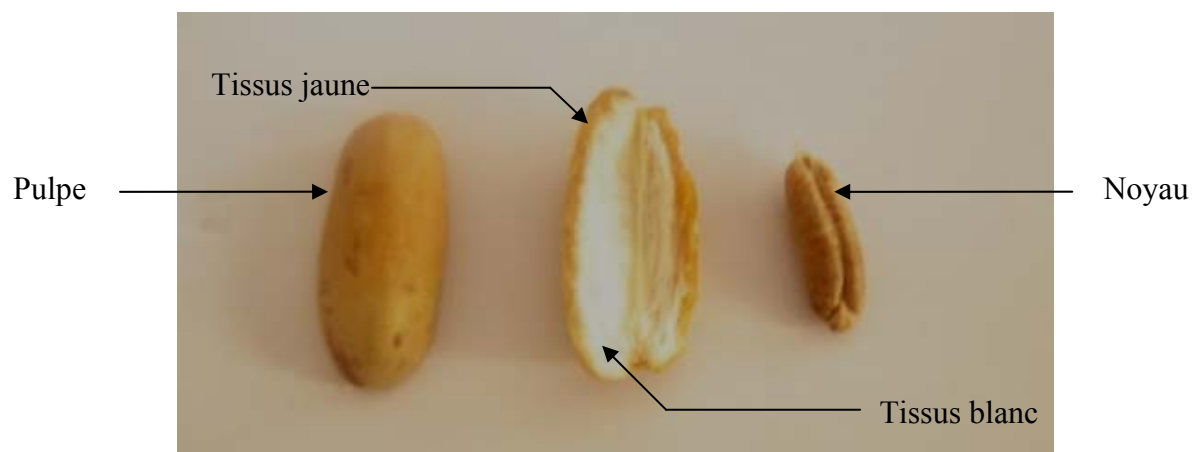


**Chapitre III**  
*Matériel et Méthodes*

### III-1- Matériel végétal

#### III-1-1- Choix de la variété

La variété de dattes retenue dans cette présente étude est *Degla-Beida* qui est de consistance sèche et très répandue dans les palmeraies du sud algérien (voir photo de la figure III-1). Elle constitue environ 37 % de la production nationale occupant la deuxième place après *Deglet-Nour* (53.9%) (**Anonyme, 2002**). De faible valeur marchande, cette variété n'est pas beaucoup appréciée par les consommateurs malgré sa richesse en sucres, en minéraux et en vitamines, du groupe B particulièrement. Sa faible teneur en eau (15% environ) favorise sa conservation (**Chibane, 2008**).



**Figure III-1** : Photographie de la datte entière *Degla-Beida* et de ses tissus constitutifs.

#### III-1-2- Obtention et conservation des échantillons

Les dattes analysées sont achetées le mois de novembre 2008 au marché de Reghaia (banlieue est d'Alger). Ces dattes ont été récoltées au stade de maturité «Tamar» à Biskra.

Afin de sauvegarder la qualité initiale des dattes, nous avons écarté les dattes infestées par un triage avant de les conditionner dans des sacs en plastique et de les entreposer dans un réfrigérateur à 4°C.

### III-2- Méthodes d'analyses

Elles se rapportent aux expériences suivantes

- 1- Caractérisation physique de la datte ;
- 2- Caractérisation physicochimique et microbiologique (bactéries acétiques, FAMT, levures et moisissures) de la pulpe de datte ;
- 3- Analyse du processus traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes à la température ambiante et à 30°C.
- 4- Caractérisation physicochimique:
  - a. Des différents produits finis obtenus par les différents modes de fermentation appliqués (spontanée et provoquée) ;
  - b. D'un échantillon de vinaigre de dattes provenant de la région du M'Zab (Automne 2008) ;
- 5- Essai de fabrication du vinaigre de dattes par l'application du procédé industriel :

5-1- Modélisation du processus d'extraction du jus de dattes par application des plans d'expériences, obtention et analyse de ce jus;

5-2- Proposition d'une méthode de détermination de la teneur en alcool et du sucre résiduel au cours de la fermentation alcoolique par réfractométrie ;

5-3- Fabrication du vinaigre à partir du jus de dattes par une double fermentation provoquée, alcoolique par des levures *saccharomyces cerevisiae* puis acétique par des bactéries acétiques.

### III-2-1- Caractérisation morphologique de la datte entière et de ses deux tissus

Les analyses qui suivent ont été réalisées sur 10 dattes (Acourene et Tama, 1997).

- La couleur a été appréciée visuellement ;
- La consistance : au toucher ;
- Les dimensions sont déterminées par le biais d'un pied à coulisse et le rapport suivant a été déterminé :

$$\text{rapport longueur/largeur} = \frac{\text{Longueur de la datte (cm)}}{\text{Largeur de la datte (cm)}}$$

- Le poids (pulpe entière, ses deux tissus constitutifs ainsi que le noyau) est déterminé à l'aide d'une balance analytique de type : SARTORIUS ( $\pm 0,0001$ ) et les indices suivants ont été déterminés :

$$\text{rapport pulpe/datte (\%)} = \frac{\text{poids de la pulpe (g)}}{\text{poids de la datte entière (g)}}$$

$$\text{rapport noyau/datte (\%)} = \frac{\text{poids du noyau (g)}}{\text{poids de la datte entière (g)}}$$

$$\text{rapport tissu jaune/pulpe (\%)} = \frac{\text{poids du tissu jaune (g)}}{\text{poids de la pulpe (g)}}$$

$$\text{rapport tissu blanc/pulpe (\%)} = \frac{\text{poids du tissu blanc (g)}}{\text{poids de la pulpe (g)}}$$

$$\text{rapport pulpe/noyau} = \frac{\text{poids de la pulpe (g)}}{\text{poids du noyau (g)}}$$

### III-2-2- Caractérisation physicochimique de la pulpe

#### III-2-2-1- Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est déterminée sur une partie aliquote de 3 g à une température de  $103 \pm 2$  °C selon la méthode décrite par (Acourene et Tama, 1997 ; Chibane *et al.*, 2007 ; Elleuch *et al.*, 2008).

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{(M_1 - M_2)}{P} \cdot 100$$

où  $M_1$  est la masse de la capsule + matière fraîche avant étuvage (g),  $M_2$  est la masse de la capsule + matière fraîche après étuvage (g) et  $P$  est la masse de la prise d'essai (g).

$$\text{Matière sèche (\%)} = 100 - H (\%)$$

### III-2-2- 2- Détermination de la teneur en protéines (Méthode de Kjeldahl)

Le principe de la méthode est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, alcalinisation des produits de la réaction puis distillation de l'ammoniac libéré et titrage.

On introduit dans un matras de minéralisation 1 g de dattes (2 ml du jus) et une pincée de catalyseur (sulfate de cuivre et de potassium), puis on ajoute 15 ml d'acide sulfurique pur ; On applique un chauffage progressif : d'abord une attaque à froid pendant 15 mn jusqu'à l'apparition de vapeur blanche d'anhydride sulfurique, puis le chauffage est rendu plus énergique, attaque à chaud pendant 4 à 5 heures ; Quand la solution devient limpide, elle est refroidie et complétée à 100 ml avec de l'eau distillée. La distillation est réalisée dans un distillateur semi automatique (VELP) où l'ajout de 20 ml de lessive de soude à 35 % dans le matras et 25 % d'acide borique dans une fiole de 250 ml est réalisé. Le dégagement d'ammoniac est récupéré dans une solution d'acide borique contenant l'indicateur coloré (mélange de bleu de méthylène et rouge de méthyle). L'excès d'ammoniac est alors dosé par l'acide sulfurique 0.05 N dans un titrateur automatique.

Un témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans échantillon.

La teneur en azote total est déterminée par la formule suivante :

$$N (\%) = \frac{\frac{V}{V'} \cdot (N - N') \cdot 0,05 \cdot 1,4}{P}$$

où  $V$  est le volume de la solution minéralisée (ml),  $V'$  est le volume de la solution de soude ajoutée (ml),  $N$  est la quantité d'acide sulfurique lue après titrage (ml) avec l'acide sulfurique de normalité 0,05 N,  $N'$  est le volume de l'acide sulfurique dépensé dans le titrage du témoin (ml) et  $P$  est le poids de la prise d'essai (g).

La teneur en protéines est calculée en multipliant le taux d'azote total  $N$  (%) par le coefficient 6,25 (Khallil *et al.*, 2002 ; Ben Thabet *et al.*, 2007).

### III-2-2-3- Détermination de la teneur en matière grasse (NF EN ISO 734-1, 2000)

Les corps gras sont les substances organiques qui peuvent être extraites à partir des fruits par des solvants organiques non polaires au moyen de l'appareil Soxhlet.

On sèche le ballon de 500 ml dans une étuve à 100°C pendant 1 heure. Après refroidissement dans un dessiccateur, on détermine son poids (vide) avec une précision de 0,001 g. On broie 20 à 25 g de l'échantillon qu'on met dans la cartouche en papier filtre.

Puis, on place cette dernière avec l'échantillon dans l'appareil soxhlet. On verse 200 ml d'éther de pétrole dans le ballon et 50 ml dans l'extracteur.

On chauffe le ballon sur le chauffe ballon pendant 4 heures (20 siphonages par heure) jusqu'à épuisement de la matière grasse. Après l'élimination du solvant par distillation, on sèche le ballon à une température de 70-80 °C puis on le pèse après refroidissement dans un dessiccateur avec une précision de 0,001 g. On répète l'opération de séchage jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

La teneur en matière grasse est déterminée selon la formule suivante :

$$MG \text{ (\%)} = \frac{(P_2 - P_1)}{P_3} \cdot 100$$

où  $P_1$  est le poids du ballon vide (g),  $P_2$  est le poids du ballon avec l'huile extraite (g) et  $P_3$  est le poids de la prise d'essai (g).

#### III-2-2-4- Détermination de la teneur en cendres (NF V05-113, 1972)

La pulpe de datte (5 g) est calcinée à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant. En ce qui concerne le jus de dattes et le mout de fermentation, la prise d'essai prise pour la calcination est de (25 ml).

Le pourcentage de la matière organique MO est donné par la formule suivante :

$$MO \text{ (\%)} = \frac{(M_1 - M_2)}{P} \cdot 100$$

où  $M_1$  est la masse de la capsule + prise d'essai (g),  $M_2$  est la masse de la capsule + cendres et  $P$  est masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres ( $Cd$ ) est calculée comme suit :

$$Cd \text{ (\%)} = 100 - MO$$

#### III-2-2-5- Détermination du pH (NF V 05-108, 1970)

Le potentiel d'hydrogène (pH) est une des variables utilisées pour caractériser les propriétés des milieux. Relativement facile à mesurer, le pH est utilisé dans de nombreux domaines comme variable opératoire, caractérisation du produit fini ou encore à des fins de contrôle de qualité. De nombreuses études se sont attachées à corrélérer sa valeur à des lois cinétiques de réactions, des qualités organoleptiques de produits ou encore des activités enzymatiques (Akin, 2008).

**Cas de la datte :** Après élimination des noyaux et les loges carpellaires, les dattes sont coupées en petits morceaux, puis on leur ajoute au moins deux ou trois fois son volume d'eau distillée dans un bécher. Un chauffage pendant 30 min avec agitation par une baguette en verre est réalisé dans un bain marie.

Le mélange ainsi obtenu est broyé dans un mortier. On procède à la détermination en prenant soin que l'électrode soit complètement immergée dans la solution.

**Cas du jus de dattes ou du moût de fermentation :** Le suivi du pH est essentiel pour le contrôle de la fermentation microbienne. Sa variation renseigne sur l'activité métabolique de la microflore.

Le pH est déterminé par la lecture directe sur un pH mètre préalablement étalonné de type : JANWAY.

### III-2-2-6- Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)

Titration de l'acidité par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

**Cas de la datte :** Après élimination des noyaux et les loges carpellaires, les dattes sont coupées en petits morceaux. 25 g de pulpe de dattes sont placés dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis on mélange jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène. Un réfrigérant à reflux est adapté à la fiole conique, puis on chauffe le contenu au bain-marie pendant 30 mn. On transvase, après refroidissement, quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250 ml et on complète jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie. On filtre après avoir bien mélangé.

On prélève à la pipette 25 ml du filtrat, on les verse dans un bêcher ; on ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine et tout en agitant, on titre par une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

L'acidité titrable est exprimée en grammes d'acide acétique pour 100 g de produit (datte) :

$$A \% = \frac{(250 \times V_1 \times 100)}{(m \times V \times 10)} \times 0.06 = 150 \times \frac{V_1}{m \times V}$$

où  $m$  est la masse de la prise d'essai (g),  $V_0$  est le volume du filtrat pris pour le titrage (ml),  $V_1$  est le volume de la solution d'hydroxyde de sodium à 0.1 N utilisé (ml) et 0.06 est le facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide acétique.

**Cas du jus de dattes et moût de fermentation :** Après homogénéisation, l'échantillon prélevé est filtré à travers un papier filtre. On prélève à l'aide d'une pipette de 25 ml du filtrat, on les verse dans une fiole jaugée de 250 ml et on complète jusqu'au trait-repère par de l'eau distillée.

On titre avec une solution d'hydroxyde de sodium à 0,1N en présence d'un indicateur coloré qui est la phénolphtaléine.

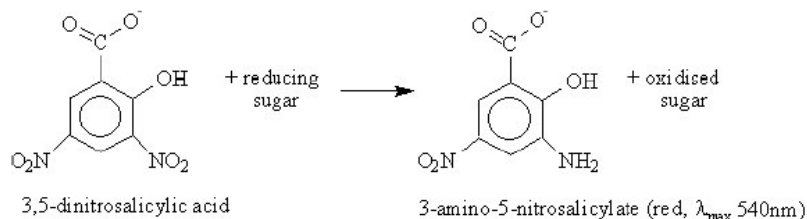
L'acidité titrable est exprimée en grammes d'acide acétique pour 100 ml de produit :

$$A \% = \frac{(250 \times V_1 \times 100)}{(V_0 \times V \times 10)} \times 0.06 = 150 \times \frac{V_1}{V_0 \times V}$$

où  $V$  est le volume de la prise d'essai (ml),  $V_0$  est le volume du filtrat pris pour le titrage (ml),  $V_1$  est le volume de la solution d'hydroxyde de sodium à 0.1 N utilisé (ml).

### III-2-2-7- Détermination de la teneur en sucres réducteurs (Miller, 1956)

Seuls les sucres réducteurs sont mesurés par cette méthode. Pour un jus ou moût de dattes, il s'agit de la somme du glucose et du fructose. La fonction réductrice se complexe sous certaines conditions avec le réactif DNS (acide di-nitro-3,5 salicylique), ce qui se traduit par une coloration orangée. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la teneur en sucres réducteurs.



Une défection préalable au dosage est nécessaire sur les échantillons fermentés afin d'éliminer les protéines (substances réductrices) pouvant interférer avec le dosage au DNS. Ce traitement consiste à mélanger 4 ml d'échantillon avec 0,5 ml de  $ZnSO_4$  à 5 % et 0,5 ml de  $Ba(OH)_2$  à 0,3 N. Après un temps de contact de 10 minutes, on élimine le précipité formé par centrifugation ou filtration.

Pour réaliser le dosage, on effectue dans un tube à essai le mélange de 1 ml de réactif de DNS (8 g de soude, 5 g d'acide di-nitro-3,5 salicylique, 150 g de tartrate double de sodium et de potassium, complété à 500 ml avec de l'eau et conservé à l'abri de la lumière) avec 1 ml d'échantillon à analyser précédemment déféqué et dilué de façon à se trouver dans la gamme d'étalon (0-2 g/l équivalent glucose). Après homogénéisation du mélange, on porte le tout à 100 °C pendant 10 minutes. A la sortie du bain-marie, le refroidissement dans un bain de glace et l'ajout de 10 ml d'eau distillée arrête la réaction. La lecture de l'absorbance à 540 nm permet de déterminer, à partir de la gamme étalon et en tenant compte des dilutions, la teneur en sucres totaux des différents échantillons (exprimée en g/l) (Akin, 2008).

### III-2-2- 8- Détermination du taux solide soluble (TSS ou°Brix) (NF V 05-109,1970)

Le Brix (%) exprime le pourcentage de la concentration des solides solubles contenus dans un échantillon (solution aqueuse). Le contenu des solides solubles représente le total de tous les solides dissous dans l'eau, incluant les sucres, alcools, les sels, protéines, acides, etc. et la mesure lue est leur somme totale. Fondamentalement, le Brix (%) est calibré en fonction du nombre de grammes de sucres de canne contenus dans une solution de 100 grammes.

Donc, lors de la mesure d'une solution de sucre, le Brix (%) devrait parfaitement correspondre à la concentration réelle. Dans le cas de solutions contenant d'autres composants, en particulier lorsqu'il s'agit de connaître la concentration exacte, une table de conversion est nécessaire.

Mesure à la température de 20°C, de l'indice de réfraction de l'échantillon préparé, et conversion de cet indice en résidus sec soluble.

**Cas de la dattes :** On pèse 10 à 20 g du produit découpé en petit morceaux après avoir éliminer les noyaux et les loges carpillaires dans un bécher de 250 ml, préalablement taré. On ajoute une quantité d'eau distillée égale ou supérieure à cinq fois la masse du produit. On chauffe au bain marie pendant 30 minutes en remuant de temps en temps avec une baguette de verre. Après refroidissement, on ajoute de l'eau distillée jusqu'à ce que la totalité du contenu du bécher soit approximativement de 100 ml à 250 ml. On mélange avec soin. Après une attente de 20 minutes, on filtre ou on centrifuge l'échantillon, puis on détermine le taux de résidu sec soluble par le réfractomètre du type « abbé ».

Le résidu sec soluble est donné par la formule suivante :  $^{\circ}\text{Brix} (\%) = M \times \frac{M_1}{E}$

où  $E$  est la masse de produit utilisé pour la détermination (g),  $M_1$  est la masse de résidu sec soluble pour 100 g de produit analysé (g), et  $M$  est la masse totale de la solution pesée (contenue dans le bécher).

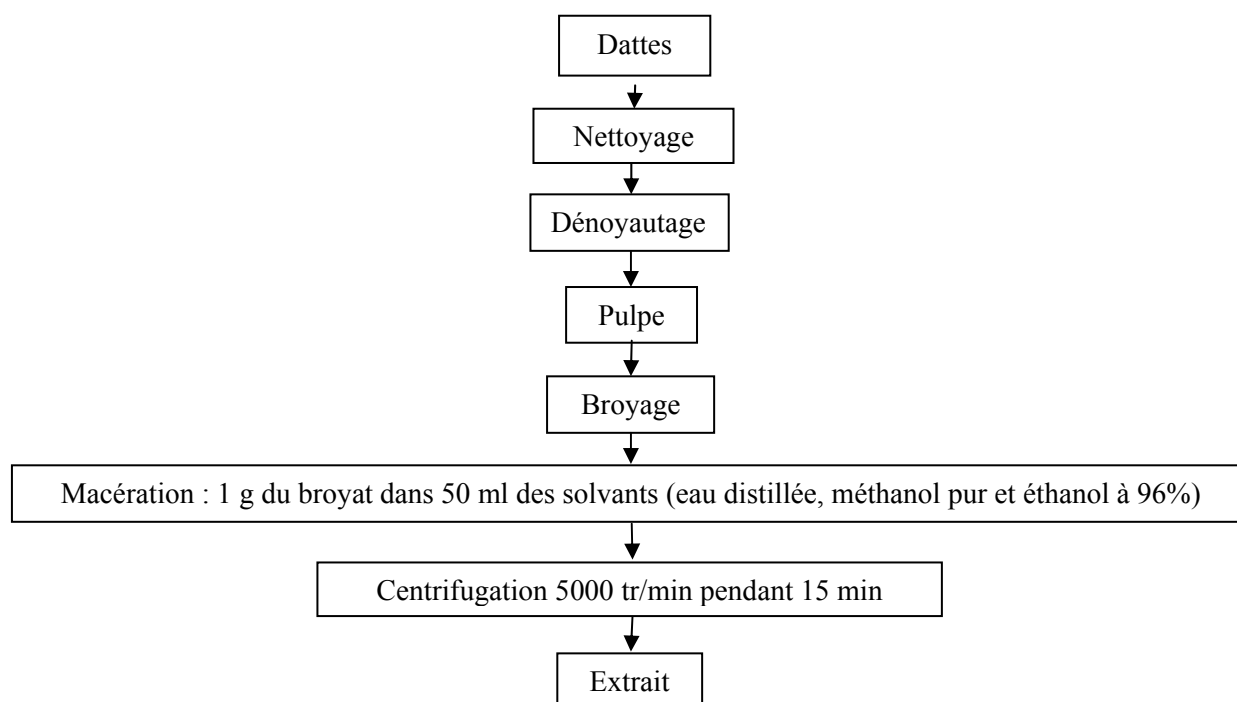
**Cas du jus de dattes et du moût de fermentation :** On filtre ou on centrifuge l'échantillon puis on détermine la valeur du résidu sec soluble par le refractomètre (lecture directe de la valeur du  $^{\circ}\text{Brix}$ ).

### III-2-2-9- Détermination de la teneur en polyphénols

En présence de phénols, le mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ) est réduit en oxydes bleus de tungstène ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) et de molybdène ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ), que l'on détermine par colorimétrie (mesure de la DO à 760 nm)

**A- Extraction des polyphénols :** Plusieurs solvants organiques peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques.

Le procédé d'extraction est réalisé comme le montre la figure III-2.



**Figure III-2 :** Principales étapes d'extraction des polyphénols.



Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite par **Juntachote *et al.*, (2006)**.

Concernant le vinaigre de dattes ramené de la région M'Zab et le jus de dattes à 12,5 °Brix, on réalise des dilutions puis centrifugation pour éliminer les particules en suspension de la manière suivante :

- Vinaigre traditionnel : 1ml de ce vinaigre est dilué par 19 ml d'eau distillée (20 ml) ;
- Jus de datte à 12.5°Brix : 4 ml de jus de datte est dilué par 16 ml d'eau distillée (20 ml).

### B- Préparation de la gamme d'étalonnage

200 mg d'acide gallique sont dissoute dans 100 ml d'éthanol, soit une solution (S1) avec une concentration de 2 mg/ml ;

A partir de la solution mère on prépare des dilutions comme suit :

- On Prélève 5 ml de la solution mère puis on ajoute 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution S/2 ;
- On Prélève 5 ml de la solution S/2 puis on rajoute 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution S/4;
- On refait la même procédure pour les autres dilutions jusqu'à S/1024.

Dilutions	S	S/2	S/4	S/8	S/16	S/32	S/64	S/128	S/256	S/512	S/1024
Concentrations (mg/ml)	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.195

### C- Dosage proprement dit

On prélève 0.5 ml de chaque dilution d'échantillon dans des tubes à essai ; on ajoute 5 ml d'eau distillée dans chaque tube ; puis on ajoute 0.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu's.

Après 3 mn, on ajoute 0.5 ml de carbonate de sodium à 10 % (au lieu de 20%); on incube pendant une heure à la température ambiante et à l'abri de la lumière.

Le blanc est représenté par 5 ml d'eau distillée, additionné de 0.5 ml de Folin-Ciocalteu's et 0.5 ml de carbonate de sodium à 10 %.

La lecture des absorbances est faite à 760 nm, après agitation et repos d'une heure. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage

### III-2-2-10- Détermination du pouvoir réducteur du Fer trivalent ( $Fe^{+3}$ ) en fer divalent ( $Fe^{+2}$ )

La capacité d'un extrait à réduire le  $Fe^{+3}$  a été évalué par la méthode d'Oyaizu (1986), (**Hindenburg *et al.*, 2006**).

#### A – L'extraction et la dilution

Les extraits analysés sont obtenus de la manière suivante :

- Dattes : 1g de la pulpe de datte est bien broyé avec une petite quantité d'eau distillée puis on complète jusqu'à un volume de 50 ml.
- Vinaigre traditionnel : 1ml de ce vinaigre est dilué par 19 ml d'eau distillée (20 ml)
- Jus de datte à 12.5°Brix : 1ml de jus de dattes est dilué par 4 ml d'eau distillée (5 ml)

### B- Préparation de la gamme d'étalonnage :

On prépare des solutions à des concentrations connues en acide ascorbique et on mesure leurs absorbance à 700 nm.

<b>Concentration en acide ascorbique</b>	0.02	0.06	0.1	0.14	0.2
<b>Do à 700 nm</b>	0.179	0.451	0.618	0.975	1.093

### C- Détermination proprement dite :

On mélange 1ml de l'extrait avec 2.5 ml d'une solution tampon de phosphate (0.2 M, pH=6.6) et 2.5 ml d'une solution aqueuse d'hexacyanoferrate de potassium [ $K_3Fe(CN)_6$ ]. Après 30 min d'incubation à une température de 50 °C, on ajoute 2.5 ml d'acide trichloracétique. La mixture ainsi obtenue est centrifugée pendant 10 min. on prélève 2,5 ml du surnageant, on lui rajoute 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de solution  $FeCl_3$  à 0.1%. Le pouvoir réducteur est déterminé en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide L-ascorbique comme standard d'étalonnage.

De plus, la mise en évidence de la flore microbienne initiale est d'une importance capitale :

- Bactéries acétiques (sur milieu Frateur)
- Levures (sur milieu OGA);
- Moisissures (sur milieu OGA);
- Flore aérobie mésophile totale (sur le milieu GN gélose nutritive).

### III-2-3- Essai de production du vinaigre à partir de la datte *Degla-Beida* selon la méthode traditionnelle (Appliquée dans la région du M'Zab dans le sud algérien).

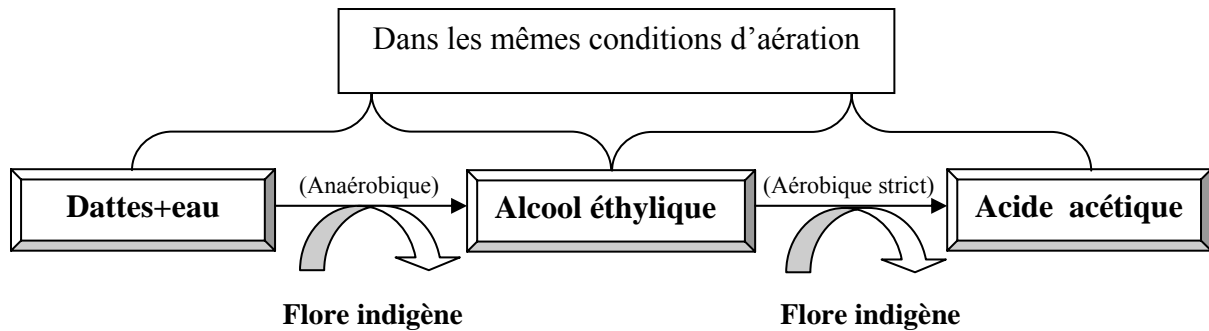
#### III-2-3-1- Introduction

De tout temps, les populations sahariennes ont eu à fabriquer localement leur propre vinaigre. Dans le cas particulier des habitants du M'Zabs, il est fabriqué à l'échelle ménagère par des méthodes empreintes de croyance. Les dattes utilisées proviennent d'un mélange de variétés de faible valeur marchande. Selon **Ould El Hadj et al. (2001)**, les variétés les plus utilisées en vinaigrerie traditionnelle locale sont : *Deglet Nour*, *Ghars*, *Harchaya*, *Assabri*, *Hamraya* et *El Horra*.

#### III-2-3-2- Principe de la double fermentation spontanée

La fabrication du vinaigre traditionnel consiste en une double fermentation combinée et spontanée (alcoolique et acétique). 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

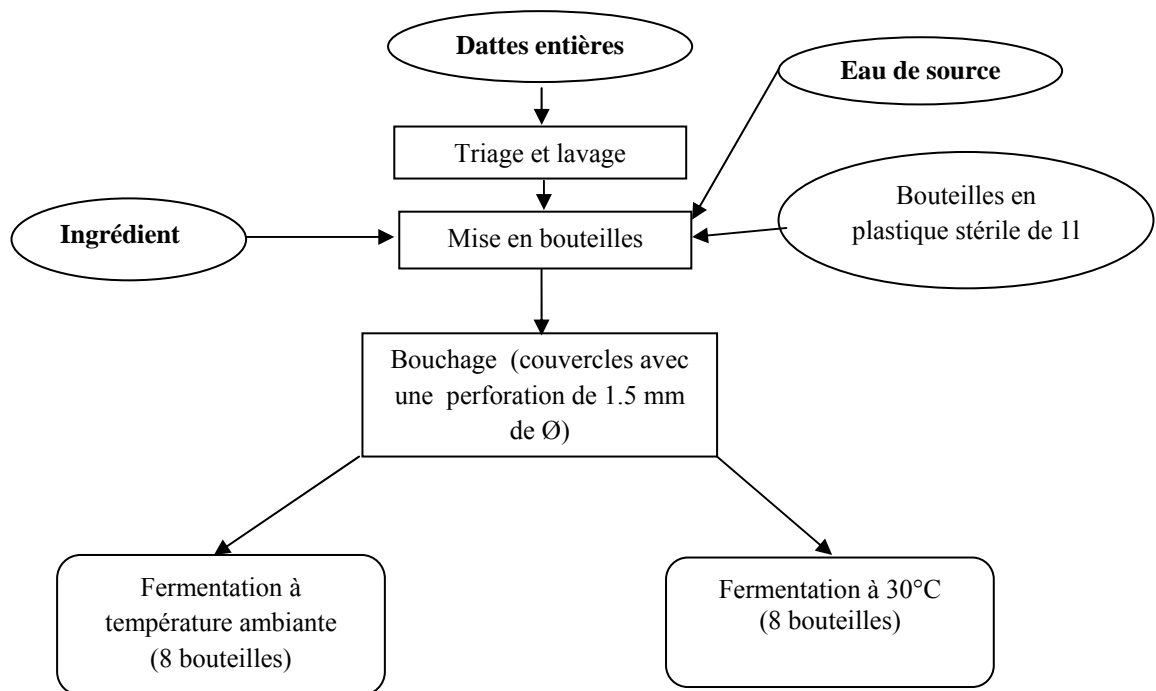
biotechnologiques se déroulent au même moment, bien que les exigences des organismes unicellulaires mis en jeu diffèrent en matière d'oxygène (Ould El Hadj *et al.*, 2001).



**Figure III-3 :** Principe du processus de la double fermentation combinée appliquée dans la production traditionnelle du vinaigre de dattes (Sud algérien).

### III-2-3-3- Elaboration du vinaigre traditionnel

Cette partie porte sur la préparation du vinaigre traditionnel à partir des dattes de variétés *Degla-Beida*. La procédure expérimentale est séquencée comme indiquée sur l'organigramme suivant (Figure III-4) :



**Figure III-4 :** Diagramme de préparation du vinaigre traditionnel au laboratoire

Le tableau III-1 donne la composition du mélange soumis à la fermentation.

La durée totale de suivi de la fermentation est de 45 jours conformément au procédé traditionnel tel appliqué dans la région du M'Zab.

L'évolution de la température est enregistrée à différents moments de la journée (8 h, 12 h et 18 h) pendant toute la durée du processus de fermentation.

**Tableau III-1** : Composition pondérale de chaque constituant du mélange

Constituant	Poids (g)	(%, p/p)
Dattes	150	33.23
Eau de source	300	66.45
Blé dur	0.3	0.066
Orge	0.3	0.066
Coriandre	0.1	0.022
Harmel	0.03	0.007
Piment	0.04	0.009
Sel de table	0.3	0.066
Clou de fer	0.38	0.084
<b>Total</b>	<b>451.45</b>	<b>100</b>

Les paramètres analysés à des intervalles de temps réguliers (7 jours) sont : le °Brix, le pH, l'acidité titrable, la teneur en alcool et la conductivité électrique.

#### III-2-3-4- Détermination de la teneur en alcool (NF V 05-107, 1970)

Le titre alcoolique peut être déterminé de plusieurs façons : par pycnomètre, aérométrie, ébulliométrie, méthodes enzymatiques, CPG et dosage chimique.

La détermination de la teneur en alcool par voie chimique est constituée de trois étapes : Séparation de l'éthanol par distillation, oxydation en milieu sulfurique par le dichromate de potassium et dosage du dichromate n'ayant pas réagi par le sulfate de fer (II) et d'ammonium, en présence d'orthophénanthroline ferreuse (ou de diphénylaminosulfonate de baryum comme indicateur).

L'échantillon est rendu bien homogène, et la prise d'essai est prélevée de façon à avoir une quantité d'éthanol inférieure à 1 g par 100 ml de distillat (soit une quantité de 15 ml).

On dilue la prise d'essai avec environ 50 ml d'eau distillée puis on transverse quantitativement dans le ballon de l'appareil à distiller. On lave la vase de pesée avec au plus 120 ml d'eau distillée et on recueille l'eau de rinçage dans le ballon.

Par le biais d'une suspension d'hydroxyde de calcium, on rend le pH du produit légèrement alcalin (pH voisin de 8). Afin de régulariser l'ébullition, on ajoute quelques billes de verre ou des morceaux de porcelaine. On distille en recueillant le distillat dans une fiole jaugée contenant préalablement 10 ml d'eau distillée (l'allonge est plongé jusqu'au fond).

Quand on recueille environ 80 à 85 ml de distillat, on arrête la distillation, on rince l'allonge et le réfrigérant par quelques millilitres d'eau distillée puis on complète le volume contenue dans la fiole jaugée par l'eau distillée jusqu'au trait-repère (100 ml).

Le distillat doit être recueilli à une température relativement basse.

On verse dans un flacon de 250 ml à col rodé 20 ml ( $V_1$ ) du dichromate de potassium puis 20 ml d'acide sulfurique dilué et on agite.

On ajoute 10 ml ( $V_0$ ) de substrat exactement mesurés. On bouche le flacon en mouillant le bouchon rodé avec une goutte d'acide sulfurique pur. On agite de temps en temps pendant 30 min afin d'avoir une oxydation complète de l'alcool.

Le mélange obtenu ne doit en aucun cas prendre la coloration verte du cation chrome, et cela indique une teneur trop forte en éthanol dans la prise d'essai.

On titre l'excès de dichromate au moyen de sulfate de fer et d'ammonium (l'excès de dichromate doit être au moins égal à 20 % de la quantité utilisée pour l'essai à blanc), on agite le flacon après chaque addition.

Lorsque la coloration vire au bleu-vert, on ajoute 1ml de d'orthophénanthroline (au lieu 4 gouttes tel que décrit par la présente norme). On arrête l'addition de sulfate de fer et d'ammonium lorsque le milieu passe du bleu-vert au marron.

**Essai à blanc :** On fait un essai à blanc dans les mêmes conditions que le titrage en remplaçant le volume ( $V_0$ ) de distillat par le même volume d'eau distillée. Soit ( $V_3$ ) le volume de solution sulfate de fer et d'ammonium utilisé.

La teneur en éthanol est exprimée en grammes pour 100 ml de prise d'essai, est égal à :

$$\text{Teneur en éthanol (g / 100 ml)} = 0.01 V_1 \frac{(V_3 - V_2)}{V_3} \times \frac{100}{V_0} \times \frac{100}{V}$$

où  $V$  est le volume de la prise d'essai (ml),  $V_0$  est le volume de distillat (ml),  $V_1$  est le volume de dichromate de potassium (ml),  $V_2$  est le volume de sulfate de fer et d'ammonium utilisé pour le titrage en retour du dichromate de potassium (ml) et  $V_3$  est le volume de solution sulfate de fer et d'ammonium utilisé dans l'essai à blanc (ml).

### III-2-3-5- Détermination de la conductivité électrique et de la salinité

La conductivité électrique d'une eau est la conductance des colonnes d'eau comprises entre deux électrodes métalliques de 1 cm<sup>2</sup> de surface et séparées l'une de l'autre de 1 cm (**Rodier, 1997**). Cette aptitude de conduire le courant dépend des ions présents dans la solution, de leur concentration totale, de leur valence, de leur mobilité, de leur concentration relative et de la température de la solution.

Elle nous renseigne aussi sur la teneur en sels solubles du produit (salinité). Elle est mesurée par un conductivimètre de type (JENWAY 4520). Les résultats sont exprimés en mS (milli siemens) dans le cas de la conductivité électrique, et en g/l dans le cas de la salinité.

Le °Brix, le pH, l'acidité titrable sont déterminées par les méthodes citées précédemment.

### III-2- 4- Caractérisation physicochimique des produits obtenus

- A. Du produit fini obtenu au laboratoire à partir de la double fermentation ;
- B. D'un échantillon de vinaigre de dattes provenant de la région du M'Zab en automne 2008 (comme référence).

**III-2- 4-1- Détermination de l'acidité volatile (NF V 05-118,1974)**

On entend par acidité volatile l'ensemble des acides gras de faible masse moléculaire, tels que les acides acétique et propionique. Le principe de cette méthode consiste à une acidification du produit par addition de l'acide tartrique, entraînement par la vapeur d'eau des acides volatils qui sont ensuite titrés au moyen d'une solution de NaOH à 0.1N en présence de phénolphtaléine.

On met 50 ml du produit (vinaigre) dans une fiole de 500 ml. On agite sous pression réduite pendant 2 à 3 min pour enlever le dioxyde de carbone en évitant la formation de mousse (une petite quantité d'anti-mousse comme l'acide tannique peut être directement ajoutée à l'échantillon). On introduit 25 ml de l'échantillon dans le barboteur et on rajoute 0.5 g d'acide tartrique cristallisé. On relie le barboteur au générateur de vapeur d'une part, et à l'ensemble colonne-réfrigérant d'autre part.

A l'aide de bruleurs (chauffes ballons), on chauffe simultanément le barboteur et le générateur de vapeur de façon à ce que le volume de liquide reste constant dans le barboteur pendant toute la durée de l'entraînement. On poursuit l'entraînement jusqu'à l'obtention de 250 ml recueilli dans une fiole conique de 500 ml.

On titre le distillat (250 ml) par NaOH à 0.1 N en présence de phénolphtaléine jusqu'au virage de l'indicateur.

L'acidité volatile, exprimée en milliéquivalents pour 100 ml de produit, est égale à :

$$A_v = 10 \times \frac{V_0}{V_1}$$

où  $V_0$  le volume, en millilitre, de la prise d'essai et  $V_1$  le volume, en millilitre, d'hydroxyde de sodium utilisé.



**Figure III-5 :** Dispositif de mesure de l'acidité volatile.

**NB :** Des essais à blanc (concentration connue en acide acétique) ont été réalisés afin de s'assurer de l'efficacité de cette installation.

**III-2- 4-2-détermination de l'acidité fixe (Matheis et al., 1995)**

$$\text{Acidité fixe} = \text{Acidité titrable} - \text{Acidité volatile}$$

La teneur en alcool, l'acidité titrable, le taux de cendre, la conductivité électrique, pH, teneur en sucres, teneur en polyphénols, le pouvoir réducteur ont été déterminés selon les méthodes citées précédemment.

### **III-2-5- Essai d'obtention du vinaigre à partir d'un extrait (jus) de dattes par l'application du procédé industriel**

On a subdivisé ce procédé en trois étapes principales

- la première : Extraction / clarification d'un jus à partir des dattes ;
- Entre temps : une méthode rapide de détermination de la teneur en alcool et en sucre à été étudiée ;
- la deuxième : Stérilisation et fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae* en anaérobiose ;
- la troisième : Fermentation acétique en aérobiose de l'extrait issu de la première fermentation.

#### **III-2-5-1- Extraction d'un jus sucré à partir de la datte *Degla-Beida***

Avant l'extraction, des tests préliminaires sont effectués pour fixer les niveaux des différents paramètres

##### **A- Modélisation du processus d'extraction du jus de dattes**

A cet effet, la méthodologie des plans d'expériences « plan factoriel complet de trois facteurs à deux niveaux » a été suivie.

Les variables indépendantes considérées sont la température « T », le temps « t » et le degré de désintégration « D » définie comme étant le nombre de divisions en parties approximativement égales du fruit entier. Un degré D de désintégration donnera  $2^D$  particules. Les conditions expérimentales sont données dans la matrice d'expérience (tableau IV-9).

L'extrait obtenu (par diffusion dans l'eau des matières solubles en particulier les sucres) à partir de la datte est caractérisé par trois indices (variables – réponse) (tableau IV-9, IV- 12, IV-14) :

- Le solide soluble totale ou °Brix (indicateur de diffusion des matières solubles et plus précisément les sucres) ;
- Le pH (indicateur de diffusion des acides) ;
- L'indice de brun (IB) : Mesure de la DO à 420 nm au spectrophotomètre avec un trajet optique de 10 mm de l'extrait après centrifugation (10000 tr/mn pendant 15 min) (Hou-yin Wang *et al.*, 2006).

L'extraction est réalisée sous agitation (105 oscillations par minutes) dans un bain-marie doté d'un agitateur de type MEMERT, avec un rapport dattes/eau de 1/5 (p/p).

Les résultats sont traités par le logiciel « Excel 2007 » et les courbes sont tracées par le logiciel « Origin Pro 7.5 ».

## B- Obtention effective du jus de dattes

A la base des résultats de A (modélisation), les paramètres suivants sont fixés : Température, temps et degré de désintégration de façon à avoir le meilleur rendement d'extraction et une couleur qui se rapproche le plus possible de celle de la datte étudiée.

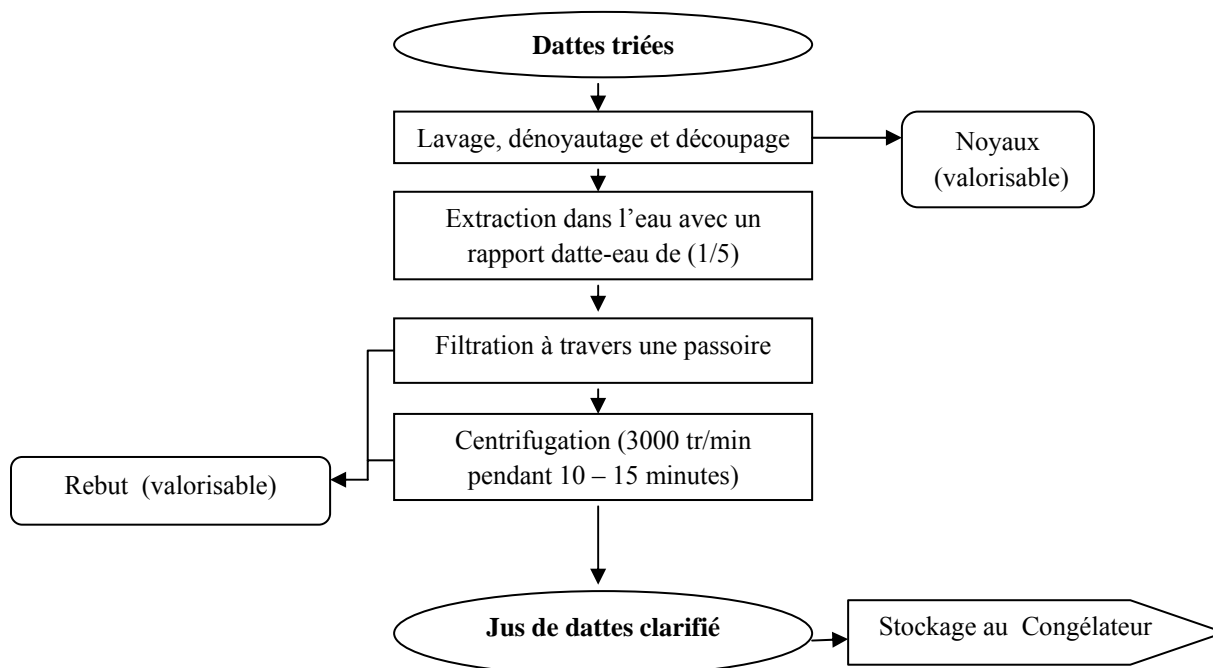


Figure III-6 : Organigramme d'extraction du jus de dattes.

## C- Caractérisation et correction du jus obtenu

Afin d'obtenir un vinaigre avec un titre acétique de 5 à 6 % environ, le taux de résidus sec soluble du jus obtenu est fixé à 12.5 °Brix (environ 12 % de sucre). Selon **Akin (2008)**, le rendement de conversion du sucre en alcool dans la fermentation alcoolique est de 1,7 (c'est-à-dire 1.7 g de sucre permet d'avoir 1 ml d'alcool), donc environ 6 à 7 ml d'alcool en fin de fermentation alcoolique ; ce qui permettra par l'acétification d'avoir un vinaigre d'environ 5 à 6 degré acétimétrique.

Les indices déterminés sont cités dans le tableau IV-18.

Notons que l'utilisation de l'eau de source (à la place de l'eau de robinet) a un double avantage. En effet, l'eau de robinet vu son traitement possible par javellisation risque d'avoir une action inhibitrice sur le déroulement de la fermentation (alcoolique et acétique). D'autre part, l'eau de source constitue un apport supplémentaire en minéraux (une salinité de 0.9 g/l pour l'eau de source contre 0.6 g/l pour l'eau de robinet).

### III-2-5-2- Essai d'utilisation de la réfractométrie comme méthode rapide d'estimation du degré alcoolique et de la teneur en sucres résiduels au cours de la fermentation alcoolique

La détermination des grandeurs biologiques « sucres résiduels d'alcool produit » durant la fermentation alcoolique (process industriels ou à l'échelle de laboratoire) est d'une importance capitale (**Barre et al., 1988 ; Chiaramonti et al., 1997 ; Roig et Thomas, 2003**).



Plusieurs techniques d'analyses chimiques, spectrophotométriques, chromatographiques..., permettent le dosage de ces constituants.

Toutefois, ces techniques sont très longues, nécessitant des préparations parfois rigoureuses, des réactifs et des appareils onéreux. A titre d'exemple, la détermination du taux d'alcool prend environ 2 heures, nécessitant plusieurs réactifs sinon des instruments d'analyses fines pas toujours à la portée de tous les laboratoires (CPG, HPLC...).

C'est la raison pour laquelle nous avons tenté de contourner ces obstacles en recourant à la réfractométrie en y consacrant une série d'expériences de vérification et de validation. En outre, cette méthode permet une détermination simultanée de la teneur en alcool et en sucres résiduels.

### A- La réfractométrie

La réfractométrie est l'ensemble des techniques optiques de mesure de l'indice de réfraction d'un milieu matériel, défini comme le rapport de la vitesse du rayonnement dans le vide à sa vitesse dans le milieu considéré (Audigié *et al.*, 1985 ; Véret, 2008).

De nombreux appareils sont disponibles commercialement permettant une mesure simple et rapide, il existe même des réfractomètres numériques avec ou sans compensation automatique de la température, avec une précision de  $10^{-3}$  sur l'indice de réfraction et 0,5 sur le °Brix.

Les applications de cette technique en industries alimentaires concernent essentiellement : la mesure de concentration en glucides, en protéines, en matières sèches, liquides, pates, ainsi que les contrôles de qualité de production (sirops, jus de fruits et légumes, boissons, mout de raisins).

En œnologie, il est possible de calculer le degré alcoolique d'un vin à partir de la mesure de sa masse volumique et de son indice de réfraction (Linden, 1991).

#### A-1- Définition

On appelle indice de réfraction **IR** (dans la littérature il est désigné généralement par **n**) d'un milieu, le rapport de la vitesse de propagation de la lumière (rayonnement électromagnétique) dans le vide  $C$  et de la vitesse de propagation dans le milieu donné

$V$  (Véret, 2008 ; Audigié *et al.*, 1985): 
$$IR = \frac{C}{V}$$

#### A-2- Facteurs agissant sur l'indice d'un milieu

L'indice de réfraction est fonction des paramètres suivants du milieu traversé :

- ❖ **sa nature chimique**, du fait que la valeur de la réfractivité moléculaire est une caractéristique de chaque corps et que, dans un mélange, intervient la proportion des différents corps qui le constituent ;
- ❖ **son état**, en relation avec la masse volumique qui croît selon qu'il est à l'état gazeux, liquide ou solide ;
- ❖ **les conditions physiques de température et de pression** dans lesquelles il se trouve, qui influent sur la valeur de sa masse volumique. En effet, l'effet de la

température n'est pas négligeable, en général, l'indice diminue lorsque la température augmente.

- ❖ De plus, la réfractivité moléculaire, constante pour une radiation donnée, varie avec la longueur d'onde de la radiation à la traversée de tout milieu matériel. Le milieu est dit dispersif, sa dispersion correspondant à la variation de l'indice de réfraction avec la fréquence  $\nu$ , la longueur d'onde  $\lambda$  ou le nombre d'onde  $\sigma$  (inverse de la longueur d'onde  $\lambda$  :  $\sigma = 1/\lambda$ ) (Véret, 2008).

## B- Réalisation expérimentale

Afin de comprendre l'évolution de l'indice de réfraction (ou le °Brix) du milieu fermentaire, et sa corrélation avec la teneur en alcool produite.

La procédure est la suivante :

- Détermination de l'impact de certains composés (composés du moût de dattes) sur l'indice de réfraction : l'alcool, le glucose et le fructose ;
- Modélisation (toujours au moyen des plans d'expériences) de l'effet du °Brix d'un jus de datte et du taux d'alcool sur l'indice de réfraction et le °Brix de la mixture ;
- Une petite recherche bibliographique sur le taux de conversion des sucres en éthanol par la levure *Saccharomyces cerevisiae* ;
- Détermination de la courbe d'évolution du taux de sucre et celle d'alcool en fonction du °Brix (IR) dans le cas d'une fermentation d'un jus de dattes à 12,5°Brix et les courbes d'isoréponses ;
- Validation de cette méthode.

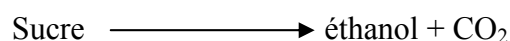
Mis à part le brevet Européen EP 0 271 380 B1 (Barre *et al.*, 1988), donnant une corrélation expérimentale entre l'indice de réfraction et la densité au cours du processus de fermentation alcoolique, à notre connaissance aucune littérature ne mentionne cette méthode (réfractométrie) en tant qu'unique moyen d'estimation simultanée de l'alcool produit et de sucres résiduels au cours de la fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae*.

Les hypothèses de départ sont :

**Hypothèse 1:** la fermentation est réalisée dans des conditions optimales (comme en œnologie) c'est-à-dire : moût stérilisé, levure *Saccharomyces cerevisiae* pure, T°C optimale et un pH optimum.

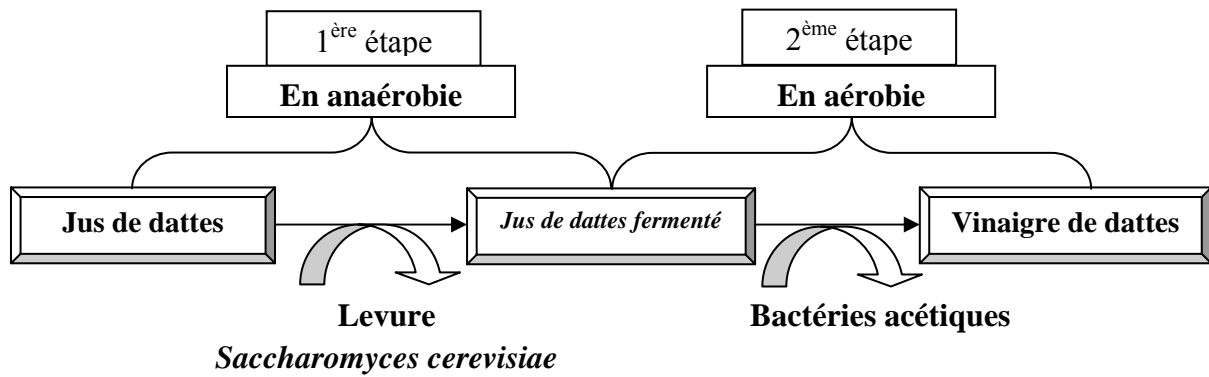
**Hypothèse 2 :** l'indice de réfraction dépend exclusivement de la teneur en sucre et en alcool.

L'ensemble des mécanismes biochimiques peuvent être résumés par l'équation bilan suivante:



### III-2-5-3- Phases et étapes de la production du vinaigre de dattes par double fermentation

Le schéma suivant (Figure III-7) synthétise la procédure suivie.



**Figure III-7 :** Production du vinaigre par une double fermentation telle qu'appliquée à l'échelle industrielle.

### A- Fermentation alcoolique en discontinu

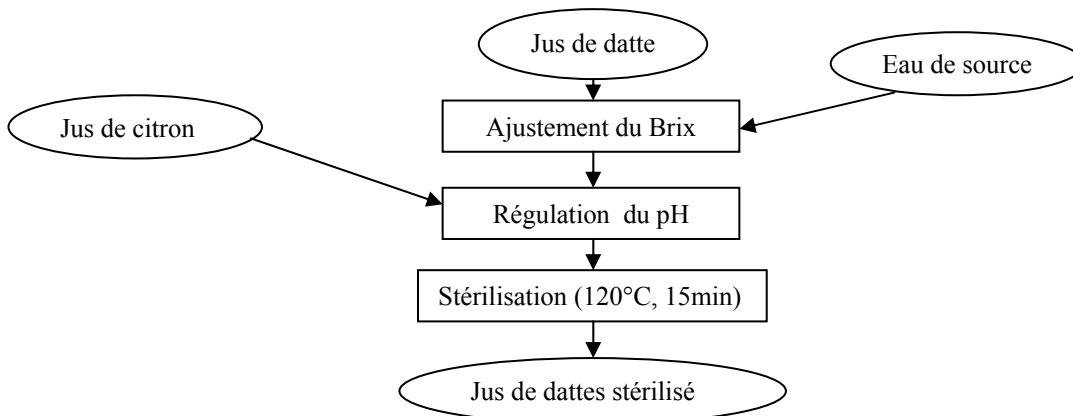
La fermentation alcoolique consiste à transformer les sucres fermentescibles en anaérobiose par des levures en alcool et gaz carbonique avec dégagement de calories selon la réaction suivante : **Sucres + Levures ==> Ethanol + CO<sub>2</sub> + Energie**

Les souches de *Saccharomyces* tolèrent généralement de fortes concentrations en éthanol mais par contre sont sensibles à l'effet glucose. Il faut noter également que ces souches ont la particularité de flocculer dans le milieu en fin de fermentation.

Selon **Larpen (1990)**, à partir d'un seuil de 40g/l, l'éthanol devient inhibiteur à la fois pour le développement des cellules surtout et pour la production d'éthanol. En outre, Le moût de fermentation doit contenir une concentration en sucres comprise entre 1 et 300 g/l (**Larpen, 1991 ; Kaidi et Touzi, 2001**).

#### A-1- Préparation du moût de fermentation

Le diagramme de la figure III-8 indique les étapes suivies.



**Figure III-8 :** Etapes de préparation du jus de dattes « mout » pour la fermentation.

Le pH du milieu est ajusté autour de 4.4 et 4.6 à l'aide d'un jus de citron.

A la fin de la fermentation, nous serons en présence d'un jus de dattes fermenté qu'il faut filtrer et il servira de substrat pour la deuxième phase de fermentation (acétification) afin d'aboutir en fin à un vinaigre de dattes.

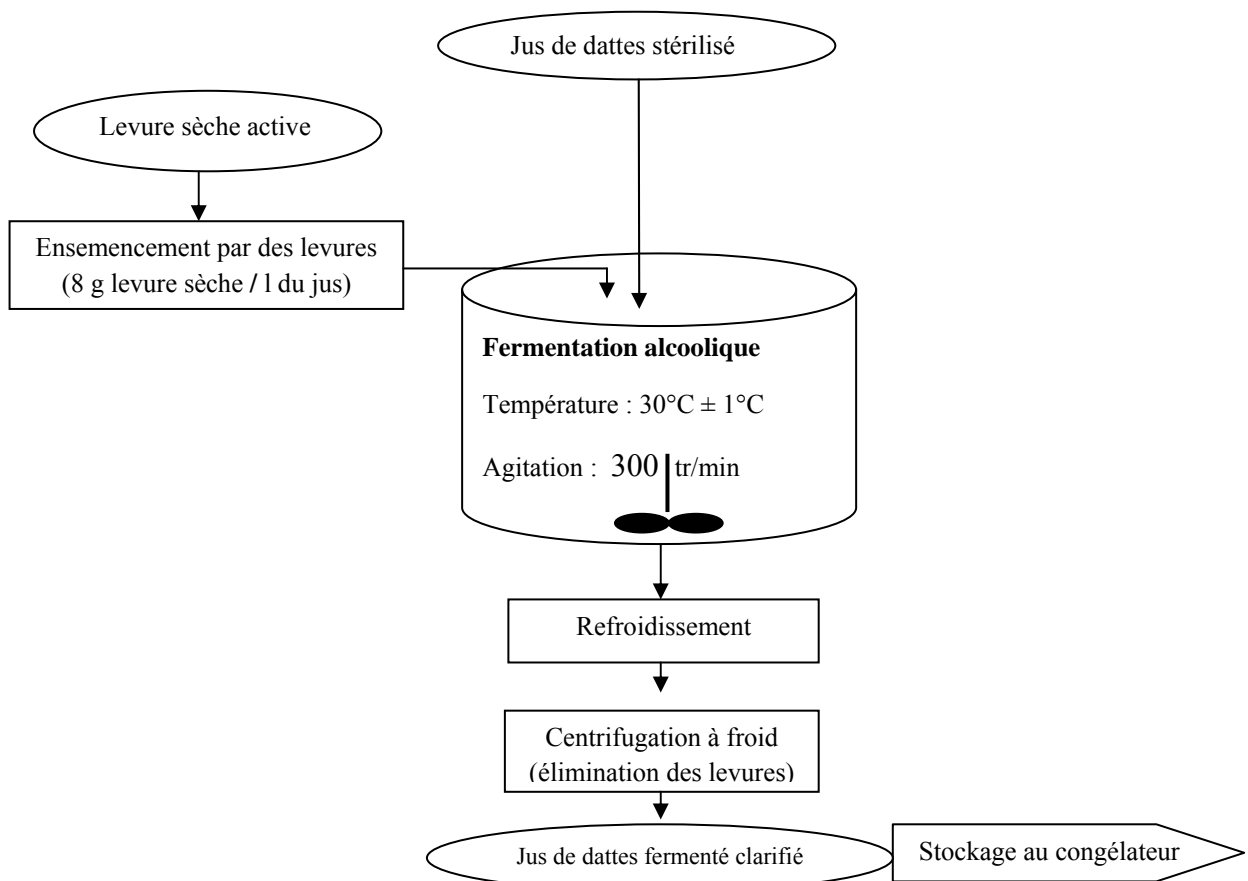
### A-2- Mise en œuvre de la fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique du jus de dattes a été réalisée par la levure brassicole *Saccharomyces cerevisiae* (provenance de Tango). Ce genre de levure compte environ 57 espèces. Un test préliminaire est réalisé afin de s'assurer qu'elle est saccharase + (fermente le saccharose).

De la qualité et de la quantité d'inoculum va dépendre le succès de toute expérience et de toute production biotechnologique. L'inoculum de base doit être soigneusement conservé et il faut aussi qu'il soit pur (**Larpen-Gourgaud et Sanglier, 1992**).

Ce procédé est mené jusqu'à l'épuisement des sucres, il se caractérise par un arrêt de dégagement du CO<sub>2</sub>, permettant ainsi d'atteindre un taux maximal d'alcool.

L'organigramme suivant (Figure III-9) illustre les différentes étapes suivies.



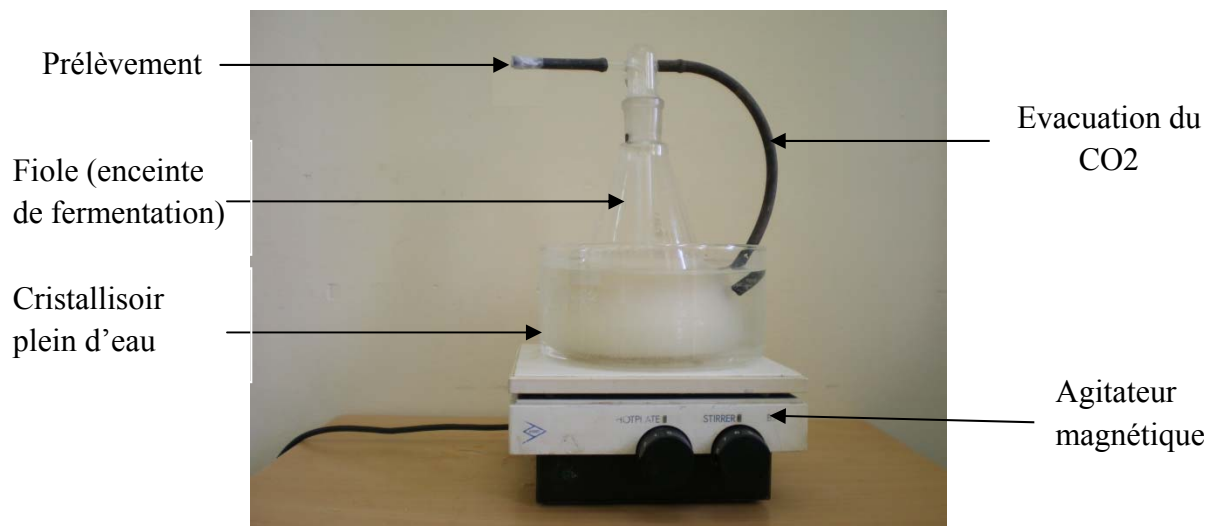
**Figure III-9 :** Diagramme de déroulement de la fermentation alcoolique.

La fermentation est conduite dans des fioles de 1l remplies au 3/4 de sa capacité. C'est la quantité de levure qui détermine généralement la durée de la fermentation alcoolique, dans

notre cas la quantité d'ensemencement est de 8 g/l de levure sèche (afin de réduire la durée de l'opération).

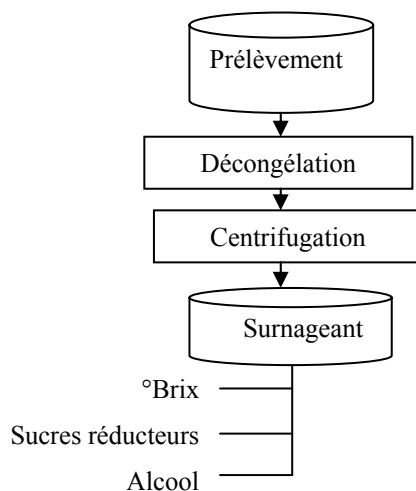
L'agitation est réalisée avec un barreau magnétique de 2,5 cm.

La figure III-10 représente le dispositif de la fermentation alcoolique. Ce dernier, est introduit dans une étuve thermostatée.



**Figure III-10 :** Dispositif de la fermentation alcoolique.

Après prélèvement, les échantillons sont congelés. Les paramètres analysés à des intervalles de temps sont illustrés dans l'organigramme suivant (Figure III-11).



**Figure III-11 :** Procédures de suivi de quelques paramètres physicochimiques du milieu réactionnel.

Les paramètres pH, IB, acidité titrable sont déterminés sur le produit obtenu.

Les résultats obtenus par cette expérience permettront de vérifier la validité de la méthode réfractométrique proposée (voir section IV-5-6).

#### A-4 Dosage du CO<sub>2</sub>

Le dioxyde de carbone étant le produit volatil majoritaire de la fermentation alcoolique. Le CO<sub>2</sub> dégagé a été calculé à partir de la variation du poids et du volume de la cuve de fermentation. Cette dernière est posée sur une balance et à chaque acquisition du poids, le calcul suivant est effectué :

$$CO_2(t) = CO_2(t-1) + \frac{P_{t1} - P_{t2}}{V}$$

où  $P_{t1}$  et  $P_{t2}$  sont les poids de la cuve de fermentation aux instants (t) et (t-1) respectivement, V est son volume à l' instant t.

On obtient ainsi la quantité de CO<sub>2</sub> dégagé depuis le début de la fermentation en estimant que La perte de poids est entièrement due à la production de CO<sub>2</sub> (hypothèse simplificatrice

Acceptable étant donné les faibles quantités d'autres produits volatils devant la quantité de CO<sub>2</sub>) (**Larpent, 1997; Akin, 2008**).

Lorsqu'un prélèvement est effectué, la perte de poids provoquée par ce prélèvement ne doit pas être confondue avec un dégagement de CO<sub>2</sub>.

### B- Fermentation acétique

#### B-1- Isolement des bactéries acétiques

Nous avons effectué l'isolement des bactéries acétiques à partir de la datte *Degla-Beida* et à partir de l'acétator (unité de production du vinaigre d'alcool SIDNA) sur un milieu sélectif à base d'éthanol. Ce dernier est le milieu Frateur dont la composition est la suivante (**Guiraud, 1998**):

- Extrait de levure 30 g
- Carbonate de calcium CaCO<sub>3</sub> 20 g
- Gélose 20 g
- Eau distillée qsp 1000 ml.

Ce milieu est autoclavé à 120°C pendant 15 min. Après refroidissant jusqu'à une température de 40°C, on y rajoute 100 ml d'éthanol à 15%. il est ensuite coulés en boîte de pétrie.

L'incubation est effectuée à 30°C (**Baena-Ruano et al., 2006**).

Un repiquage est réalisé sur le milieu Frateur, puis un enrichissement sur un bouillon de bactéries acétiques dont la composition est la suivante (**Guiraud, 1998**) :

- Extrait de levure 10 g
- Glucose 100 g
- Carbonate de calcium CaCO<sub>3</sub> 20 g
- Eau distillée qsp 1000 ml.

Cet enrichissement est réalisé dans une fiole de 500 ml avec un volume utile de 100 ml. L'aération est assurée par un buller d'aquarium doté d'un filtre ( $0.45\mu\text{m}$ ), quant à l'agitation, elle est assurée par un barreau magnétique de 2.5 cm avec une vitesse de 100 tr/min.

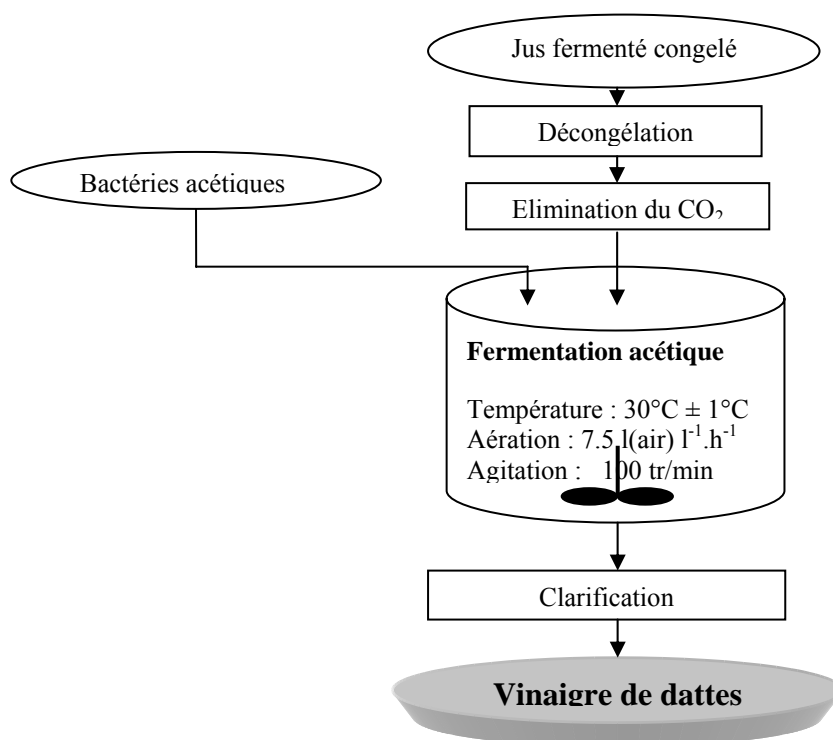
L'incubation est effectuée à une température de  $28^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures (Guiraud, 1998).

### B-2- La mise en œuvre de la fermentation acétique

L'objectif de cette phase étant d'obtenir un vinaigre de dattes contenant aux moins 5% d'acide acétique et de répondre aux normes du vinaigre exigées par le Codex Alimentarius.

Le processus d'aération est déterminant pour la réussite de la fermentation acétique. En étudiant la fermentation acétique du vin, Baena-Ruano *et al.*, (2006) ont utilisé un débit d'air de  $7,5\text{ l d'air/l du milieu/heure}$ .

Dans notre cas, le diagramme de la fermentation suivie est schématisé dans l'organigramme suivant (Figure III-12).



**Figure III-12** : Diagramme de déroulement de la fermentation acétique.

Les paramètres physicochimiques suivis au cours de ce processus sont : l'acidité titrable et la teneur en alcool.

# **Chapitre III**

## *Résultats et discussions*



## IV-1- Caractéristiques de la matière première (*Degla-Beida*)

### IV-1- 1- Caractéristiques morphologiques de la datte

Les caractéristiques physiques de la datte étudiée sont données dans le tableau IV-1.

**Tableau IV-1** : Caractéristiques physique de la datte *Degla-Beida*.

Paramètres	Valeurs moyennes
Couleur	Jaune pale vire au blanc
Consistance	Sèche
Poids de la datte entière (g)	6.19 ± 1.06
Poids de la pulpe (g)	4.97 ± 0.90
Poids du noyau (g)	1.22 ± 0.20
Poids du tissu externe de la pulpe (jaune) (g)	3.32 ± 0.12
Poids du tissu interne de la pulpe (blanc) (g)	1.65 ± 0.08
Longueur de la datte (cm)	3.65 ± 0.47
Longueur du noyau (cm)	2.32 ± 0.20
Largeur (diamètre) de la datte entière (cm)	1.78 ± 0.09
Largeur (diamètre) du noyau (cm)	0.80 ± 0.04
Rapport pulpe/datte (%)	80.29
Rapport noyau/datte (%)	19.71
Rapport tissu jaune/pulpe (%)	66.80
Rapport tissu blanc /pulpe (%)	33.20
Rapport pulpe /noyau	4.07
Rapport longueur/largeur	2.1

Comme on le voit, la couleur de la datte *Degla-Beida* (déterminée visuellement) varie du jaune pale au blanc présentant parfois des zones brunes sur sa surface. Les substances colorantes sont mal connues, d'après **Rygg, (Meunier, 1973)**, le pigment jaune de la datte « *Barhi* » peut être une flavone ou un flavonol et le pigment rouge de la *Deglet-Nour* est une anthocyanine. Les zones brunes peuvent être dues aux réactions de brunissement non enzymatiques qui sont accentuées par l'exposition directe au soleil. Cette observation ne corrèle pas avec l'avis d'**Acourene et al. (1997)** qui l'ont qualifiée de blanche. Il convient de rappeler ici l'importance de la couleur en tant que critère de qualité. Pour les consommateurs, il s'agit d'un critère de choix pour l'appréciation de la qualité d'un aliment.

La consistance d'une variété est déterminante pour ses qualités organoleptiques. Et de ce point de vue, *Degla-Beida* est classée comme variété sèche et commune (**Meunier, 1973 ; Anonyme, 2004**).

Les poids de la datte, de la pulpe et du noyau trouvés sont légèrement inférieurs avec ceux trouvés par **Acourene et Tama (1997) et Chibane (2008)** pour la même variété. Ces différences peuvent être attribuées à la forte influence des conditions climatiques et des zones géographiques de récolte sur les caractéristiques physiques de la datte.

La datte étudiée « *Degla-Beida* » présente une qualité physique acceptable conformément aux critères fixés par **Miligui et Sourial (1982) ; Mohammed et al. (1983) ; Acourene et al. (2001)** :

- Un poids supérieur ou égal à 6 g ;
- Un poids de la pulpe supérieur ou égal à 5 g ;

- Une longueur supérieure ou égale à 3.5 cm ;
- Un diamètre supérieur ou égal à 1.5 cm.

La teneur en pulpe qui constitue 80.29 % du poids de la datte entière *Degla-Beida* est en accord avec celle trouvée par **Acourene et Tama (1997)**, qui donnent une valeur de 80.78 % pour la même variété, et légèrement supérieure à celle trouvée par **Chibane et al. (2007)**, qui donnent une valeur de 79.15%.

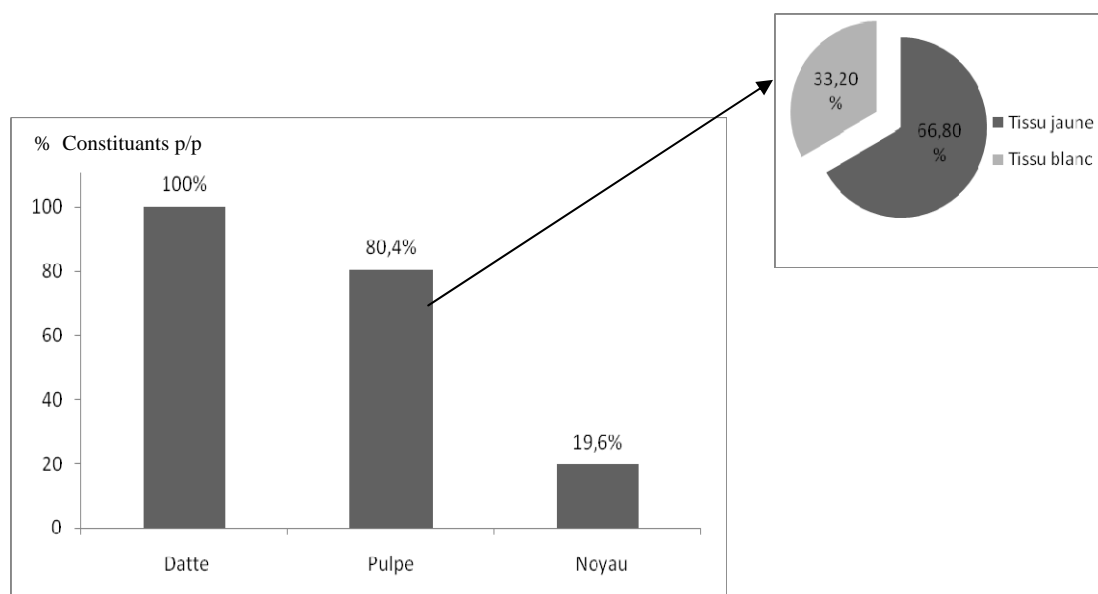
A titre comparatif, nous donnons ci-contre (Tableau IV-2) le pourcentage de la pulpe de quelques variétés de dattes sèches algériennes.

**Tableau IV-2:** Pourcentage en poids de la pulpe des différentes variétés de dattes sèches algériennes.

Variétés de dattes sèches	Pourcentage de la pulpe/poids de la datte
Horra	90.94 Acourene et Tama (1997)
Frezza	88.28 Chibane et al. (2007)
Mech-Degla	82.45 Acourene et Tama (1997)
kenta	80.80 Acourene et Tama (1997)
<b>Degla-Beida</b>	80.29 (Présente étude)

D'après ce tableau, on constate que la *Degla-Beida* présente le plus faible pourcentage de pulpe par rapport aux autres variétés de dattes sèche Algériennes.

Il nous semble intéressant de donner les proportions de la partie comestible (pulpe et ses deux tissus constitutifs) et du noyau de la datte *Degla-Beida* (Figure V- 1).



**Figure IV-1 :** Pourcentage de la pulpe, de ses deux tissus constitutifs et du noyau dans la datte entière.

La proportion en poids frais moyen des deux tissus dans une datte *Degla-Beida* est de 66.80 % pour le tissu jaune et 33.20 % pour le tissu blanc. Donc le tissu jaune est la partie qui prédomine dans la pulpe de la datte analysée. Ce résultat est contradictoire avec celui trouvé par **Noui (2007)** sur la *Mech-Degla* pour laquelle la proportion des deux tissus brun et blanc sont respectivement 42.16 % et 57.84 %. Nous estimons que le penchant des consommateurs pour *Degla-Beida* peut s'expliquer par sa plus grande richesse en tissus pigmenté. En effet,

celui-ci pourrait être plus riche en sucre (migration), en arômes et en polyphénols tandis que la section blanche est de nature fibreuse (**Meunier, 1973**).

La proportion du noyau constitue une caractéristique variétale : une donnée d'appréciation des qualités commerciales et un critère de sélection pour les prospecteurs (**Gilles, 2000**).

Le rapport Pulpe/Noyau de la datte étudiée est de 4.07. Ce rapport se trouve dans l'intervalle des valeurs trouvées par **Chibane et al. (2007)** et **Acourene et Tama (1997)** qui sont respectivement de 3.8 et 4.27 pour la même variété.

#### IV-1- 2- Caractérisation physicochimique et biochimique de la datte

Les résultats trouvés sont donnés dans le tableau IV-3.

**Tableau IV-3** : Caractéristiques physicochimiques de la pulpe de datte *Degla-Beida*.

Paramètres	Valeurs	Valeurs
	moyennes / 100g MF	moyennes / 100 g MS
Teneur en eau	14.55 ± 0.28	-
°Brix (%)	75.33 ± 1.04	88.16 ± 1.22
Teneur en sucres réducteurs	48.86 ± 0.55	57.18 ± 0.64
Teneur en protéines	2.13 ± 0.12	2.49 ± 0.14
Teneur en matière grasse	0.23 ± 0.02	0.27 ± 0.03
Taux de cendres (g)	2.18 ± 0.16	2.56 ± 0.19
Acidité titrable (g d'acide acétique)	0.43 ± 0.02	0.50 ± 0.03
pH	5.34 ± 0.06	5.34 ± 0.06
Activité antioxydante *	3,83 ± 0.15	4.49 ± 0.18
Teneur en polyphénols totaux (méthanol) **	4,96 ± 0.19	5.10 ± 0.22
Teneur en polyphénols totaux (éthanol) **	1,95 ± 0.04	2.29 ± 0.05
Teneur en polyphénols totaux (eau) **	1,55 ± 0.03	1.81 ± 0.03
Teneur en polyphénols totaux (méthanol) ***	5,68 ± 0.20	6.65 ± 0.23
Teneur en polyphénols totaux (éthanol) ***	2,38 ± 0.09	2.78 ± 0.11
Teneur en polyphénols totaux (eau) ***	1,76 ± 0.09	2.06 ± 0.10

\* mg/g EAA

\*\* mg/g EAG (temps d'extraction est de 24 heures)

\*\*\*mg/g EAG (temps d'extraction est de 7 jours)

##### IV-1- 2-1- Teneur en eau

La teneur en eau de la datte étudiée (14.55 %) est comparable à celle donnée (14.75 %) par **Acourene et Tama (1997)** pour la même variété. Mais elle est légèrement supérieure à celle donnée par **Chibane et al. (2007)** : 13.03 %. Cependant, en majorité les dattes à consistance sèche présentent des teneurs en eau au tour de 14-15%. **Acourene et Tama (1997)** donnent des teneurs de 15, 15 et 14.75% respectivement pour les variétés de dattes sèches algériennes *Mech-Degla, Horra et Kenta*. **Chibane et al. (2007)** donnent une teneur de 14.80 % pour la variété *Frezza*. De son côté, **Besbes et al. (2009)** trouvent des teneurs en eau de 3.24 et 16.82 % pour les variétés tunisiennes *Kentichi* et *Allig* respectivement.

La faible teneur en eau de la datte *Degla-Beida* protège le fruit contre le développement des microorganismes ce qui favorise sa longue conservation.

Toutefois il est primordial de souligner que le développement des insectes (vers) est redoutable car ils causent des dégâts considérables.

Taux d'infestation des dattes étudiée est de 1.5 % ce qui a imposé un triage avant traitement.

Il convient de noter que la teneur en eau est le facteur responsable de la consistance du fruit. Dans notre cas, le résultat trouvé confirme son classement en tant que variété sèche (**Acourene et al., 2002**).

#### IV-1- 2-2- Taux du solide soluble (TSS ou °Brix)

Les dattes utilisées ont un °Brix initial de 75.33 % (MF).

**Mohammed et al. (1983)** donnent des valeurs très variables (allant de 18 et 86 %) pour 50 cultivars Irakiens. **Khalil et al. (2002)** ont trouvé des teneurs de 81,34 et 58,20 pour les deux variétés *Siwi* et *Amhat* respectivement.

Ce résultat très élevé fait de la datte un fruit unique à notre connaissance. En effet la plupart des fruits présentent des taux ne dépassant pas les 30% : 6-10 % pour sept cultivars de fraises croatiennes (**Voca et al., 2008**), 22.7-27.2% pour les figues (**Polat et Caliskan, 2008**), 8% pour la mangue (**Jha et al., 2006**) et 18 % pour les bananes (**Carreño et al., 2003**).

#### IV-1- 2-3- Sucres réducteurs

Les sucres réducteurs représentent le constituant prédominant de cette variété avec une teneur de 57.18 % MS. Dans le tableau IV-4, sont données la teneur en sucres (totaux et réducteurs) de quelques variétés telles que rapportées par certains auteurs.

**Tableau IV-4 :** Teneur en sucres (totaux et réducteurs) de quelques variétés de dattes.

Variétés	sucres réducteurs % (MS)	Sucres totaux % (MS)
Deglet-Nour	17.73 ( <b>Chaira et al., 2007</b> ) 33.96 ( <b>Besbes et al., 2009</b> )	72.82 87.55
Allig	55.20 ( <b>Chaira et al., 2007</b> ) 75.68 ( <b>Besbes et al., 2009</b> )	60.29 86.65
Kentichi	19.96 ( <b>Besbes et al., 2009</b> )	78.30
Siwi	71.50 ( <b>Khalil et al., 2002</b> )	80.09
Amhat	69.50 ( <b>Khalil et al., 2002</b> )	76.86
Mech-Degla	45.00 (G+F) ( <b>Noui, 2007</b> )	74.80

Comme il apparait dans ce tableau, les sucres constituent la majorité de la fraction soluble dans les dattes. Les différentes variétés présentent des teneurs en sucres très variables et la proportion des sucres réducteurs diffère aussi d'une variété à une autre. Ces derniers constituent dans le cas particuliers de *Deglet-Nour* la proportion la plus faible (24-39% des sucres totaux). Pour ce qui est de la variété sèche *Mech-Degla*, ils constituent environ 60% de la teneur total en sucre, tandis qu'ils dépassent 85% dans les variétés *Allig*, *Amhat* et *Siwi*.

Selon **Mehaia et Cheryan (1991)**, le glucose et le fructose dans les dattes demi-sèches se présentent en proportions approximativement égales. **Noui (2007)** confirme ce résultat, ayant trouvé un rapport G/F de 1.1 pour la variété sèche *Mech-Degla*.

Les dattes constituent une bonne source d'énergie rapide en raison de leur teneur élevée en hydrates de carbone. La plupart de ces derniers sont sous forme de glucose et fructose,

lesquels sont facilement absorbés par le corps humain pendant la digestion, augmentant ainsi rapidement le taux de sucre dans le sang (Al-Farsi *et al.*, 2007).

#### IV-1- 2-4- pH

La datte *Degla-Beida* présente un pH légèrement acide de 5.34. Ce pH est préjudiciable aux bactéries mais approprié au développement de la flore fongique (Reynes *et al.*, 1994). Selon Acourene *et al.* (2002) une datte ayant un pH inférieur à 5.5 est de mauvaise qualité. Nous ne partageons cet avis puisque il nous semble plus juste de parler du rapport sucre/acide comme critère de sélection comme il est d'usage pour les autres espèces de fruits (Voca *et al.*, 2008).

Le pH de quelques variétés de dattes tunisiennes (*Deglet-Nour*, *Allig* et *Kentichi*) donnés par Besbes *et al.* (2009) se situe entre 5,63 et 5,79. Khalil *et al.* (2002) et Al-Hooti *et al.* (1997) donnent pour des variétés égyptiennes et émiratiennes des valeurs entre 5,3 et 6,8.

Les vitamines du groupe B sont contenues en quantités appréciables dans la datte (Benchelah et Maka, 2008) et en plus elles se conservent bien aux pH compris entre 5 et 6 (Bourgeois, 2003).

#### IV-1- 2-5- Acidité titrable

Une forte acidité est souvent associée à une mauvaise qualité. Comme il a été rapporté par Boouj *et al.* (1992), Le taux de l'acidité de la datte est proportionnel à la teneur en eau et donc inversement proportionnel au degré de maturité.

L'acidité titrable de la *Degla-Beida* est faible (de l'ordre de 4.3 g /Kg en MF). Cette valeur est comparable à celle trouvée par Acourene *et al.* (1997) qui est de 4.46 g/Kg (MF). Chibane (2007) donne une valeur plus faible de 2.93 g/Kg (exprimée en acide citrique). Dans les cas de deux variétés égyptiennes *Siwi* et *Amhat*, l'acidité titrable exprimée en acide citrique est respectivement de 1.8 et 2.2 g/Kg (MS) (Khalil *et al.*, 2002).

#### IV-1- 2-6- Taux de cendres

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon. La valeur trouvée pour *Degla-Beida* est de l'ordre 2.55 % (MS), très proche de la valeur trouvée par Acourene *et al.* (1997) qui est de 2.66 % (MS). Toutefois, cette variété renferme un taux de cendre nettement supérieur à ceux des autres variétés de dattes sèches étudiées par Acourene *et al.* (1997) : *Mech-Degla*, *Horra* et *Kenta* qui se caractérisent par une teneur de 1.3 % environ.

Besbes *et al.* (2009) et Ben Thabet *et al.* (2007) ont rapporté des valeurs de 1.2 et 2.69% pour quelques variétés tunisiennes. Al-Hooti *et al.* (1997) donnent des teneurs entre 1.6 et 2.0% pour certaines variétés émiratiennes.

#### IV-1- 2-7- Teneur en lipides

La composition des fruits en lipides ne dépasse pas 0.1–0.5% (MF) (Belitz *et al.*, 2009). Les dattes (pulpe) sont pauvres en lipides. La teneur de la variété étudiée (0.27 % MS) est en accord avec celles trouvées par Al Hooti *et al.* (1997) et Chaira *et al.* (2007) et qui sont estimées à 0.1 – 0.28 % MS. Contrairement à la partie comestible, le noyau présente des taux plus élevés : 8.86 % pour une variété Mauritanienne et 8.49 % pour une variété Irakienne

(Meunier, 1973). Chaira *et al.* (2007) donnent 10.1 et 12.7 % pour les noyaux des deux variétés tunisiennes *Deglet Nour* et *Allig* respectivement.

#### IV-1- 2-8- Teneur en protéines

La quantité de protéines contenue dans la datte *Degla-Beida* est faible, seulement 2.49 % (MS). Cette teneur est supérieure à celle trouvée par Khalil *et al.* (2002) pour les deux variétés égyptiennes *Siwi* et *Amhat* qui sont respectivement de l'ordre de 2.21 et 1.95 % (MS).

La teneur en protéines des dattes est faible et ne dépasse pas généralement les 3% (Al Hooti *et al.*, 1997 ; Khalil *et al.*, 2002; Besbes *et al.*, 2009 ).

#### IV-1- 2-9- Teneur en polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenus dans l'extrait de la datte.

L'analyse de la variance (ANOVA) est réalisée par le logiciel XLSTAT 2008 (période d'essai). Le test de Tukey permet une comparaison par paire des valeurs, avec un intervalle de confiance de 95% ( $P < 0,05$ ). Pour les mêmes lettres (A, B, C, D, E), la différence n'est pas significative.

Comme le montre la figure V-2 ; il paraît clairement que le méthanol est le solvant qui permet d'avoir un taux d'extraction le plus élevé quelque soit la durée d'extraction. Une journée d'extraction avec le méthanol permet d'aboutir à un taux de polyphénols qui est plus que le double de celui obtenu par les deux autres solvants.

De leurs cotés, Diallo *et al.* (2004) et Owen et Johns (1999) estiment que le rendement d'extraction par le méthanol dépasse celui obtenu par l'eau de 7 fois.

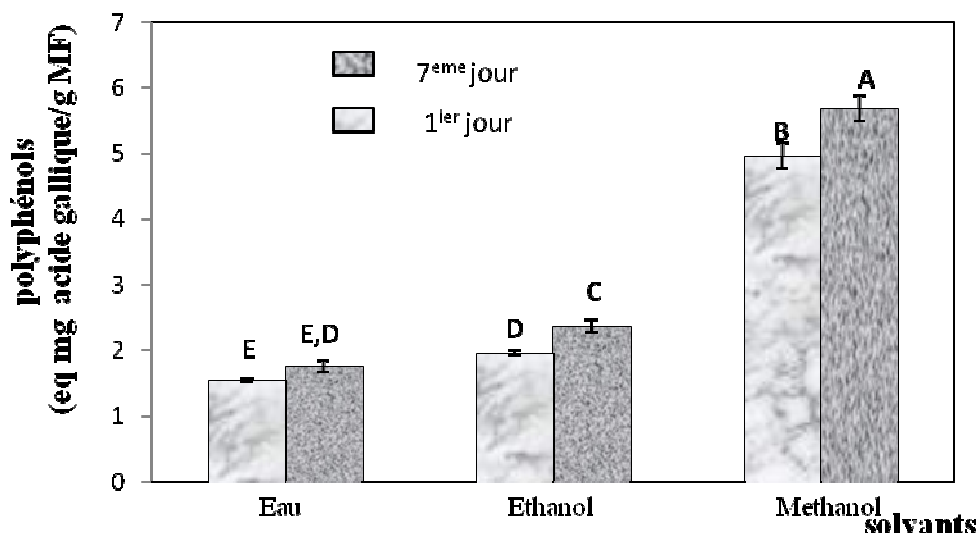


Figure IV- 2 : Teneur en polyphénols de la datte en fonction du type de solvants et de la durée d'extraction.

Il est bien connu que le taux d'extraction augmente avec le temps de contact (Lapornik, 2004). Dans le cas d'extraction avec l'eau, le temps n'a pas induit une différence significative dans les taux d'extraction obtenu.

La concentration moyenne en polyphénols de notre variété dans le cas d'utilisation du méthanol avec une durée d'extraction de sept jours (568 mg EAG/100g MF) est nettement supérieure à celles trouvées par **Mansouri et al. (2005)** sur des variétés algériennes (*Tazizaout*, *Ougherouss*, *Akerbouche*, *Tazerzait*, *Tafiziouine*, *Deglet-Nour*, *Tantbouchte*) qui varient entre 2 et 8 mg EAG/100 g MF mais reste en accord avec celles trouvées par **Besbes et al. (2009)** qui donnent des teneurs moyennes de 280.6, 431.5 et 681.5 mg EAG/100g MS pour les variétés Tunisiennes *Kentichi*, *Allig* et *Deglet-Nour* respectivement.

#### IV-1- 2-10- Pouvoir réducteur

La réduction de l'oxygène moléculaire conduit à la formation de radicaux libres réactifs, on cite particulièrement : l'anion super-oxyde ( $O^{\cdot-2}$ ), hydroxyle radicalaire ( $\cdot OH$ ) et le pyroxy radicalaire ( $ROO\cdot$ ), qui fragilisent la fluidité des membranes, la dénaturation des protéines, la peroxydation des lipides, la destruction de l'ADN. Ces derniers sont généralement à l'origine de maladies chroniques (cancers, inflammations, vieillissement,...) (**Biglari et al., 2008**).

Les industries agro-alimentaire et cosmétique tendent actuellement à rechercher des extraits végétaux ayant une activité antioxydante intéressante. Les extraits obtenus peuvent se substituer avantageusement aux différents antioxydants de synthèses (**Sakanaka et Ishihara, 2008**).

**Djouab (2007)** a trouvé des résultats positifs quant à l'utilisation dans une margarine allégée d'un extrait hydro-alcoolique obtenu à partir de la datte *Mech-Degla* comme un antioxygène à la place du BHA et BHT.

La datte *Degla-Beida* possède un potentiel antioxydant important (4.49 mg/g EAA MS) dû essentiellement aux polyphénols présents.

Au terme de cette première partie de l'étude, on peut dire que le cultivar *Degla-Beida* mérite une attention particulière en œuvrant à sa valorisation dont la finalité est la sauvegarde de l'espèce, la stimulation de sa culture avec son corollaire le développement socioéconomique.

**NB :** Les sous-produits de la datte (en particulier noyau) servent de bonne source des antioxydants et peut potentiellement être considéré comme aliment fonctionnel ou ingrédient fonctionnel dans les produits alimentaires (**Al-Farsi et al., 2007**).

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur la datte *Degla-Beida* sont représentés dans le tableau V-5.

**Tableau V-5 :** Caractérisation microbiologique de la datte étudiée.

Microorganismes	UFC/g	Norme (UFC /g)
Levures	$4 \cdot 10^2$	$10^3$ *
Moisissures	$9 \cdot 10^3$	$10^4$ *
Flore aérobie mésophile totale (FAMT)	90	$10^3$ **
Bactéries acétiques	$8 \cdot 10^2$	-

\*: l'arrêté de juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (journal officiel).

\*\* : NA 1207/9 (Norme Algérienne).

A notre connaissance, aucune intoxication alimentaire n'est à l'origine de la consommation des dattes. C'est la raison pour laquelle la recherche des germes pathogènes pour approuver la qualité sanitaire n'est pas nécessaire (**Hamad et al., 1983**).

Comme le montre le tableau V-5, les taux de levures, moisissure et FAMT sont au dessous du seuil maximal d'acceptabilité préconisé par les normes algériennes. De ce fait, on peut dire que la qualité microbiologique de la variété *Degla-Beida* est satisfaisante.

La présence naturelle des bactéries acétiques dans les dattes prédétermine le processus traditionnel d'obtention du vinaigre (**Ouled El Hadj et al., 2001**). De ces résultats, nous nous inspirons pour reproduire à l'échelle du laboratoire la procédure traditionnelle d'obtention du vinaigre tel qu'appliquée dans la région M'Zab en utilisant comme matière première la variété *Degla-Beida*.

## IV-2- Analyse du processus traditionnel de production du vinaigre

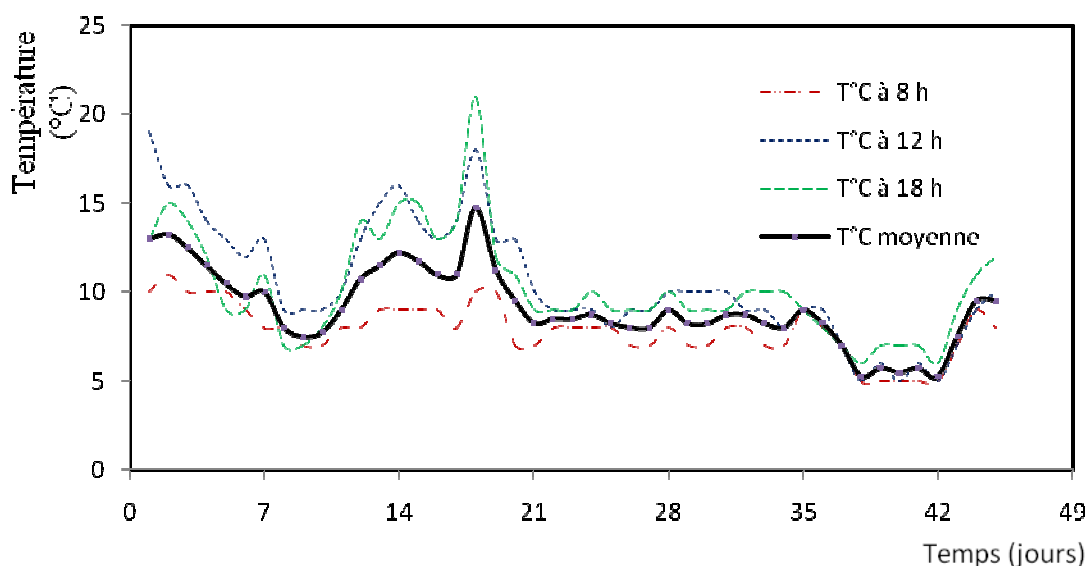
Dans cette partie, nous avons essayé de produire un vinaigre biologique à partir d'une variété sèche disponible et abondante « *Degla-Beida* » par la méthode traditionnelle appliquée dans la région M'Zab du sud algérien.

### V-2-1- Fermentation à la température ambiante

La date du lancement de la fermentation à la température ambiante est le 8 novembre 2008.

#### V-2-1-1- Suivi de la température au cours de fermentation

Vu l'instabilité de la température, il nous est paru nécessaire de suivre la variation de la température au cours de la fermentation. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure V-3.



**Figure IV-3 :** Evolution de la température au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de variété *Degla-Beida*.

Les fluctuations de la température au cours du déroulement de la fermentation spontanée des dattes sont généralement faibles mais la température moyenne (sur toute la durée) est

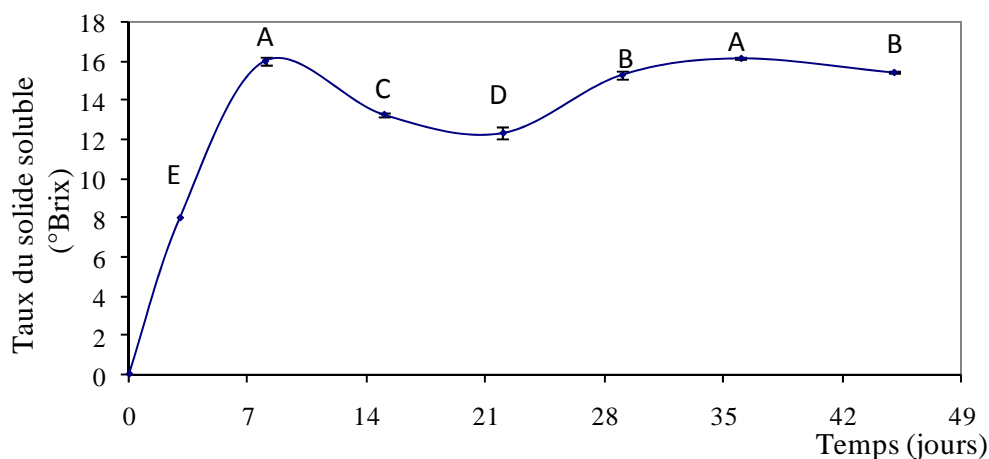


basse : elle est de l'ordre de  $9.15 \pm 2.18$  °C. Toutefois, la température maximale (15 °C) est enregistrée le 18<sup>ème</sup> jour, et la plus faible est de l'ordre de 5.25 (42<sup>ème</sup> jour).

Cette assez basse température couplée aux fluctuations devrait avoir certainement un effet sur le déroulement du processus fermentaire.

### V-2-1-2- Evolution du °Brix

La variation du °Brix au cours de la fermentation est représentée dans la figure V-4.



**Figure IV- 4 :** Evolution du °Brix au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de variété *Degla-Beida*.

Il convient de rappeler que les sucres constituent la fraction majoritaire des matières solubles présente initialement. Au cours de la fermentation, l'alcool contribue progressivement à l'expression du °Brix (voir section IV-5-2).

On peut subdiviser cette courbe en 4 phases :

**1<sup>ère</sup> phase :** 1<sup>ier</sup> au 8<sup>ème</sup> jour :

La diffusion des sucres des dattes vers le milieu extérieur (mout) est lente, ce qui se traduit en une forte variation du °Brix qui atteint 16°Brix le 8<sup>ème</sup> jour (la vitesse de diffusion pendant cette période est d'environ 2°Brix/jour).

Une faible vitesse de diffusion facilite aux micro-organismes (levures) de s'adapter au changement de la concentration du milieu. Au contraire, les moisissures présentent des capacités d'adaptation plus prononcée aux grandes variations de la concentration du milieu extérieur (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

**2<sup>ème</sup> phase :** 8<sup>ème</sup> au 21<sup>ème</sup> jour :

On remarque une diminution du °Brix indiquant en fin de compte une activité métabolique considérable (en se référant à l'évolution du taux d'alcool produit : voir figure V-7). Dans cette phase la vitesse de diffusion des sucres est plus faible à celle de consommation.

**3<sup>ème</sup> phase :** 21<sup>ème</sup> au 32<sup>ème</sup> jour :

Il y'a ici une diminution de la consommation des sucres sous l'effet inhibiteur du taux d'alcool et du CO<sub>2</sub> : comme résultante le °Brix global augmente.

#### 4<sup>ème</sup> phase : à partir du 32<sup>ème</sup> jour :

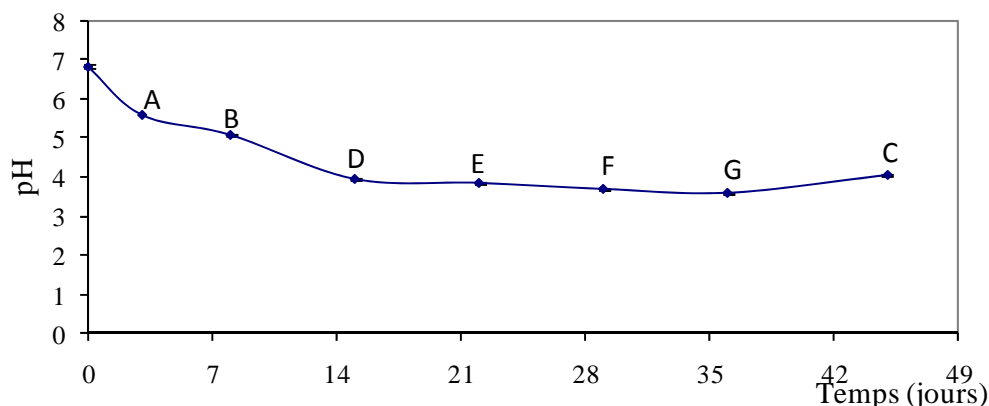
Le °Brix est relativement stable ce qui peut être expliqué par une faible consommation des sucres par les microorganismes présents (levures en particulier) accompagnée d'une compensation par diffusion (sucres).

Malgré la disponibilité des sucres, la fermentation ne permet pas d'atteindre des taux plus élevés d'alcool ce qui est le résultat de plusieurs paramètres :

- Les caractéristiques de la flore indigène
- Le CO<sub>2</sub> dissous
- La teneur en alcool
- La température
- La Pression osmotique
- D'autres facteurs limitants ...

#### V-2-1-3- Evolution du pH

La variation du pH au cours de la fermentation est illustrée par la courbe de la figure V-5.



**Figure IV-5 :** Evolution du pH au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de variété *Degla-Beida*.

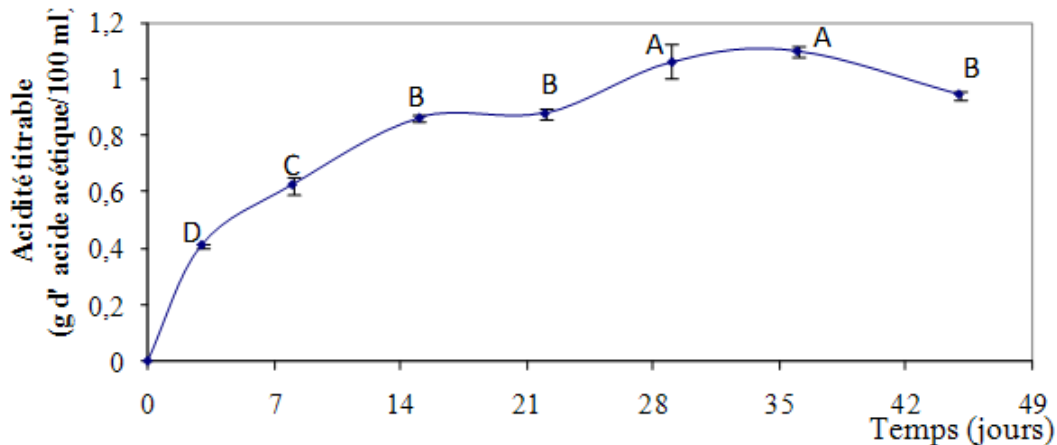
Remarquons le pH du mélange réactionnel initial qui est de 6.8, valeur relativement élevée par rapport au pH optimum de croissance des levures : 3.5 - 5 (**Schmid, 2005**).

Tel qu'illustré sur la courbe ci-dessus, le pH du moût diminue au cours de la fermentation pour atteindre une valeur de 3.6 le 14<sup>ème</sup> jour puis se stabilise autour de cette valeur tout au long de ce procédé. Cet abaissement du pH est dû dans un premier temps à la diffusion des acides contenus dans la dattes, puis aux acides métabolisés par les différents microorganismes (levures principalement...) présents dans le moût. Aussi, une partie du dioxyde de carbone produit se dissout dans le moût et contribue aussi à l'abaissement du pH. **Akin (2008)** a exploité la diminution du pH comme moyen pour suivre l'évolution de la fermentation.

Concernant la dernière valeur du pH qui paraît assez élevée, elle est en fait due à la volatilisation des acides suite à l'excessive aération. Cette dernière étant provoquée volontairement dans le but (malheureusement contrarié) d'intensifier l'acétification.

#### V-2-1-4- Evolution de l'acidité titrable

La variation de l'acidité titrable au cours de la fermentation est donnée dans la figure V-6.



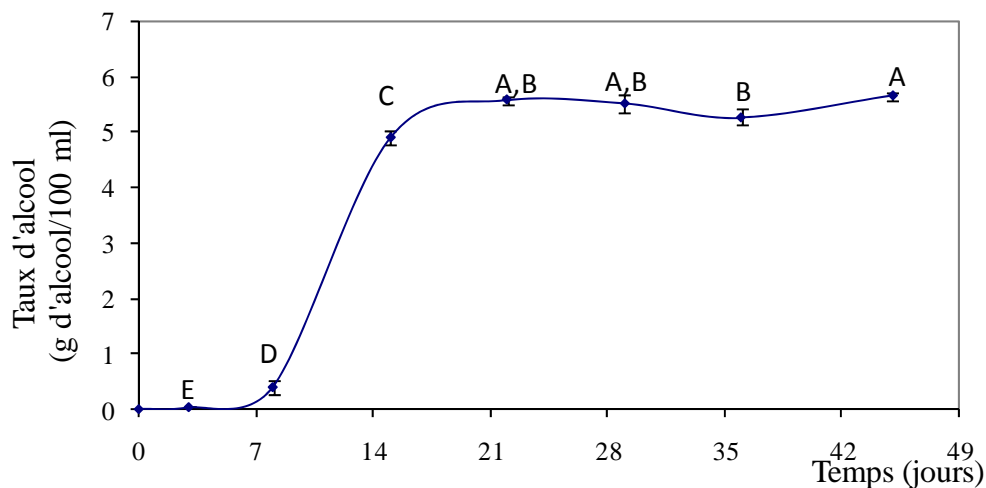
**Figure V-6 :** Evolution de l'acidité titrable au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de variété *Degla-Beida*.

On remarque une nette concordance entre l'évolution de l'acidité titrable et celle du pH.

Les conditions d'acétification sont défavorables sous l'effet de la basse température, les bactéries acétiques requérant une température généralement plus de 20°C. D'autre part, le CO<sub>2</sub> qui est un gaz lourd occupe le volume vide de la bouteille ce qui crée une atmosphère pauvre en oxygène. Il s'ensuit une asphyxie des bactéries acétiques qui sont des aérobies stricts.

#### V-2-1-5- Evolution du taux d'alcool

La variation du taux d'alcool au cours de la fermentation est représentée dans la figure V-7.



**Figure V-7 :** Evolution du taux d'alcool au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de la variété *Degla-Beida* à température ambiante.

On remarque aisément une concordance dans l'allure générale de la courbe obtenue avec celles d'acidité titrable, du pH et surtout du °Brix. De plus la forme de la courbe reste conforme à celle décrivant la cinétique des processus fermentaires (on retrouve pratiquement les principales phases).

La fermentation se déroule en milieu non renouvelé. L'éthanol forme le métabolite essentiel des levures (Schmid, 2005).

D'après les résultats figurant sur la courbe, on peut subdiviser cette dernière en trois phases distinctes :

**1<sup>ère</sup> Phase:** 1<sup>ier</sup> jour au 7<sup>ème</sup> jour :

On constate que la production d'alcool pendant cette période est pratiquement nulle, ce qui peut être expliqué par :

- la faible charge initiale de levures ( $4.10^2$ ) ;
- la basse température qui a plusieurs implications : réduction de la croissance des levures et de leurs métabolismes ;
- les caractéristiques spécifiques de la flore indigène de la datte ;
- Le pH initial (6.8) loin de l'optimum (4-5).

Ces facteurs déterminent la durée assez longue de cette phase.

Cette phase correspond à la phase d'adaptation des levures avec son nouveau milieu.

**2<sup>ème</sup> Phase :** 7<sup>ème</sup> jour au 16<sup>ème</sup> jour

L'activité métabolique des levures atteint son maximum.

La vitesse de production d'alcool correspondant à cette phase est calculée par la formule suivante :

$$V_{\text{alcool}} = \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1}$$

où  $A_1$  et  $A_2$  sont les taux d'alcool enregistrés aux instants  $t_1$  et  $t_2$  respectivement.

Ce qui donne une production de 0.64 g/100 ml d'alcool par jour. A l'évidence cette vitesse de formation d'alcool reste très faible. Selon les résultats obtenus par **Mehaia et Cheryan (1991)** étudiant la fermentation alcoolique d'un jus de datte à 10°Brix dans un bioréacteur avec l'emploi d'un inoculum pur, la vitesse maximale de synthèse d'alcool atteinte est d'environ 14.4 g/100 ml et par jour, soit plus de 20 fois notre résultat.

**3<sup>ème</sup> Phase :** à partir du 16<sup>ème</sup> jour :

Le taux d'alcool reste pratiquement inchangé pendant toute cette durée.

Cette stagnation peut être expliquée par l'effet inhibiteur exercé par l'alcool sur les levures (auto inhibition) d'une part et par l'effet toxique du CO<sub>2</sub> dissout d'autre part (la température basse et l'absence d'agitation favorisent la dissolution du CO<sub>2</sub>).

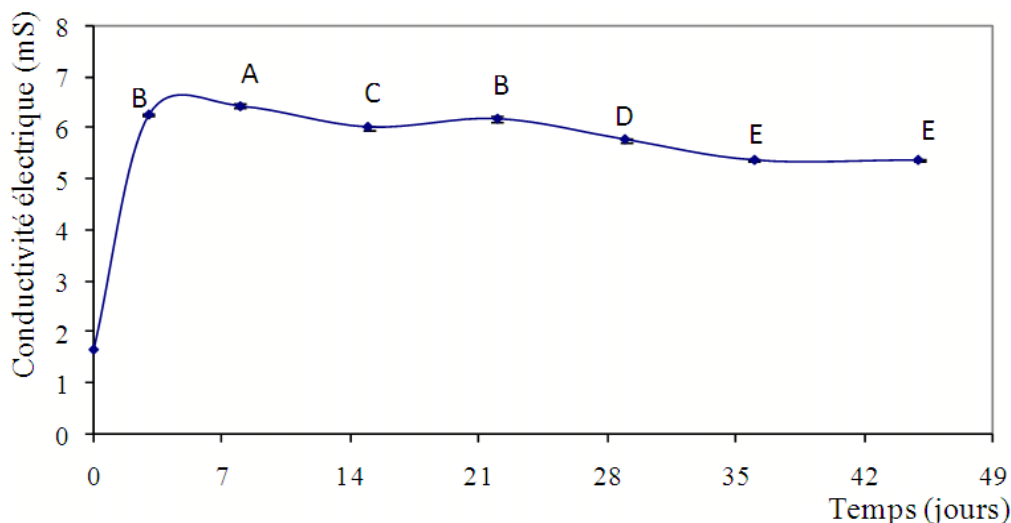
#### V-2-1-6- Evolution de la conductivité électrique

La courbe donnant la variation de la conductivité électrique au cours de la fermentation est donnée dans la figure IV-8.

La diffusion des sels minéraux dattes → eau se traduit par une élévation de la conductivité électrique. Celle-ci acquiert une valeur maximale 6.45 mS le 5<sup>ème</sup> jour, soit une salinité de 2.8 g/l; puis une légère diminution de cette conductivité jusqu'à la fin de la fermentation. Cette étape d'abaissement est si uniforme (contrairement aux autres indices) que nous jugeons utile de modéliser par l'expression mathématique suivante :

$$CE = - 0.03t + 6.644 \text{ avec } R^2 = 0.875$$

Comme on le voit, la vitesse de diffusion des électrolytes durant la première phase est 50 fois supérieure que la vitesse « apparente » d'abaissement : en effet, il convient de prendre en considération l'effet des interactions électrostatiques dont le milieu considéré est le siège. A cela s'ajoute les processus métaboliques.

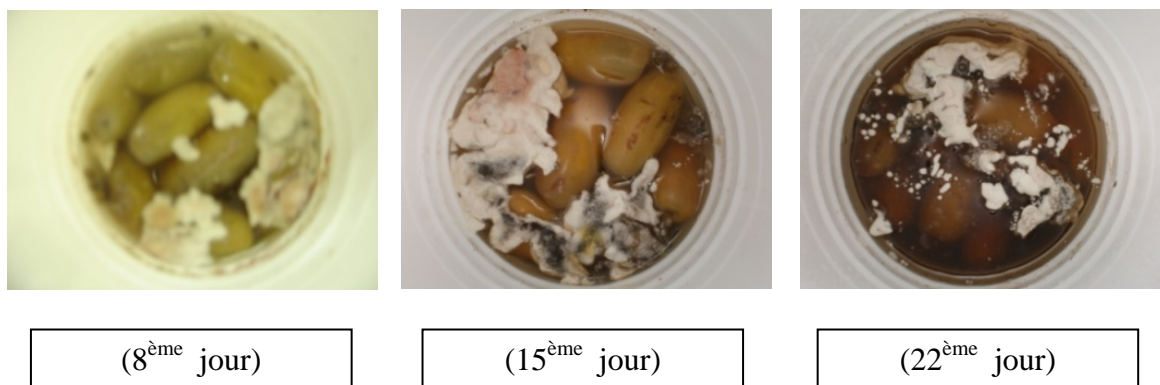


**Figure IV-8:** Evolution de la conductivité électrique au cours de la fermentation traditionnelle des dattes de variété *Degla-Beida*.

### V-2-2- Fermentation à la température 30 °C

L'information la plus importante à tirer de cette expérience est l'envahissement du milieu réactionnel par des moisissures qui a commencé à partir du troisième jour déjà pour recouvrir ensuite une grande partie de la surface du milieu le 7<sup>ème</sup> jour (Figure IV-9).

En dépit de cet inconvénient majeur, nous avons, par curiosité scientifique, procédé au suivi de l'évolution de quelques paramètres physicochimique du milieu réactionnel pendant 21 jours (voir tableau IV- 6).



**Figure IV-9:** Quelques photos sur le développement des moisissures au cours de la fermentation à 30 °C

**Tableau IV- 6 :** Evaluation de quelques paramètres physicochimique au cours de la fermentation traditionnel des dattes *Degla-Beida* à 30°C.

Paramètres	8 <sup>ème</sup> jour	15 <sup>ème</sup> jour	21 <sup>ème</sup> jour
TSS (°Brix)	16.57 ± 0.06	11.52 ± 0.03	17.8 ± 0.26
Taux d'alcool (°Al)	2.34 ± 0.11	3.34 ± 0.04	4.87 ± 0.4
Acidité titrable (°Ac)	0.96 ± 0.01	1.16 ± 0.02	1.11 ± 0.04
pH	3.84 ± 0.01	3.5 ± 0.025	3.65 ± 0.025
Conductivité électrique (mS)	6.13 ± 0.05	6.35 ± 0.07	6.12 ± 0.08

La qualité microbiologique initiale des dattes est un facteur très important. Il convient de rappeler que les dattes utilisées dans cette présente étude sont fraîches et elles sont utilisées dès leur acquisition.

Rappelons que les moisissures possèdent d'extraordinaires possibilités d'adaptations, ce qui leur permet d'exploiter rapidement toute mutation favorable à la survie de l'espèce dans des conditions difficiles (**Bourgeois et Larpent, 1996**). Dotés de puissants et complexes systèmes enzymatiques, les denrées alimentaires altérées par les moisissures subissent d'irréremédiables détériorations. Et ce qui est redoutable le plus, c'est la présence des mycotoxines responsables potentielles des intoxications..... (**Schmid, 2005**), certaines espèces en raison de leurs toxicogénèse méritent une attention particulière (**Leveau et al., 2008**).

Dès que le milieu se stabilise et que le niveau d'alcool formé atteint un seuil critique, la surface contaminée par les moisissures est atténuée. A notre avis l'effet combiné de l'alcool et du CO<sub>2</sub> peut en être une explication possible.

Le taux d'acidité titrable très faible démontre une absence quasi totale d'acétification.

### V-2-3- Caractérisation physicochimique du produit obtenu au laboratoire (température ambiante) et du vinaigre provenant de la région M'Zab

Les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux IV- 7 et IV- 8.

**Tableau IV- 7 :** Caractérisation physicochimique du produit de la double fermentation spontanée de la datte *Degla- Beida* (température ambiante).

Paramètres	Valeurs moyennes /100 ml
TSS (°Brix)	15.43 ± 0.06
Taux d'alcool (g)	5.63 ± 0.08
Résidu sec insoluble	Négligeable
Acidité titrable (°Aac)	0.94 ± 0.01
pH	4.05 ± 0.01
Taux de cendres (g)	0.567 ± 0.003
Conductivité électrique (mS)	5.38 ± 0.03
Taux de salinité (g)	0.23
Teneur en sucres réducteurs	6.37 ± 0.14
Activité antioxydante	ND
Teneur en polyphénols totaux (g EAG)	0.197 ± 0.01

**Tableau IV-8** : Caractérisation physicochimique de vinaigre de dattes provenant de la région de M'Zab (Automne 2008).

Paramètres	Valeurs moyennes /100 ml
Teneur en eau (ml)	80.45 ± 0.29
TSS (°Brix)	16.37 ± 0.06
Matière sèche non volatile (g)	13.20 ± 0.32
Taux d'alcool (g)	3.82 ± 0.05
Acidité titrable (°A acétique)	2.48 ± 0.02
Acidité volatile (°A acétique)	1.57 ± 0.076
Acidité fixe (° A citrique)	1.07 ± 0.046
pH	3.32 ± 0.005
Teneur en solide non soluble (g)	0.173 ± 0.059
Taux de cendres (g)	0.685 ± 0.002
Conductivité électrique (mS)	6.06 ± 0.015
Taux de salinité (g)	0.26 ± 0.006
Teneur en sucres réducteurs (g)	6.81 ± 0.14
Activité antioxydante	0.68 ± 0.01
Teneur en polyphénols totaux	0.297 ± 0.06

Au vu des tableaux, il est aisé de remarquer le taux élevé d'alcool se situant à 38.2 g/l pour l'échantillon de vinaigre d'origine M'Zab et 56.3 g/l pour celui obtenu laboratoire. Ces valeurs sont comparables à celle d'une Bière : 3.8 à 4.4 g/100g (**Larpen, 1990 ; Bourgeois et Larpen, 1996**).

D'après **Ould El Hadj et al. (2001)**, les teneurs en alcool obtenus pour les vinaigres des dattes *Hchef de Deglet-Nour, Harchaya et Hamraya* sont respectivement de l'ordre de 36.1, 37.5 et 49 g/l.

Il convient de rappeler que le taux d'alcool résiduel dans un vinaigre ne devant pas dépasser 0.5% (Codex Alimentarius).

Quant à l'acétification, les teneurs en acide acétique sont très loin des valeurs préconisées pour les vinaigres par le Codex Alimentarius (au minimum de 5% d'acide acétique). Il s'ensuit que le « vinaigre traditionnel » provenant de la région M'Zab ne répond pas aux caractéristiques du produit de ce type.

En faite, la double fermentation traditionnelle telle que conduite au sud algérien nous paraît anarchique. Une multitude de flore incontrôlable peut y trouver son milieu de prédilection au demeurant très instable. Il est donc difficile de dire a priori quel type de métabolite est susceptible d'être trouver dans le produit fini.

L'acide acétique, faut il rappeler, peut avoir une triple origine :

- provenir de l'oxydation de l'éthanol par les acétobacters (voie principale);
- du métabolisme des bactéries lactiques (métabolite secondaire) ;
- un produit secondaire formé par les levures au cours de la fermentation (métabolite secondaire).

D'après **Ould El Hadj et al. (2001)** la qualité hygiénique du produit élaboré est exempte de tout germe pathogène.

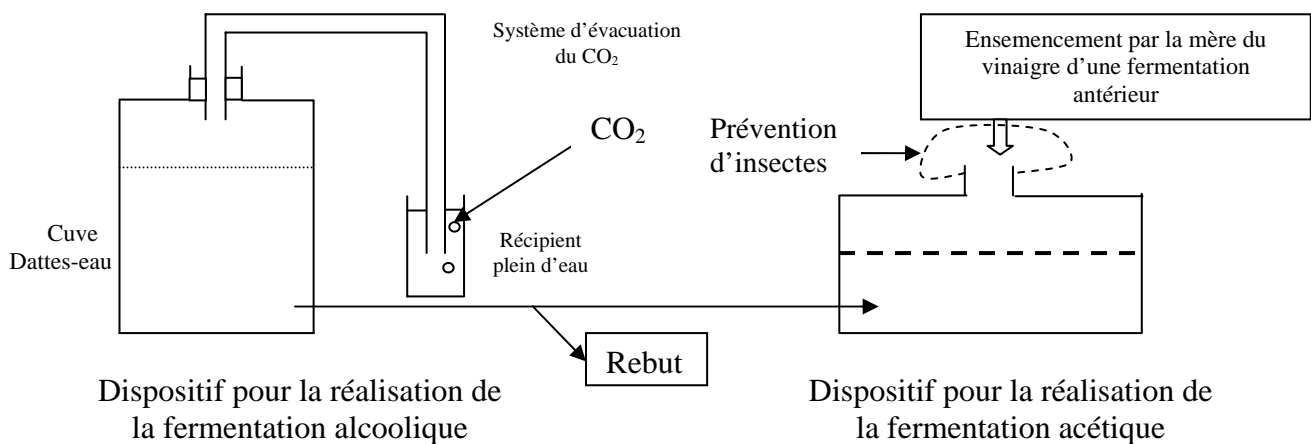
Comme présenté sur le tableau IV-8, le pH ne permet pas le développement que des bactéries ayant une tolérance au pH acide. De ce fait, ce n'est pas la qualité microbiologique qui pose problème mais c'est les sécrétions issus du développement des différents microorganismes initialement présents.

Comme résumé à cette analyse de la fermentation spontanée des dattes *Degla-Beida*, on peut dire que la production du vinaigre à partir de cette variété à la température ambiante, pendant l'hiver au nord algérien est défavorable. Plus, à 30 °C, les résultats ne sont pas aussi plus concluants ce qui est en contradiction avec les affirmations d'autres auteurs (**Ouled El-Hadj *et al.*, 2001; Djilali Benahmed, 2007**).

#### IV-2-4- Proposition d'amélioration du processus de fabrication du vinaigre traditionnel

La réalisation d'une double fermentation spontanée (alcoolique et acétique simultanément) s'avère entachée de plusieurs risques parmi lesquels le développement des moisissures constitue un danger potentiel qui peuvent nuire à la santé du consommateur.

Afin de minimiser les accidents de fabrication, nous proposons le schéma de production suivant (Figure IV-10).



**Figure IV-10 :** Conception d'un schéma de production traditionnelle du vinaigre.

L'arrêt de sortie des bulles de gaz ( $\text{CO}_2$ ) peut être considéré comme un indicateur de la fin de la fermentation alcoolique. Au terme de cette première étape, le mout est transvasé dans un autre récipient présentant un rapport Largeur/Hauteur élevé est recommandé. L'usage de la mère du vinaigre des fermentations antérieures accélère le processus.



### IV-3- Essai d'obtention du vinaigre à partir d'une double fermentation provoquée d'un jus de dattes de la variété « *Degla-Beida* »

#### IV-3-1- Extraction du jus de dattes

##### IV-3-1-1- Modélisation de l'extraction du jus de dattes

###### A- Modélisation de l'évolution du °Brix (TSS) au cours du processus d'extraction

Les dattes utilisées ont un °Brix initial de 75.33 (MF). Cette matière première nous paraît idéale pour l'élaboration de divers produits : jus, sirop, poudre...

L'extraction du jus de dattes constitue le premier processus de plusieurs industries pouvant utiliser le jus comme étant matière première :

- Coupage avec d'autres jus ;
- Comme substrat pour la production de biomasse ;
- Comme substrat pour fabriquer du vinaigre, sirop ...

Connaitre l'impact des différents facteurs sur le processus d'extraction et sur le jus obtenu est crucial dans l'optimisation de ce processus.

###### ❖ Matrice des expériences et test d'homogénéité (test de Cochran)

La matrice d'expériences est donnée dans le tableau IV-9.

**Tableau IV-9 :** Matrice des expériences pour l'extraction du jus de dattes *Degla-Beida* (°Brix).

N° exp	Ordre	M	T	t	D	°Brix <sub>1</sub>	°Brix <sub>2</sub>	°Brix <sub>3</sub>	°Brix <sub>moyen</sub>	$\sigma^2$
1	6	+	-	-	-	2.4	2.5	2.4	<b>2.43</b>	0.0033
2	3	+	+	-	-	3.5	3.5	3.6	<b>3.53</b>	0.0033
3	5	+	-	+	-	5.4	5.2	5.5	<b>5.37</b>	0.0233
4	4	+	+	+	-	8.7	8.8	8.7	<b>8.73</b>	0.0033
5	8	+	-	-	+	5.6	5.9	6.0	<b>5.83</b>	<b>0.0433</b>
6	2	+	+	-	+	8.8	8.8	9.0	<b>8.87</b>	0.0133
7	7	+	-	+	+	11.0	11.1	11.05	<b>11.05</b>	0.0025
8	1	+	+	+	+	13.0	13.0	13.03	<b>13.03</b>	0.0033
$\Sigma$									<b>58.85</b>	<b>0.0958</b>
<b>Paramètres</b>			<b>T</b>	<b>t</b>	<b>D</b>					
<b>Niveaux</b>										
Niveau bas (-)			<b>40</b>	<b>20</b>	<b>2</b>					
Niveau haut (+)			<b>80</b>	<b>100</b>	<b>5</b>					

M : moyenne ,  $\sigma^2$  : Variance,

Pour toutes les modélisations que nous effectuons, la colonne M permet le calcul de la constante des modèles  $b_0$ .

Pour pouvoir juger de l'homogénéité des variances, de la signification des paramètres des modèles, et de leur validité nous avons procédé aux tests suivants : test de Cochran, test de Student et le test de Fisher.

Dans le but de confirmer la validité des modèles obtenus, le critère du coefficient de détermination ( $R^2$ ) est utilisé. Aussi, une expérience (répété trois fois) au centre du domaine est réalisée ce qui permet le calcul de l'erreur expérimentale  $S$  et l'erreur relative moyenne **MRE**.

Lorsque le coefficient de détermination  $R^2$  est élevé, la régression est bonne (**Arslan et Musa Ozcan, 2007**) ; quant à  $S$  et **MRE** la régression est meilleure pour les valeurs les plus faibles.

Après avoir calculé les variances, le test de Cochran donne une valeur calculée  $C_c=0.4521 < C_t (\nu=m-1=2, \alpha = 0.05, N=8) = 0.516$ , donc les variances sont homogènes et l'expérience est reproductible.

#### ❖ Calcul et test de signification des coefficients de régression

Les valeurs des paramètres du modèle et des coefficients de Student correspondant sont données dans le tableau V-10.

**Tableau IV-10** : Les paramètres du modèle (°Brix) et leurs critères de Student calculés.

paramètres	$t_c$	paramètres	$t_c$
$b_0= 7,356$	-	$b_{12}= 0.152$	6.81
$b_1= 1,185$	53.06	$b_{13}= 0.069$	3.08
$b_2= 2,1896$	98.01	$b_{23}= 0.156$	7.00
$b_3= 2,3396$	104.72	$b_{123}= -0.4146$	18.56

Les paramètres sont jugés significatifs si  $t_c > t_t (\alpha=0.025, \nu=N(m-1)=16)=2.120$ .

Pour toutes les modélisations effectuées, le terme  $b_0$  représente la moyenne des réponses de toutes les expériences du plan (c'est la constante du modèle).

Les paramètres  $b_1, b_2, b_3$ , sont les effets moyens de la température, du temps et de la dimension respectivement. Les autres paramètres représentent les effets d'ordre 2 et d'ordre 3.

Tous les effets des facteurs ainsi calculés sont significatifs et le modèle peut donc s'écrire :

$$^{\circ}Brix(\%) = 7.356 + 1.185T + 2.19t + 2.34D + 0.152Tt + 0.069TD + 0.156tD - 0.4146TtD$$

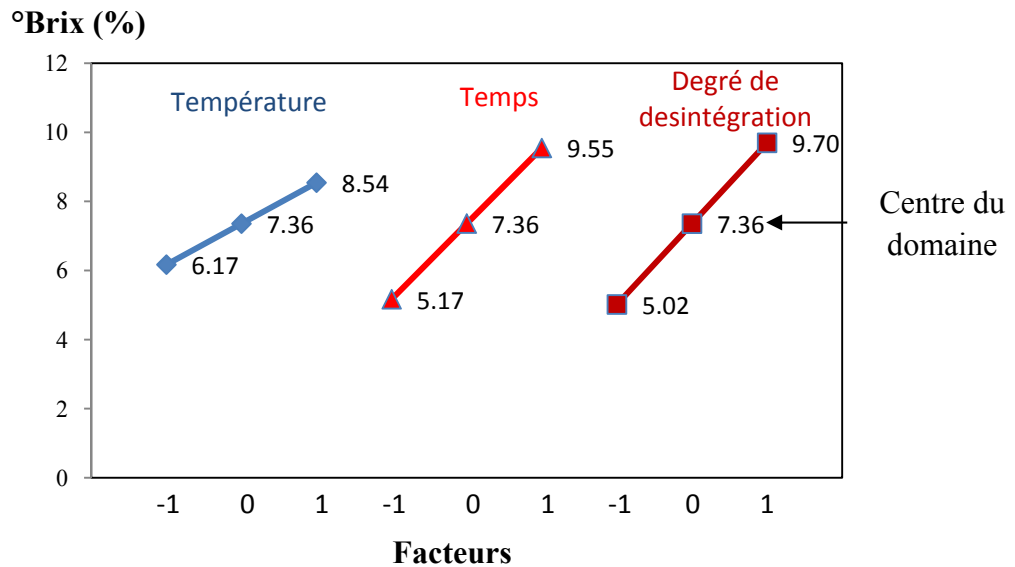
L'effet moyen du degré de désintégration est de **2.34**. C'est la valeur la plus élevée, donc c'est le facteur le plus influent. Il est suivi de l'effet du temps (**2.19**) tandis que la température s'avère le facteur le moins influent avec un effet moyen de **1.18**.

Ces résultats peuvent être expliqués par l'impact direct du découpage sur l'augmentation de la surface de contact (favorisant le phénomène de diffusion) et sur la destruction des cellules (ce qui facilite la libération des sucres et des matières solubles). En effet, dans l'industrie des jus, le but principal des traitements préalables (broyage, préchauffage...) est l'endommagement des cellules de sorte à améliorer leur perméabilité c'est-à-dire l'extraction du jus cellulaire.

Les effets des interactions sont faibles, ce qui révèle une faible complexité du système de diffusion des matières solubles.

### ❖ Représentation graphique des effets principaux

Afin de faciliter les comparaisons entre les effets des différents paramètres, nous avons rassemblé l'impact de tous les effets principaux sur la variable réponse « °Brix » sur la même figure IV-11.

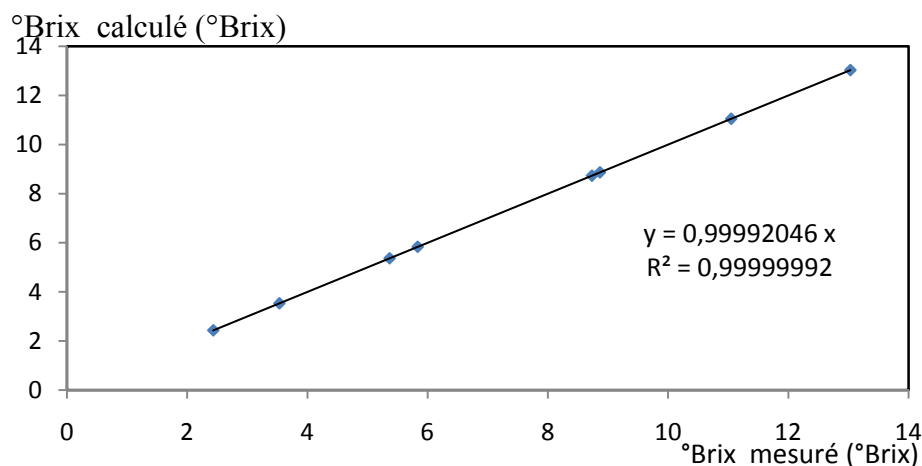


**Figure IV-11** : Représentation graphique des effets de la température, du temps et du degré de désintégration sur l'évolution du °Brix.

La figure montre clairement, par comparaison à la variable T, l'intensité de variation du °Brix par suite du passage du niveau bas au niveau haut des facteurs D et t quand on passe du centre du domaine expérimental (valeur moyenne du rendement 7.36) à la moyenne des rendements des niveaux hauts : 2.34 et 2.19 respectivement soit presque le double de la valeur obtenue avec la température.

### ❖ Test sur la validité du modèle (test de Fisher)

Le critère de Fisher calculé  $F_c = 359.404 > F_t (\nu_1 = N - Z_s = 1, \nu_2 = N(m-1) = 16) = 4.49$ , donc le modèle n'est pas adéquat. Toutefois, la corrélation entre les valeurs expérimentales et calculées du °Brix s'avère très satisfaisante ( $R^2 = 0.999$ ) (Figure IV-12).



**Figure IV-12:** Représentation graphique des valeurs prédites en fonction des valeurs mesurées (°Brix).

A notre avis, cette discordance entre les deux critères de validations testés ne peut être attribuée qu'aux conditions d'applicabilité de test de Fisher. Pour trancher sur la question, il nous a paru utile de recourir à un test supplémentaire de confirmation au centre du domaine expérimentale (tripliqué) tel que suggéré par **Goupy (2001)** avec en plus le calcul de la statistique MRE. Les résultats donnés dans le tableau IV-11 confirment irréfutablement la validité du modèle avec une insignifiante erreur expérimentale  $S=0.19$  et une très faible valeur de  $MRE = 2 \%$ . Rappelons qu'un modèle adéquat doit minimiser  $S$  et  $MRE$ .

❖ **Calcul de l'erreur expérimentale  $S$  et l'erreur relative moyenne  $MRE$  au centre du domaine**

En effet, La moyenne des réponses correspond réellement à la réponse lorsque tous les facteurs sont au niveau zéro (centre du domaine), c'est-à-dire la valeur de la réponse au centre du domaine expérimental. Tout en sachant que le point central est le plus sensible aux fluctuations.

Le tableau IV-11 récapitule les résultats trouvés.

**Tableau IV-11:** Expérience au centre du domaine expérimental (°Brix).

N° exp	Ordre	T	t	D	Brix <sub>1</sub>	Brix <sub>2</sub>	Brix <sub>3</sub>	Brix mesuré moy	Brix calculé	S	MRE
9	9	0	0	0.054 ( $D \approx 2^{3,5}$ )	7.6	7.65	7.5	<b>7.58</b>	<b>7.48</b>	<b>0.19</b>	<b>2.02 %</b>

**B- Modélisation de l'évolution de la couleur (IB) au cours du processus d'extraction**

Il est bien connu que le premier critère de qualité d'un produit alimentaire est sa couleur. Dans notre cas la couleur du fruit varie du jaune claire au brun. Il nous a paru logique d'exprimer l'intensité de la couleur par la mesure de l'indice de brun.

### ❖ Matrice des expériences et test d'homogénéité (test de Cochran)

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau IV-12.

**Tableau IV-12** : Matrice des expériences pour l'extraction du jus des dattes *Degla-Beida* (IB).

N° exp	Ordre exp	Température	Temps	Dimension	IB1	IB2	IB3	IB moyen	$\sigma^2$
1	6	-	-	-	0.18	0.17	0.154	0.168	0.0002
2	3	+	-	-	0.349	0.321	0.231	0.30	0.0038
3	5	-	+	-	0.187	0.186	0.187	0.19	0.0000003
4	4	+	+	-	0.522	0.496	0,503	0.51	0.0002
5	8	-	-	+	0.268	0.29	0.279	0.28	0.00012
6	2	+	-	+	0.873	0.948	0.873	0.90	0.0019
7	7	-	+	+	0.505	0.526	0.534	0.52	0.0002
8	1	+	+	+	1.03	1.037	1.159	1.07	<b>0.0053</b>
$\Sigma$								<b>3.936</b>	<b>0.0116</b>

L'expérience est reproductible :  $Cc=0.023 < Ct (v=m-1=2, \alpha = 0.05, N=8) = 0.516$ .

### ❖ Calcul et test de signification des coefficients de régression

Le tableau V-13 montre les valeurs des paramètres du modèle ainsi que les coefficients de Student correspondant.

**Tableau IV-13** : Les paramètres du modèle (IB) et leurs critères de Student calculés.

paramètres	$t_c$	paramètres	$t_c$
$b_0= 0.492$	-	$b_{12}= 0.015$	<b>1.96</b>
$b_1= 0.203$	26.09	$b_{13}= 0.09$	11.56
$b_2= 0.081$	10.36	$b_{23}= 0.024$	3.12
$b_3= 0.215$	25.88	$b_{123}= - 0.032$	4.07

Hormis pour  $b_{12}$ , les valeurs de  $t_c > t_t (\alpha = 0.025, \nu=N (m-1)=16)=2.120$  pour tous les autres paramètres. Le modèle obtenu est alors de la forme :

$$IB = 0.492 + 0.203T + 0.081t + 0.215D + 0.09TD + 0.024tD - 0.032TtD$$

Ici, contrairement au cas précédent, le temps est le moins influant. Les effets moyens des facteurs D et T sont approximativement 2.5 fois plus élevé que celui du temps (t) (voir l'allure et les pentes des droites de la figure IV-13).

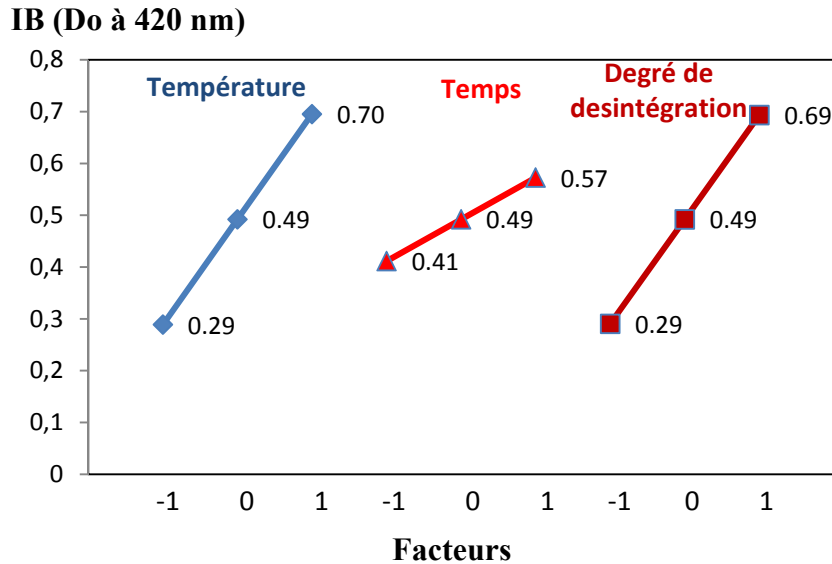
Par ailleurs, dans le cas présent, l'indice de brun du jus obtenu peut être attribué à quatre causes :

- Diffusion des pigments bruns naturellement présents dans la datte ;
- Les polymères « mélanines » issus des réactions de brunissement enzymatiques (oxydation des polyphénols). Comme il a été déjà précédemment signalé, la datte étudiée renferme une quantité appréciable en polyphénols ;
- Les polymères « mélanoidines » issus des réactions de Maillard ;
- Les pigments colorés résultant des réactions de caramélisation.

Quant à l'effet de la température, il est connu que celle-ci influe sur la vitesse des transformations physicochimiques selon l'équation d'Arrhenius.

#### ❖ Représentation graphique des effets

La figure IV-13 met en évidence la différence de comportement de la variable réponse selon les différents facteurs.

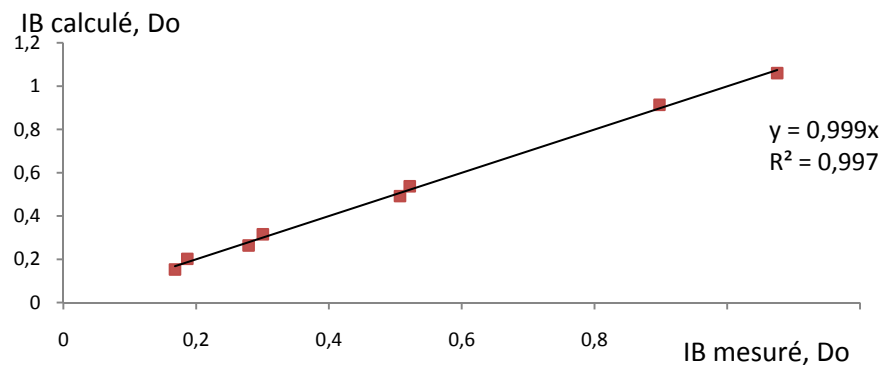


**Figure IV-13:** Représentation graphique des effets de la température, du temps et du facteur de division sur l'IB du jus

L'indice de brun des jus de dattes extraits augmente de 0.21, 0.08 et 0.2 points quand on passe du centre du domaine (valeur moyenne de l'indice de brun) à la moyenne des rendements des niveaux + de la température, le temps et le facteur de dimension respectivement.

#### ❖ Test sur la validité du modèle

Le critère de Fisher calculé  $F_c = 3.88 < F_t (v_1 = N - Z_s = 1, v_2 = N(m - 1) = 16) = 4.49$ , donc le modèle est adéquat. La corrélation entre IB calculé et IB mesuré confirme ce résultat ( $R^2 = 0.99$ ) (Figure IV-14).



**Figure IV-14 :** Représentation graphique des valeurs prédites en fonction des valeurs mesurées (IB).

### C- Modélisation de l'évolution du pH au cours du processus d'extraction

Le pH est un paramètre très important dans les transformations alimentaires car il conditionne la qualité hygiénique (bactériologique) et organoleptique (gout, couleur...).

#### ❖ Matrice des expériences et test d'homogénéité (test de Cochran)

La matrice d'expériences est donnée dans le tableau IV-14.

**Tableau IV-14** : Matrice des expériences pour l'extraction du jus de dattes Degla-Beida (pH).

N° exp	Nom exp	Ordre exp	Température	Temps	Dimension	pH 1	pH2	pH3	pH moyen	$\sigma^2$
1	N1	6	-	-	-	6.49	6.53	6.5	6.51	0.00043
2	N2	3	+	-	-	6.16	6.1	6.04	6.1	<b>0.0036</b>
3	N3	5	-	+	-	5.98	5.95	5.97	5.97	0.00023
4	N4	4	+	+	-	<b>5.07</b>	5.04	5	5.04	0.0012
5	N5	8	-	-	+	5.86	5.86	5.9	5.87	0.00053
6	N6	2	+	-	+	<b>5.24</b>	5.25	5.27	5.25	0.00023
7	N7	7	-	+	+	5.41	5.39	5.3	5.37	0.0034
8	N8	1	+	+	+	<b>5.02</b>	4.97	4.95	4.98	0.0013
$\Sigma$									<b>45.08</b>	<b>0.011</b>

Les variances sont homogènes et l'expérience est reproductible :  $Cc=0.148 < Ct (v=m-1=2, \alpha = 0.05, N=8) = 0.516$ .

#### ❖ Calcul et test de signification des coefficients de régression

Les valeurs des paramètres du modèle et des coefficients de Student correspondant sont données dans le tableau V-15.

**Tableau IV-15** : Les paramètres du modèle (pH) et leurs critères de Student calculé.

paramètres	$t_c$	paramètres	$t_c$
$b_0 = 5.6354$	-	$b_{12} = -0.0362$	4.79
$b_1 = -0.2929$	38.70	$b_{13} = 0.0412$	5.45
$b_2 = -0.2979$	39.36	$b_{23} = 0.1029$	13.60
$b_3 = -0.2671$	35.29	$b_{123} = 0.0946$	12.50

Comme on le voit, tous les facteurs sont significatifs ( $t_i = 2.120$ ), et le modèle peut s'écrire comme suit :

$$pH = 5.635 - 0.293T - 0.298t - 0.267D - 0.036Tt + 0.041TD + 0.103tD + 0.095TtD$$

Les effets moyens des facteurs étudiés sont négatifs ce qui veut dire qu'ils contribuent tous à l'abaissement du pH. Les effets des facteurs principaux sont pratiquement équivalents.

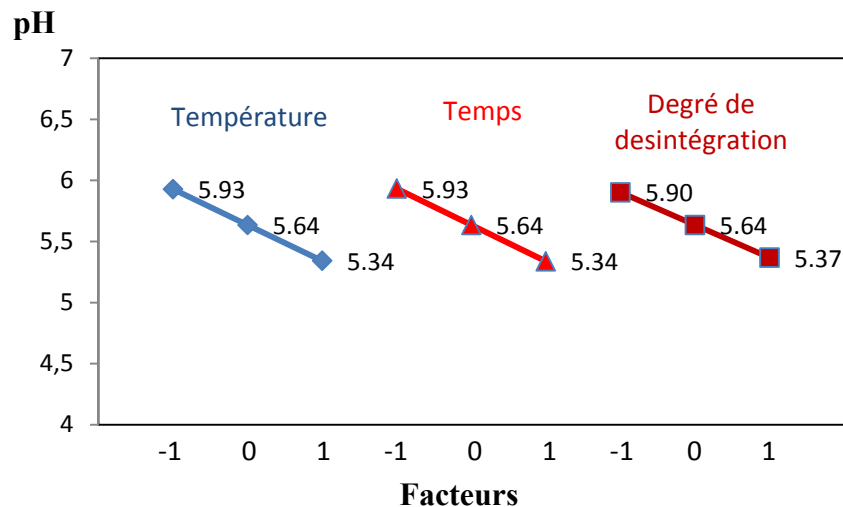
D'après les résultats trouvés, nous constatons que le pH atteint est inférieur à celui de la datte (5.34) au niveau haut de la température exception faite de l'expérience 2 (t et D sont au niveau bas) où la valeur trouvée dépasse celle de la datte. Cet abaissement peut être expliqué par la formation de composés acides au cours de cette extraction. En outre, conformément aux

valeurs données dans la matrice d'expériences (tableau IV-12 et tableau IV-14) il ressort une corrélation négative entre les valeurs du pH et de l'IB.

En fait, il est établi que les réactions de Maillard conduisant au brunissement, peuvent aussi être responsables de la formation de substances acides (Cheftel et Cheftel, 1992).

#### ❖ Représentation graphique des effets

La figure IV-15 montre une ressemblance quasi parfaite aussi bien de l'allure que de la pente des droites décrivant le comportement de la variable réponse en fonction des niveaux des trois facteurs. Plus, comme il a été signalé plus haut, les effets des facteurs principaux sont aussi quasi identiques.



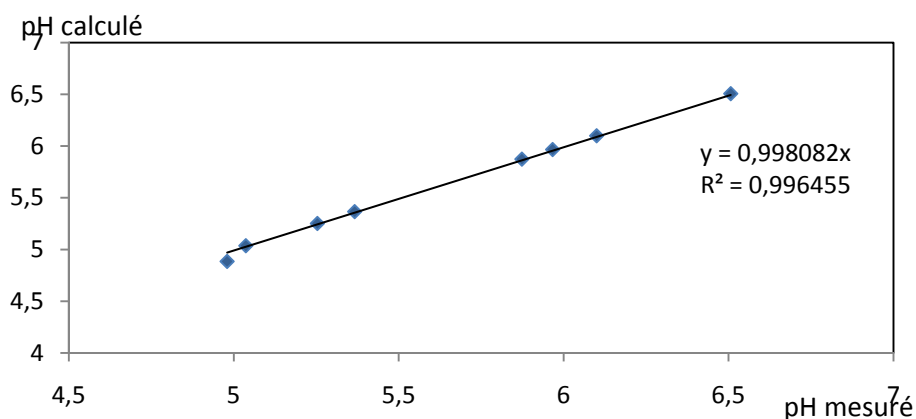
**Figure IV-15:** Représentation graphique des effets de la température, du temps et du degré de désintégration sur le pH du jus.

Le pH des jus de dattes diminue de 0.29, 0.29 et 0.26 points quand on passe du centre du domaine (valeur moyenne du pH 5.64) à la moyenne des rendements des niveaux + de la température, le temps et le facteur division (dimension) respectivement.

#### ❖ Test sur la validité du modèle

Le critère de Fisher calculé  $F_c = 114 > F_t(v_1 = N - Z_s = 1, v_2 = N(m - 1) = 16) = 4.49$ , donc le modèle n'est pas adéquat. Toutefois, avec une corrélation presque parfaite (Figure IV-16) entre les valeurs du pH mesurées et calculées, nous nous retrouvons ainsi devant le même dilemme que dans le cas du °Brix.





**Figure IV-16 :** Représentation graphique des valeurs prédites en fonction des valeurs mesurées (pH).

En toute logique, la même procédure de confirmation (ou d'infirmer) du modèle a été adopté. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IV-16.

**Tableau IV-16 :** Expérience au centre du domaine expérimental (pH).

N° exp	Ordre	T	t	D	pH <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	pH <sub>3</sub>	pH <sub>moyen</sub>	pH calculé	S	MRE, %
9	9	0	0	0.054 ( $D \approx 2^{3.5}$ )	5.57	5.53	5.52	5.54	5.62	0.14	2.15

En maintenant le même raisonnement que dans le cas du °Brix et en se basant sur les valeurs de S et de MRE, le modèle ainsi obtenu peut être considéré comme adéquat.

#### IV-3-1-2- Approche d'optimisation du processus d'extraction

Pour mieux rendre compte de l'influence des différents facteurs (température T, temps t et degré de désintégration D) sur les différentes variables réponses (°Brix, IB et pH), sont tracées les courbes des figures IV-17, IV-18 et IV-19 en se servant des modèles obtenus.

Ces figures IV-17, IV-18 et IV-19 montrent (à différentes températures : 40, 60 et 80°C) la variation en fonction du temps et du degré de désintégration du °Brix, de l'IB et du pH respectivement.

La comparaison des effets principaux des différents paramètres pour les trois variables-réponses étudiées est donnée dans le tableau IV-17.

**Tableau IV-17 :** Comparaison entre les effets (valeurs absolues) de T, t et D sur les trois paramètres étudiés.

Paramètre	Température		Temps		Degré de désintégration
Brix	1.185	<	2.1896	≈	2.3396
IB	0.203	>	0.081	<	0.215
pH	- 0.2929	≈	- 0.2979	≈	- 0.2671

De ce tableau et des figures (IV-17, IV-18 et IV-19), nous pouvons dire que l'extraction du jus à partir de la datte sèche *Degla-Beida* est fortement accélérée par un bon découpage (broyage) c'est-à-dire une augmentation de la surface de contact (diffusion...), et un bon temps de diffusion convenable tenant compte évidemment du facteur dimension. Par contre, l'effet de la température est plus prononcé sur la couleur (IB) et le pH :

- L'extraction à basse température, permet de maintenir le pH et la couleur de la datte. Dans ce cas, c'est la diffusion des pigments et des acides présents dans la datte qui détermine les valeurs d'IB et du pH de jus obtenu.
- L'extraction à une haute température favorisent les réactions de Maillard induisant ainsi un assombrissement de la couleur (formation de polymères bruns : Mélanoidines) et une diminution du pH (formation de composés acides). De plus, cette réaction risque de provoquer une perte de disponibilité de nombreux acides aminés indispensables ce qui à son tour va appauvrir le jus en AA essentiels.

Il devient alors illusoire de prétendre un °Brix du jus supérieur à 12 % à une température inférieure ou égale à 60°C. En revanche, il est possible d'atteindre cette valeur (12-13 %) à 80°C pendant un temps d'extraction de 90 min environ à condition d'opter pour un degré de désintégration maximal (D=5 au minimum). Toutefois, la couleur comme il a été déjà annoncé atteint un IB > 1, ce qui ne nous intéresse pas.

De plus, les composés issus de la réaction de Maillard sont dotés d'une activité antioxydante et peut être même une activité antibactérienne (leurs effets sur les levures est méconnu), ce qui peut perturber le processus de fermentation.

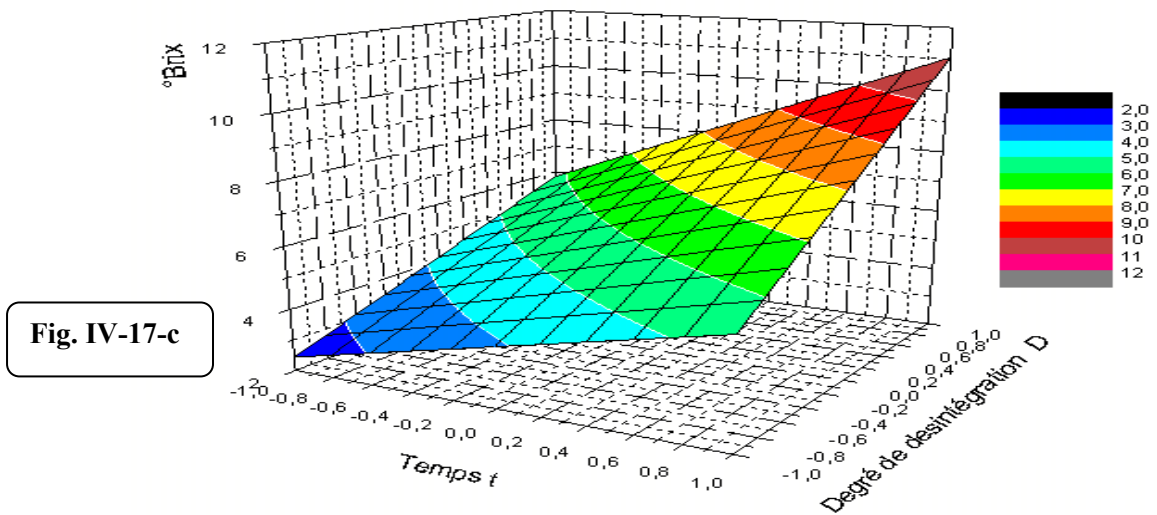
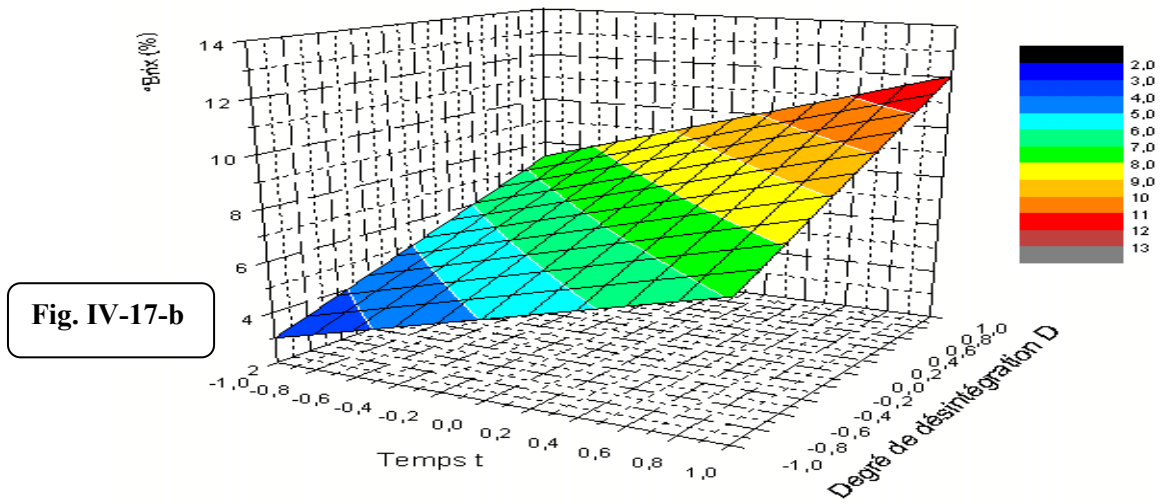
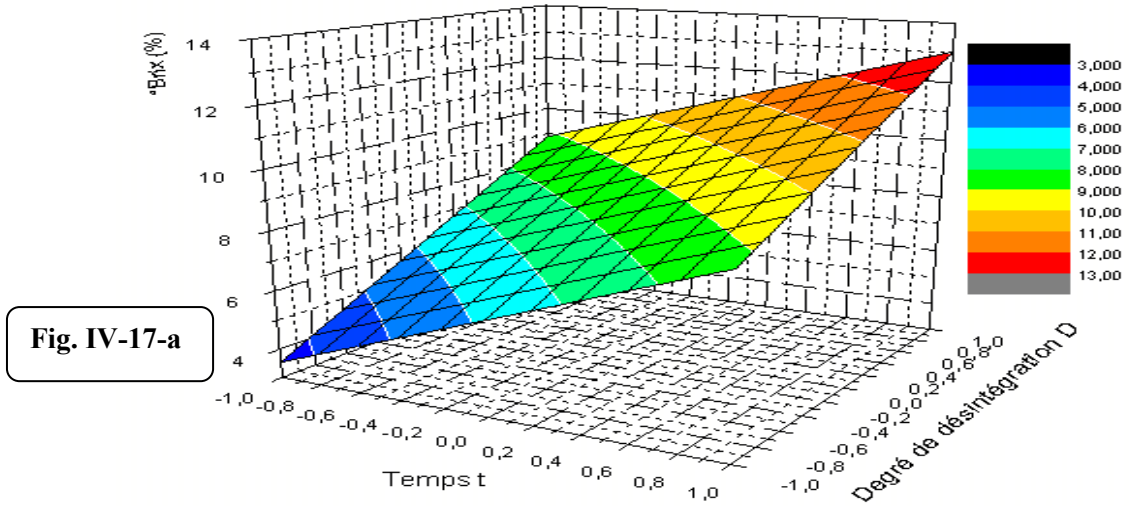
La formation de ces composés est inévitable au cours des traitements thermiques que va subir le jus (stérilisation). Afin d'éviter une accentuation de cette réaction, il est alors préférable d'opter à une extraction à 40 °C.

Selon **Khalil et al. (2002)**, l'emploi des enzymes pectiques (pectinases) permet de réduire le temps d'extraction. Un traitement de la pulpe de datte *Siwi* par cet enzyme pendant 30 min permet d'aboutir à des taux d'extraction de 40.5, 46.3, 53.6 et 62.9% par l'emploi des concentrations en enzymes de l'ordre de 0.02, 0.04, 0.06 et 0.08% respectivement. Le taux d'extraction atteint pour le témoin (sans traitement par l'enzyme) est de 36.3 %.

La technique de multi-lavage est aussi préconisée afin d'améliorer le taux d'extraction.

D'après cette analyse nous avons opté pour les conditions de traitement suivantes :

- Température d'extraction de 40 °C ;
- Degré de désintégration supérieur à 5 divisions (le plus fin possible) ;
- Temps d'extraction d'environ 2 heures ;
- Agitation de 105 oscillations par minute ;
- clarification par centrifugation à 3000 tr/min pendant 20 min.



**Figure IV-17 :** Variation du °Brix en fonction du temps et du degré de désintégration :

**a** - 80°C, **b** - 60°C et **c** - 40°C (variables codées).

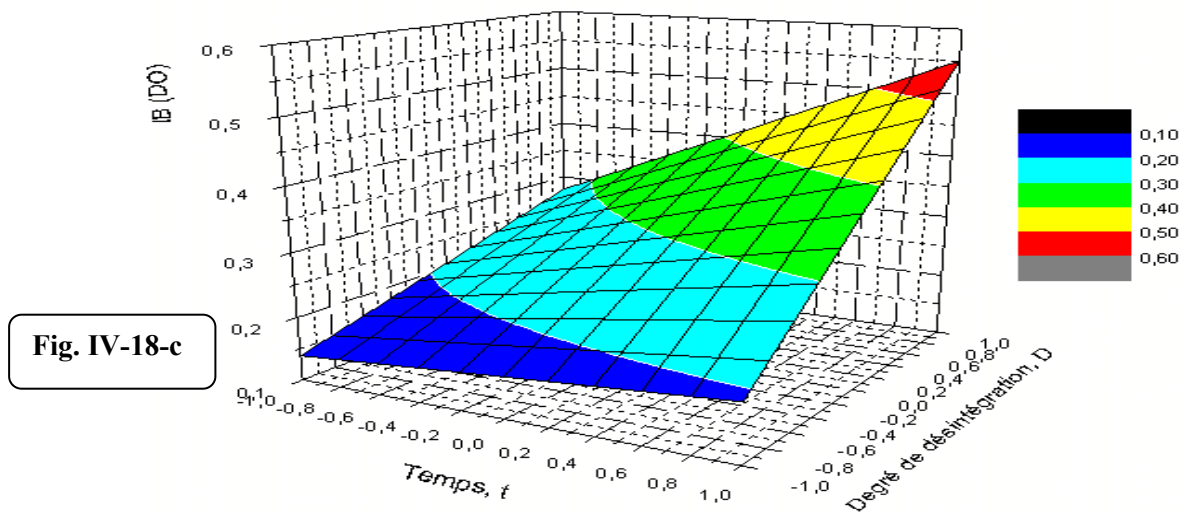
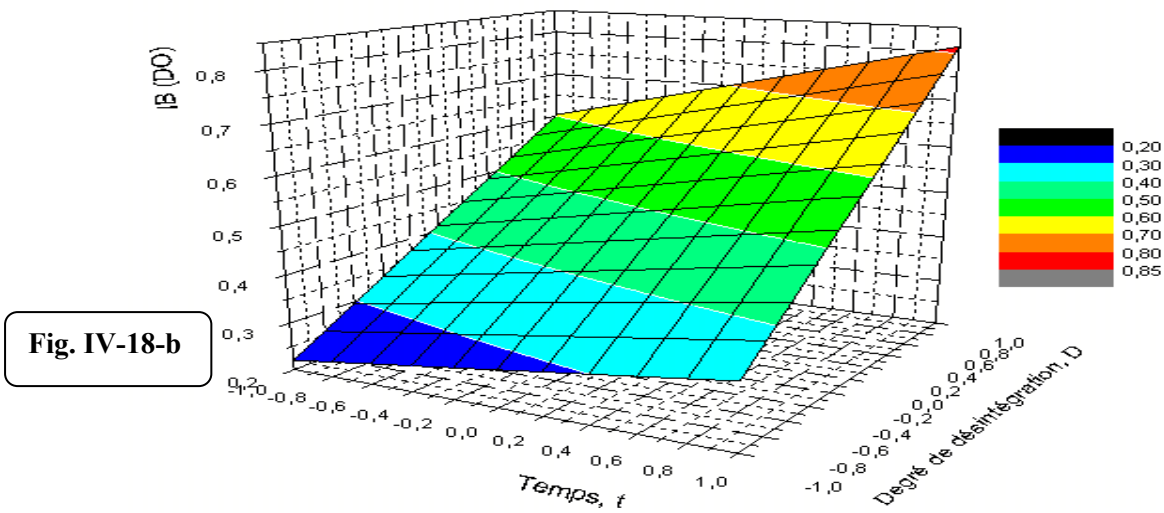
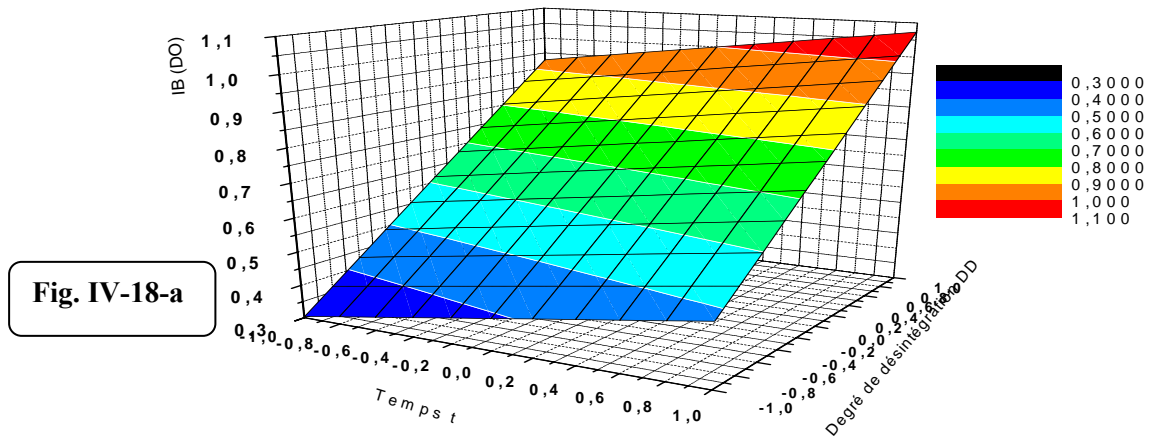
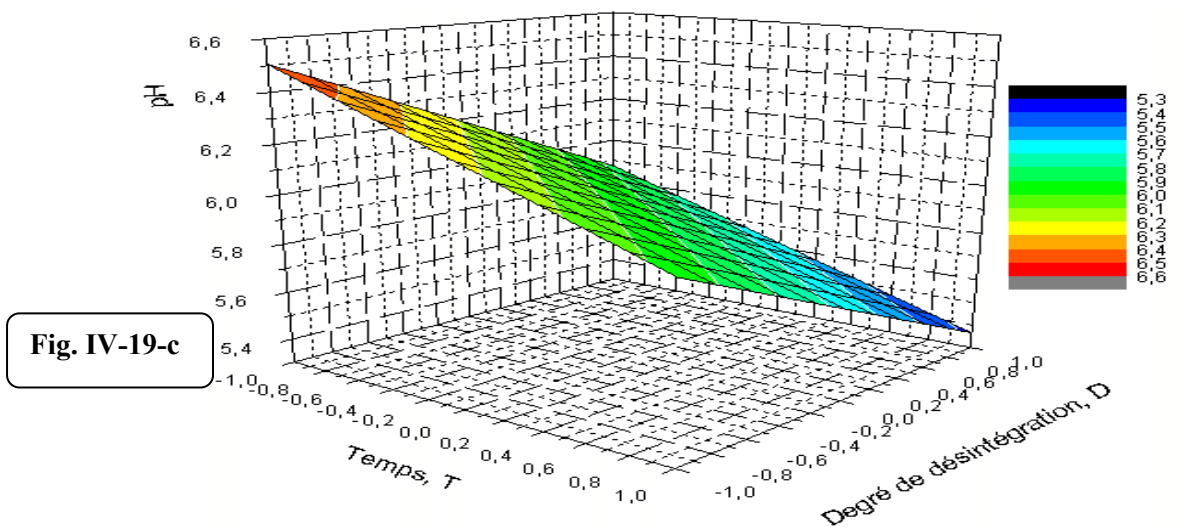
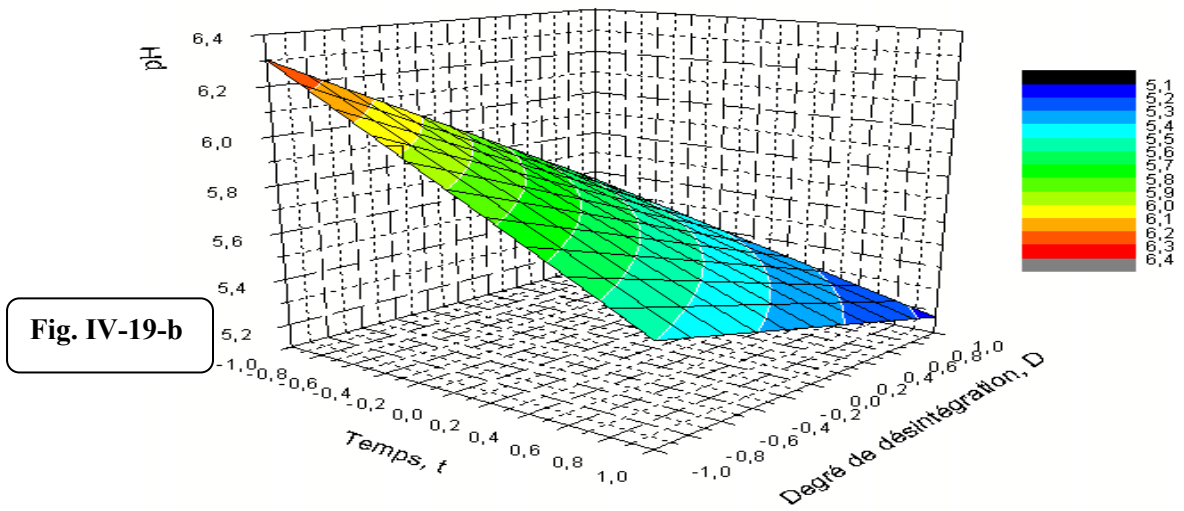
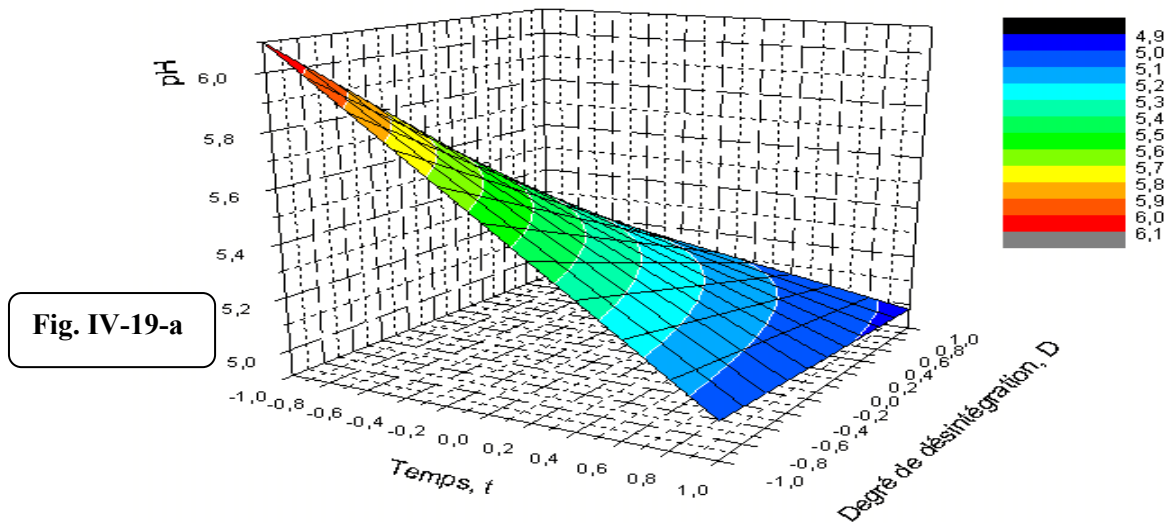


Figure IV-18 : Variation de l'IB en fonction du temps et du degré de désintégration :

a - 80°C, b - 60°C et c - 40°C (variables codées).



**Figure IV-19 :** Variation du pH en fonction du temps et du degré de désintégration :

**a** - 80°C, **b** - 60°C et **c** - 40°C (variables codées).

#### IV-4- Détermination de quelques caractéristiques physicochimiques et biochimiques du jus obtenu

Notre objectif étant de produire un vinaigre de 5 à 6 degrés acétimétrique. C'est la concentration en sucres initiale qui conditionne le taux d'alcool à la fin de la fermentation alcoolique. Et c'est ce dernier qui déterminera la concentration en acide acétique à la fin de la fermentation acétique.

Nous avons opté pour un jus de dattes à 12.5 °Brix, ce qui permettra en théorie la production d'un jus fermenté à 7.0 °GL (Akin, 2008) ; c'est la fameuse règle « 1ml d'alcool permet l'obtention de 1 g d'acide acétique » appliquée en vinaigrerie (Bourgeois et Larpent, 1996) qui nous a orientés à un tel choix.

La détermination de la composition de l'extrait de dattes obtenu est d'une importance capitale pour la conduite du processus fermentaire.

Le tableau IV-18 récapitule les résultats obtenus.

**Tableau IV-18 :** Quelques caractéristiques physicochimiques et biochimiques du jus à 12,5 °Brix.

Paramètres	Valeurs moyennes dans 100 ml
Teneur en eau	87.50
Résidu sec soluble ou Brix (%)	12.50 (paramètre fixé)
pH	6.12 ± 0.24
Taux de cendres (g)	0.403 ± 0.016
Conductivité électrique (mS)	4.24 ± 0.04
Taux de sel (g)	1.87 ± 0.08
Teneur en sucres réducteurs (g)	7.38 ± 0.08
Teneur en protéines (g)	0.22 ± 0.04
Acidité titrable (% d'acide acétique)	0.13 ± 0.02
Activité antioxydante (mg EAA)	26.36 ± 2
Teneur en polyphénols totaux (mg EAG)	19.67 ± 0.11
IB (DO à 420 nm)	0.60 ± 0.03

Le jus de la datte est un des produits alimentaires les plus riches en composés neutres comme les monosaccharides, le disaccharide, les sels minéraux et les vitamines (Benchellah et Maka, 2008). Ces substances considérées en tant qu'éléments essentiels pour la production d'alcool et même pour la croissance des microorganismes, levures particulièrement nécessite toutefois un enrichissement en matières azotées (Acourene et Tama, 2001 ; Kaidi et Touzi, 2001).

On constate que le pH de ce jus est assez élevée (6.1), sa régulation permet à la fois de ralentir le brunissement pendant la stérilisation (Cheftel et Cheftel, 1992), et de rendre le milieu optimal pour le processus fermentaire.

#### **IV-5- Essai d'utilisation de la réfractométrie comme méthode rapide d'estimation simultanée de la teneur en alcool et en sucres résiduels au cours de la fermentation alcoolique par *Saccaromyces cerevisiae***

Le suivi in situ de la fermentation alcoolique par l'indice de réfraction s'avère des plus intéressants par le fait que sa mesure est très simple et ne nécessite qu'un volume réduit d'échantillon (1 millilitre environ). Cette détermination permettra à la fois d'estimer les taux d'alcool produit et des sucres résiduels.

##### **IV-5-1- Changement du milieu au cours de la fermentation alcoolique**

Il convient de rappeler qu'au cours de la fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae*, le métabolisme de la levure induit un changement perpétuel du milieu. Ainsi, la consommation des substrats carbonés et azotés s'accompagne de la production de métabolites alcools et acides... Parallèlement, on observe une évolution de l'indice de réfraction, du pH, de la densité...

- **Evolution du sucre :** Le sucre est le composé **majoritaire** du jus de dattes (moût) après l'eau, avec une teneur d'environ 12,5%. Il influence les caractéristiques physico-chimiques du milieu tels que l'indice de réfraction, la masse volumique etc. Il agit également sur la viscosité du milieu. D'un milieu riche en sucre en début de fermentation, on obtient une solution hydro-alcoolique contenant très peu ou pas de sucre en fin du processus.
- **Evolution de l'alcool :** L'alcool est le composé **majoritaire** produit lors d'une fermentation alcoolique. On sait à travers la littérature que l'alcool influence l'indice de réfraction, la masse volumique, et par conséquent les constantes de dissociation des composés acides du solvant (**Akin, 2008**). D'un milieu exempt d'alcool en début de fermentation, on obtient en fin du processus une solution hydro-alcoolique plus ou moins riche en alcool.

##### **IV-5-2- Effet de certains composés du moût de dattes sur l'indice de réfraction : essai préliminaire**

Afin de connaître l'impact des principaux composants du moût sur l'évolution de l'indice de réfraction (°Brix) en variant leurs concentrations, nous avons appliqué un plan factoriel complet de 3 facteurs (glucose « G », fructose « F » et l'alcool éthylique « A ») à deux niveaux (voir annexe 3) :

Dans le cas des sucres, l'indice de réfraction dépend peu de leur nature (**Audigié et al., 1985**)

On sait à travers la littérature, que le glucose, le fructose et l'éthanol ne réagissent pas entre eux : les interactions doubles dans la matrice d'expérience (GF, GA et FA) et triple (GFA) théoriquement sont nulles. Les interactions sont faibles (insignifiants) et leurs coefficients calculées sont dues aux effets de la température, concentrations, lecture, appareil de mesure etc.

Le but de cette expérience étant juste de voir l'impact de la concentration de ces constituants sur l'IR ou le °Brix.

D'après ces résultats préliminaires, il paraît clairement que l'effet des sucres est plus important que celui de l'alcool sur l'indice de réfraction. Cela est confirmé par la théorie, l'alcool pur à un °Brix équivalent à une solution de saccharose d'environ 18,5°Brix (Véret, 2008).

#### IV-5-3- Etude de l'influence du °Brix du jus de dattes et d'alcool sur l'indice de réfraction (ou °Brix) du mélange réactionnel

Le jus de dattes à 12,5 °Brix ainsi obtenu est clarifié par centrifugation à une vitesse de 5000 tr/min pendant 20 min, puis ajusté selon les différents niveaux de la matrice d'expériences avec l'eau distillée (Tableau IV-19).

##### A- Calcul du °Brix (IR) d'un mout en connaissant sa concentration d'alcool et du sucre

Les conditions expérimentales, les réponses correspondantes et les effets moyens des paramètres sont présentés dans la matrice d'expériences (Tableau IV-19).

**Tableau IV-19** : Matrice d'expériences et calcul des coefficients de régression.

N exp.	M	S	A	SA	°Brix	IR
1	1	-1	-1	1	1	1.3343
2	1	-1	1	-1	2,6	1.3368
3	1	1	-1	-1	10	1.3478
4	1	1	1	1	11.6	1.3502
<b>Effet sur le °Brix</b>		6.2875	4.5125	0.8125	- 0.0125	
<b>Effets sur l'IR</b>		1.34225	0.00675	0.00125	- 0.00005	
<b>Paramètres</b>		<b>S (°Brix)</b>		<b>A (%v)</b>		
Niveau (-)		1		0		
Niveau (+)		10		6		

M : moyenne, S : concentration en sucre et A : teneur en alcool (v/v).

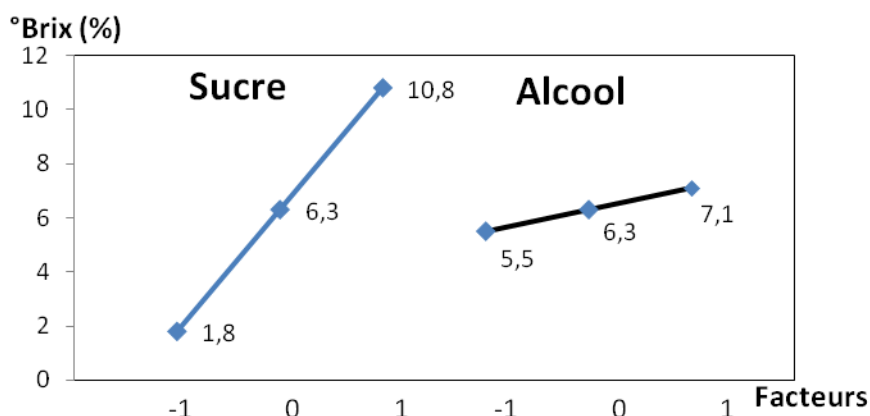
##### B- Détermination des modèles mathématiques

On remarque que l'effet de l'interaction entre le sucre et l'alcool est très faible et les modèles mathématiques s'écrivent :

- **La réponse est le °Brix**
  - Echelle codée : °Brix = 6.2875 + 4.5125 S + 0.8125 A
  - Echelle réelle : °Brix ≈ 1.00 S + 0.27 A
  
- **La réponse est l'IR**
  - Echelle codée : IR = 1.34225 + 0.00675 S - 0.00005 A
  - Echelle réelle : IR ≈ 0.0015 S + 0.00042A + 1.333



### C- Représentation graphique des effets du sucre et d'alcool



**Figure IV-20** : Représentation graphique des effets de la teneur en sucre et d'alcool sur le °Brix du mélange.

La figure montre clairement que l'effet du sucre sur le °Brix du mélange est largement supérieur à celui de l'alcool. En conséquence, sachant la transformation du sucre en alcool, le °Brix du moût diminue au cours du processus fermentaire.

### D- Validation des modèles obtenus par des tests au centre du domaine et calcul d'erreurs

Les répétitions au centre du domaine (variable codée) sont présentées dans le tableau IV-20.

**Tableau IV-20** : Expériences au centre du domaine.

N	SUCRE	ALCOOL	°BRIX	IR
5	0	0	6.45	1.3423
6	0	0	6.38	1.3421

Les valeurs de S, MRE et SSE au centre du domaine sont données dans le tableau IV-21.

**Tableau IV-21**: Estimation des erreurs au centre du domaine.

	S	MRE	SSE
°Brix	0.0495	0.49	0.0134
IR	0.00028	0.0037	0.000052

Comme indiqué le tableau IV-21, l'erreur sur la détermination du °Brix (IR) au centre du domaine expérimental est négligeable. Les modèles ainsi obtenus sont valides.

Afin d'appliquer ces modèles sur des concentrations plus élevées (par extrapolation du domaine expérimental) deux essais ont été réalisés :

- Une solution à 15 % de saccharose et 10 °GL d'alcool (A)
- Une solution à 20 % de saccharose et 10 °GL d'alcool (B)

Les °Brix expérimentaux et calculés de ces deux solutions sont donnés dans le tableau IV-22.

**Tableau IV-22** : Comparaison des °Brix expérimentaux et théoriques des solutions A et B.

	°Brix exp.	°Brix calc.
<b>Solution A</b>	17.9	17.8
<b>Solution B</b>	22.5	22.6

La différence entre les valeurs théoriques et expérimentales est négligeable. Le modèle mathématique est alors valide pour des concentrations au dessous de 23%. (Au delà de cette concentration, une validation par des tests supplémentaires est nécessaire).

Selon **Audigié et al. (1985)**, pour des concentrations pas trop grandes, l'indice de réfraction varie linéairement avec la concentration.

#### IV-5-2-4- Taux de conversion « C<sub>SA</sub> » du sucre en alcool pendant la fermentation alcoolique par *S. cerevisiae*

Au cours de la fermentation, les levures *S. cerevisiae* transforment le glucose en éthanol suivant la réaction suivante :



L'impact des produits secondaires sur l'indice de réfraction est négligeable (hypothèse 2) C'est-à-dire que le °Brix mesuré dépend essentiellement de la teneur en sucre et en alcool. (Produits autres que les sucres consommés par la levure sont égaux aux produits sécrétés au cours de cette fermentation).

1 mole de  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  permet d'avoir 2 moles de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  c'est-à-dire

180 g  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 92$  g de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (la densité de l'alcool est de 0.789 à 20 °C)

180 g  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 116.57$  ml de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

1.96 g  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 1$  g de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

1.54 g  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 1$  ml de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

1.54 g : est la quantité théorique de sucre nécessaire pour produire 1ml d'alcool

La teneur en alcool dépend de la concentration initiale en sucre du moût, et pour une même valeur initiale, des conditions de fermentation qui peuvent faire varier légèrement le rendement de la conversion. Bien entendu ce rendement n'atteint jamais la valeur limite dite de Gay Lussac de 0.511 g alcool/g sucre. Il s'établit en général à 0.45 – 0.48 g alcool/g sucre, ce qui correspond à la règle classique des œnologues des 1.65 à 1.7 g de sucre nécessaire à synthétiser 1 ml d'éthanol. (**Akin, 2008 ; Komia, 1996**).

L'étude de la fermentation alcoolique du jus de datte réalisé par **Mehaia et Cheryan (1991)** confirme cette règle. En se basant sur leurs résultats, le calcul de la quantité réelle de sucre consommé pour produire 1ml d'alcool est résumé dans les points suivants :

- La fermentation d'un jus de dattes à 98 g/l (49.5 g/l de glucose et 48.5 g/l de fructose) à permis la production de 47.3 g/l d'alcool (59.93 ml).  
On peut dire alors qu'il faut 1.66 g/ de sucre pour produire 1ml d'alcool.
- La fermentation d'un jus de dattes à 138 g/l (70.1 g/l de glucose et 68.2 g/l de fructose) a permis la production de 65 g/l d'alcool (82.36 ml)  
On peut dire qu'il faut 1.65 g/l de sucre pour produire 1ml d'alcool
- De même à n'importe quel point de la courbe, la quantité d'alcool produite en ml est toujours proportionnelle à la quantité de sucre consommé avec un facteur de 1.7 environ et cela quelque soit la proportion de glucose et du fructose.

**Remarque :** l'écart entre la quantité expérimentale trouvée et celle théorique représente la quantité de sucre nécessaire pour la croissance des micro-organismes (développement de la biomasse) et la production des métabolites autres que l'alcool.

#### IV-5-5- Détermination de la courbe d'évolution du taux de sucre en fonction du Brix dans le cas d'une fermentation d'un jus de datte à 12.5 °Brix

Sur la base des résultats trouvés précédemment, le tableau de conversion théorique est établi (Tableau IV-23) :

- ❖ Taux de conversion  $C_{S/A}$  du sucre en éthanol pendant la fermentation alcoolique :  
 $C_{S/A} = 1.7g$
- ❖ Equation permettant le calcul du °Brix à partir d'une solution à concentration connue en sucre et en éthanol :  $°Brix = 1.00 S + 0.27 A$
- ❖ Equation permettant le calcul de l'IR à partir d'une solution à concentration connue en sucre et en éthanol :  $IR = 0.0015 S + 0.00042A + 1.333$

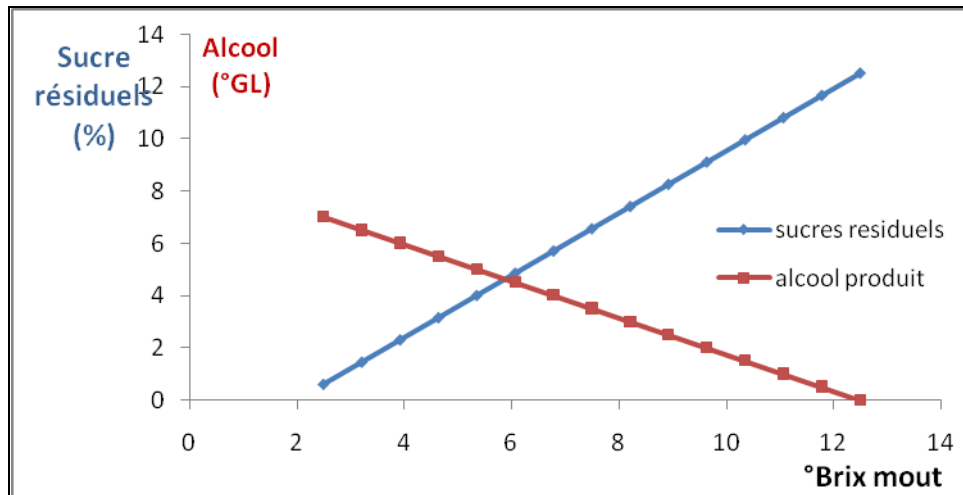
**Tableau IV-23 :** tableau de conversion théorique sucre/alcool durant la fermentation alcoolique.

Sucres résiduels, %	Alcool déduit (°GL)	°Brix calculé	IR calculé
12.5	0	12.5	1.3517
11.65	0,5	11.78	1.3506
10.8	1	11.07	1.3496
9.95	1,5	10.35	1.3485
9.1	2	9.64	1.3475
8.25	2,5	8.92	1.3464
7.4	3	8.21	1.3454
6.55	3,5	7.50	1.3443
5.7	4	6.78	1.3432
4.85	4,5	6.06	1.3422
4	5	5.35	1.3411
3.15	5,5	4.64	1.3400
2.3	6	3.92	1.3390
1.45	6,5	3.20	1.3379
0.6	7	2.49	1.3368

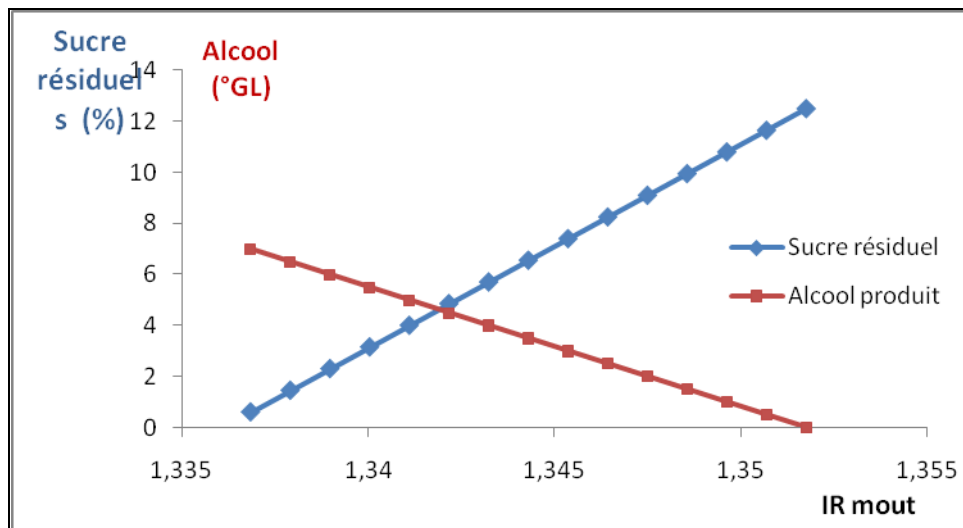
A partir de ce tableau, il est possible d'en déduire le taux de conversion théorique «  $C_{A^{\circ}\text{Brix/A th}}$  » permettant la détermination du taux d'alcool en connaissant la variation du  $^{\circ}\text{Brix}$  du mout de fermentation. Celui-ci étant la variation du  $^{\circ}\text{Brix}$  du milieu permettant de produire 1 $^{\circ}\text{GL}$  d'éthanol :  $C_{A^{\circ}\text{Brix/A th}} = 1.43 \text{ }^{\circ}\text{Brix}$ .

**A- Courbes théoriques d'évolution du sucre et d'alcool au cours de la fermentation en fonction du  $^{\circ}\text{Brix}$  et IR d'un jus de datte à 12.5  $^{\circ}\text{Brix}$**

Les figures IV-21 et IV-22 représentent en fait les données du tableau IV-23.



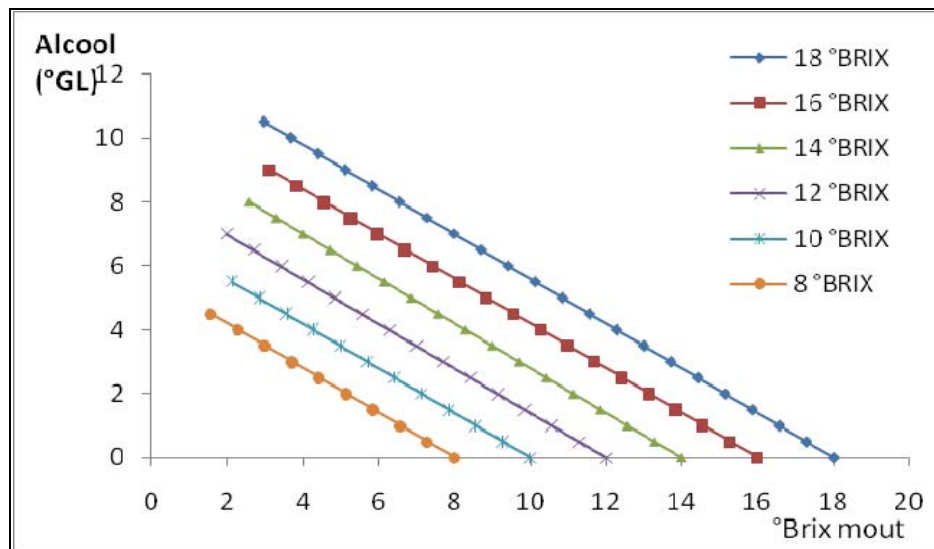
**Figure IV-21 :** Courbes de variation de la teneur en alcool et en sucres résiduels en fonction du  $^{\circ}\text{Brix}$  du mout (théorique).



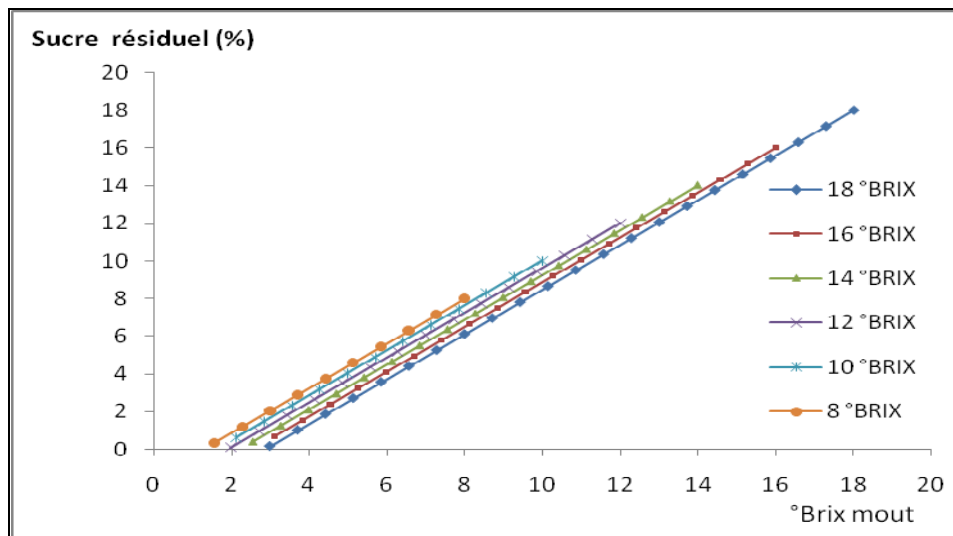
**Figure IV-22:** Courbe de variation de la teneur en alcool et en sucres résiduels en fonction du  $^{\circ}\text{Brix}$  du mout (théorique).

**B- Courbes d'isoréponses**

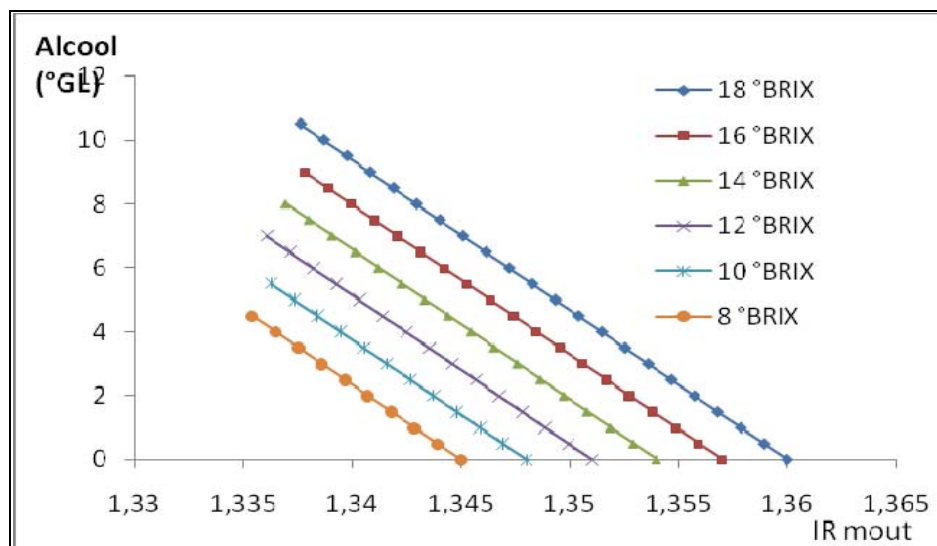
Les courbes isoréponses des figures IV-23, IV-24, IV-25 et IV-21 sont tracées selon la même méthodologie que précédemment.



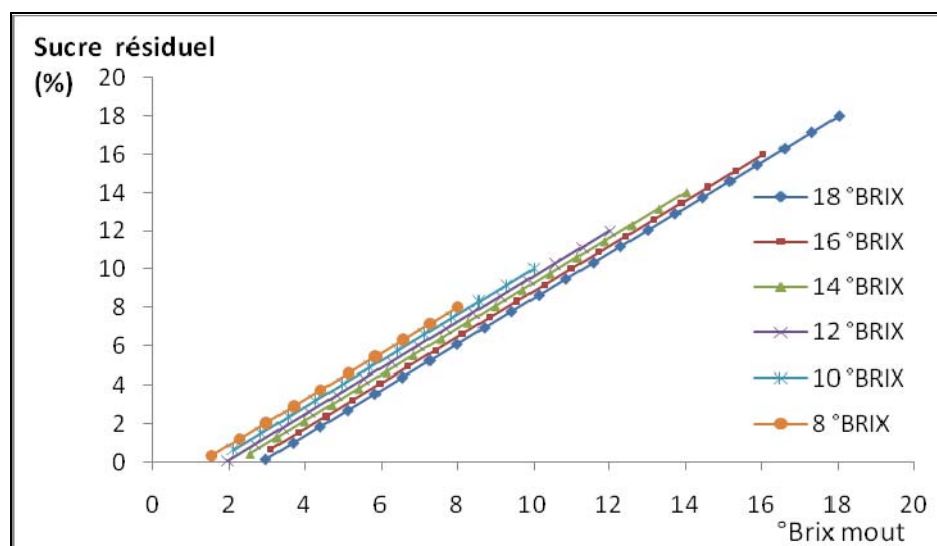
**Figure IV-23:** Courbe de détermination de la teneur en alcool par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales (**théorique**).



**Figure IV-24 :** Courbe de détermination de la teneur en sucres résiduels par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales (**théorique**).



**Figure IV-25:** Courbe de détermination de la teneur en alcool produite par mesure de l'IR à différentes concentrations initiales (**théorique**).



**Figure IV-26 :** Courbe de détermination de la teneur en sucre résiduel par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales (**théorique**).

Théoriquement, la teneur en alcool produite et la teneur en sucre résiduel peuvent être déterminées par ces abaques.

#### IV-5-6- Validation de la méthode réfractométrique dans le suivi de la fermentation alcoolique

En plus de l'alcool, d'autres métabolites (le glycérol et le CO<sub>2</sub> principalement, les acides...) se forment au cours de la fermentation alcoolique ce qui rend le milieu plus complexe (Akin, 2008).

La levure utilisée est *Saccharomyces cerevisiae* (offerte par Tango). Ce genre de levure compte environ 57 espèces. Du fait qu'il existe des espèces non dotées de l'invertase,

incapable en conséquence d'utiliser le saccharose comme source de carbone, il devient nécessaire de vérifier ce critère.

- Fermentation d'un jus de dattes à 15 °Brix (exp. N° 1) ;
- Fermentation d'un jus de dattes à 12.5 °Brix (exp. N° 2) ;
- Fermentation d'un moût contenant uniquement du glucose comme source de carbone (synthétique) à 12 °Brix (exp. N° 3) ;
- Fermentation d'un moût contenant uniquement du saccharose comme source de carbone à 8.5 °Brix (exp. N° 4).

Dans tous les cas précédents, le pH est ajusté par le jus de citron. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IV-24.

**Tableau IV-24** : Taux de conversions obtenus à différentes conditions expérimentales.

N° expérience	°Brix initial *	°Brix final**	Rapport (*/**)	Teneur en alcool (th.) °GL (abaque)	Teneur en alcool (exp.) °GL	Conversion $\Delta^{\circ}\text{Brix}/\text{Alcool}$ expérimental ( $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix}/A \text{ exp.}}$ )
1	15	5.6	2.68	6.6	8.43	1.12
2	12.5	4.5	2.78	5.3	6.91	1.16
3	12	4.3	2.79	5.1	6.90	1.11
4	8.5	3.2	2.66	3.65	4.81	1.08

D'après ces résultats, on peut tirer les conclusions suivantes :

- La levure utilisée est saccharase + (c'est-à-dire qu'elle peut utiliser le saccharose comme source de carbone)
- Le rapport entre le °Brix initiale et finale s'avère pratiquement stable ce qui nous permettra de prévoir a priori le °Brix à la fin de la fermentation (Figure IV-27).
- L'écart entre les teneurs théoriques et expérimentales en alcool est **considérable (MRE = 34.55%)**. Ce qui remet en cause pour le moment la possibilité d'exploiter l'approche théorique développée précédemment.

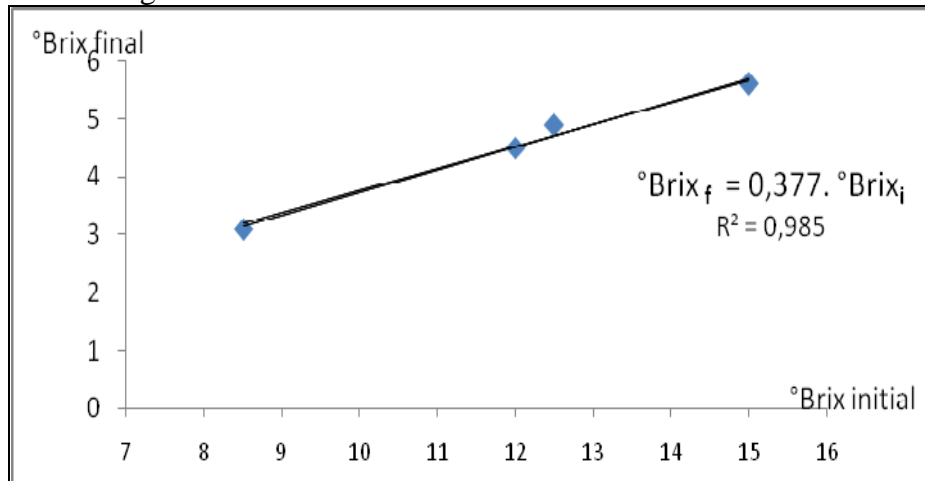
Cet écart peut être dû principalement à :

- L'effet de concentration (diminution du volume réactionnel totale d'environ 5 % en fin de fermentation : dégagement du CO<sub>2</sub>) ;
- L'effet des produits secondaires issus de la fermentation (glycérol principalement, les différents acides ...) ;
- L'effet de rétention d'eau par la levure...

Selon Veret (2008), lors de la propagation d'un rayonnement dans un milieu, la dispersion et l'absorption dépendent de la nature des atomes et molécules rencontrés. Le calcul théorique de ces paramètres est des plus complexes, surtout dans des milieux liquides et solides (phénomènes d'interaction).

Toutefois, le taux de conversion expérimental «  $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix}/A \text{ exp.}} \approx 1.1$  » s'avère constant dans toutes les expériences, ce qui ouvre une autre possibilité de modélisation. Avant de

développer ce dernier point, relevons la corrélation entre le °Brix initial et final du moût représentée dans la figure IV-27.



**Figure IV-27:** Corrélation entre le °Brix initial et final du moût au cours de la fermentation alcoolique.

Comme représenté sur la figure IV-27, il y'a une bonne corrélation entre les valeurs initiales et finales (°Brix). Subséquemment, il est possible de connaître a priori le °Brix à la fin du processus fermentaire en connaissant sa valeur initiale. Le suivi du processus fermentaire en utilisant la réfractométrie est en fin de compte possible.

Revenons à la possibilité de modélisation basée sur «  $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix/A exp.}}$  »

$$C_{\Delta^{\circ}\text{Brix/A exp.}} = \frac{\text{°Brix}_i - \text{°Brix}_f}{A_{\text{exp}}}$$

Les résultats du suivi de la fermentation alcoolique du jus de dattes à 12,5 °Brix (le pH est ajusté à 4,5 par un jus de citron) sont donnés dans le tableau IV-25.

**Tableau IV-25 :** Variation du °Brix et du °GL au cours de la fermentation alcoolique (sont donnés aussi le °GL calculé tenant compte du «  $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix/A exp.}} = 1.1$  »).

Temps (h)	°Brix	Alcool (exp.) °GL	Alcool (calc.) °GL
0	12.5	0	0
6	10.9	1.59 ± 0.02	1.45
12	9	3.53 ± 0.10	3.18
24	5.3	6.38 ± 0.02	6.54
30	4.6	6.86 ± 0.04	7.18
36	4.5	6.91 ± 0.03	7.27

Calculée à partir de ces résultats, la différence entre la teneur en alcool expérimentale et celle prédite en utilisant le coefficient de conversion «  $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix/A exp.}} = 1.1$  » est faible avec une erreur expérimentale S de 0.16 et une MRE de 5.35%.



Les courbes d'isoréponses permettant la détermination du taux d'alcool produit et de la teneur en sucres résiduels (en se servant du coefficient «  $C_{A^{\circ}\text{Brix}/A_{\text{exp.}}} = 1.1$  ») sont représentées dans les figures IV-28, IV-28, IV-28 et IV-28.

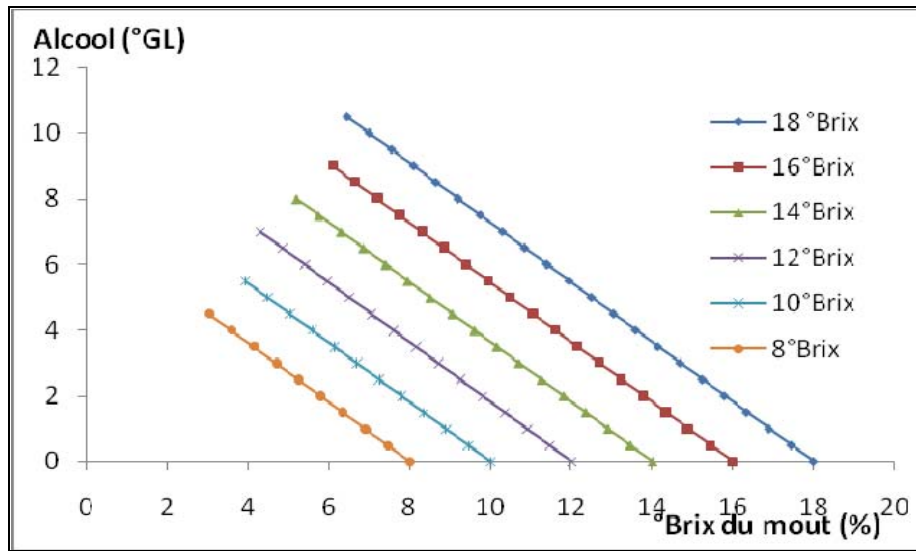


Figure IV-28 : Courbes (abaque) de détermination du taux d'alcool par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales.

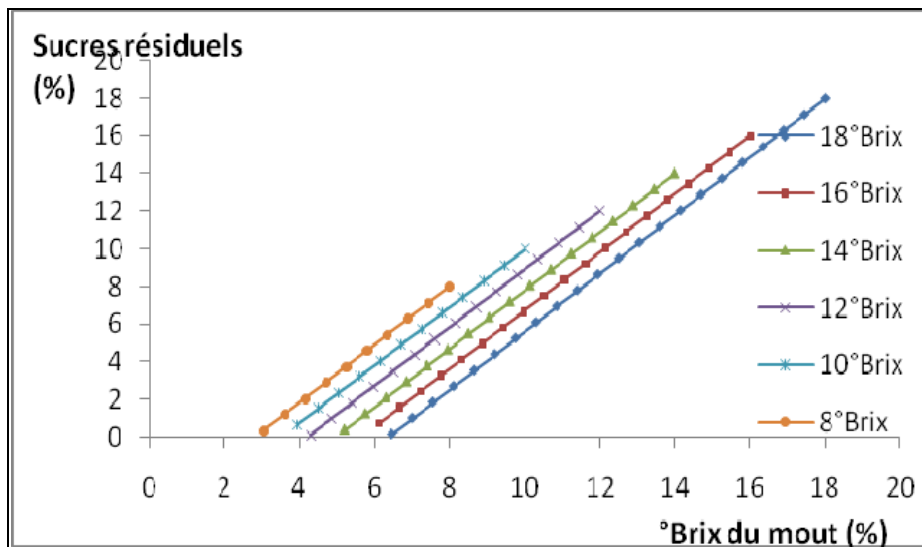


Figure IV-29: Courbes (abaque) de détermination de la teneur en sucres résiduels par mesure du °Brix à différentes concentrations initiales.

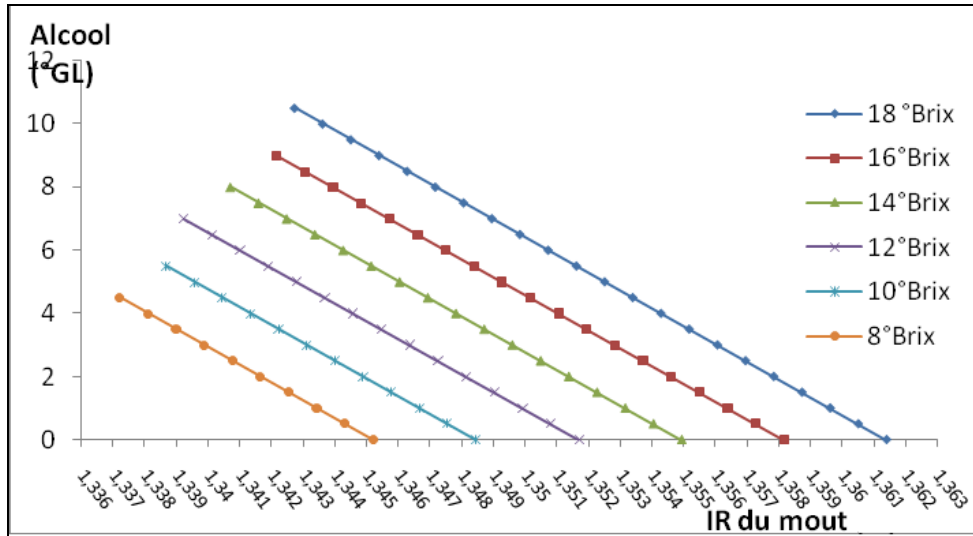


Figure IV-30 : Courbes (abaque) de détermination du taux d’alcool par mesure de l’IR à différentes concentrations initiales.

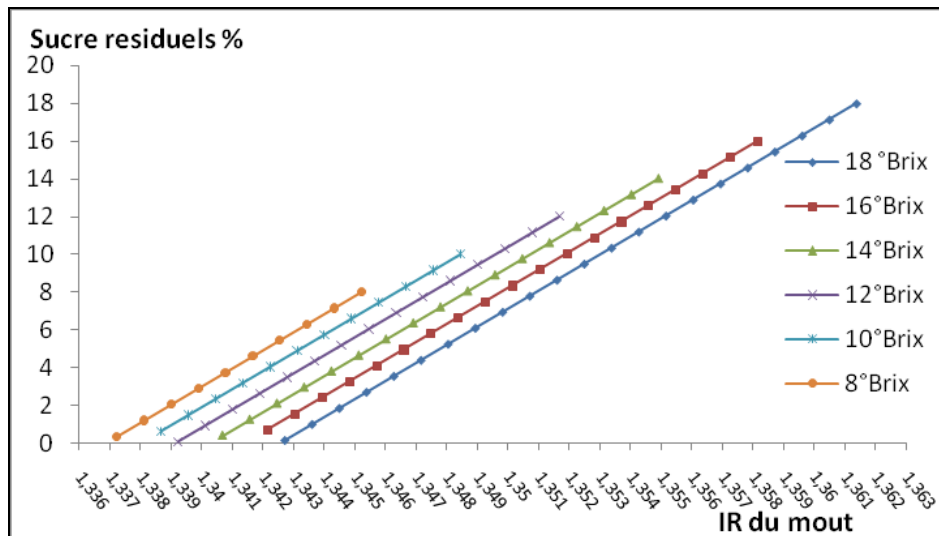


Figure IV-31 : Courbes (abaque) de détermination de la teneur en sucres résiduels par mesure de l’IR à différentes concentrations initiales.

**Remarque :**

Par ailleurs, il nous semble possible (en se basant sur les résultats précédents) de calculer le pourcentage de la fraction non fermentescible d’après la formule suivante :

$$\text{°Brix(NF)} = \text{°Brix(R)} - \text{°Brix(F)}$$

Où : °Brix (NF) = fraction non fermentescible ; °Brix (R) = °Brix à l’équilibre et °Brix (F) = la valeur déduite à partir de courbe (IV-27).

## IV-6- Procédés de fermentation alcoolique du jus de dattes obtenu

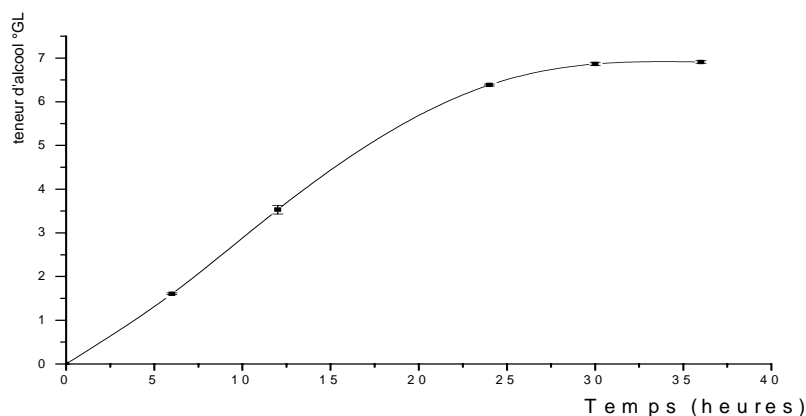
Le produit issu de cette étape servira de substrat (moût d'acétification) pour la fabrication du vinaigre.

L'évolution de la quantité de CO<sub>2</sub> dégagée, de la teneur en alcool produite, du °Brix (TSS) et de la teneur en sucres réducteurs résiduels au cours de la fermentation par *Saccharomyces cerevisiae* du jus de dattes à 12.5° Brix sont données dans les courbes des figures IV-32, IV-33, IV-34 et IV-35 respectivement.

L'aspect croissance n'est pas pris en compte dans notre cas, notre objectif étant juste d'atteindre la conversion totale des sucres en alcool. **Acourene et Tama (2001)**, préconisent les rebuts de dattes et les dattes communes comme substrat de substitution à la mélasse pour la fabrication de la levure boulangère. Toutefois, un enrichissement des moûts issus de ces dattes avec de l'azote et du phosphore est nécessaire afin de constituer des milieux favorables au développement des levures.

### IV-6-1- Evolution de la teneur en alcool

La courbe de la figure IV-32 montre l'évolution de la quantité d'éthanol produite au cours de la fermentation.



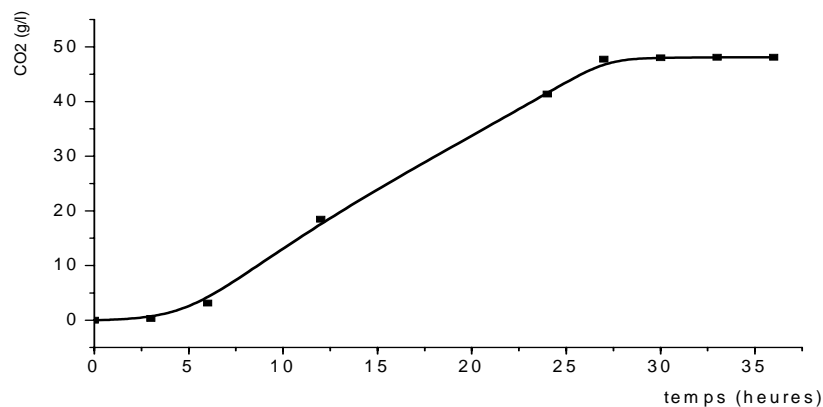
**Figure IV-32 :** Evolution du taux d'alcool au cours de la fermentation alcoolique du jus de dattes *Degla-Beida* par *S. cerevisiae*.

La production de l'alcool évolue progressivement avec une vitesse maximale de 3,2 ml/l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

La concentration en éthanol obtenue en fin de fermentation (épuisement des sucres) avoisine les 70 ml/l (7°GL) : le taux de conversion des sucres en alcool est légèrement supérieur à 1.7. Ce dernier est légèrement supérieur à celui trouvé par **Mehaia et Cheryan (1991)** qui est de l'ordre de 1.65. Cette différence peut être due soit à une perte par volatilisation de l'éthanol ou à un stockage des sucres sous forme de glycogène dans les cellules. Il convient en outre de rappeler que le °Brix mesuré ne correspond pas réellement à la concentration totale en sucres, les autres composants du moût (protéines, sels, ...) induisant une certaine réfraction spécifique. Toutefois, cette différence est négligeable ce qui confirme le taux de conversion donné par **Akin (2008) et Komia (1996)**.

### IV-6-2- Evolution de la quantité du CO<sub>2</sub> dégagé

La figure IV-33 représente l'évolution de la quantité de CO<sub>2</sub> produite au cours de ladite fermentation.



**Figure IV-33 :** Evolution du taux de CO<sub>2</sub> (cumul) dégagée au cours de la fermentation alcoolique du jus de dattes *Degla-Beida* par *S. cerevisiae*.

On remarque sur cette courbe trois phases distinctes :

**1<sup>ère</sup> Phase (0 - 4 heures) :** malgré une production d'alcool au cours de cette phase (Figure IV-33), la quantité de CO<sub>2</sub> dégagée est pratiquement nulle. Cette phase correspond à la phase de dissolution du CO<sub>2</sub> produit dans le moût de fermentation jusqu'au point de saturation (conditions expérimentales).

**2<sup>ème</sup> Phase (4 – 30 heures) :** le point de saturation en CO<sub>2</sub> est dépassé ce qui se traduit par un dégagement du CO<sub>2</sub> avec une vitesse maximale de 2.12 g. l<sup>-1</sup>. h<sup>-1</sup>.

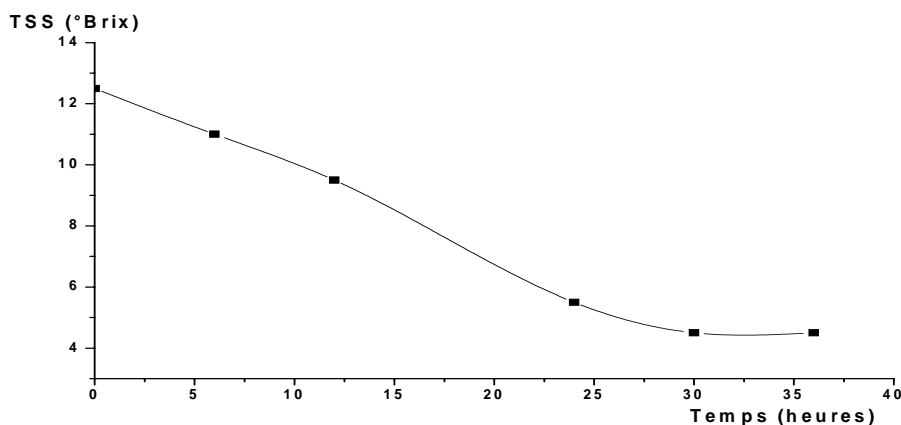
**3<sup>ème</sup> Phase (30-36 heures) :** la vitesse de dégagement du CO<sub>2</sub> est nulle indiquant la fin du processus fermentaire.

### IV-6-3-Evolution du °Brix

La variation du °Brix au cours de cette fermentation est donnée dans la figure IV-34.

Comme il a été déjà cité précédemment, le °Brix n'indique pas le taux de sucres totaux pendant le processus fermentaire. La vitesse maximale d'abaissement du °Brix est de l'ordre 0,33 g Kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (°Brix . h<sup>-1</sup>).

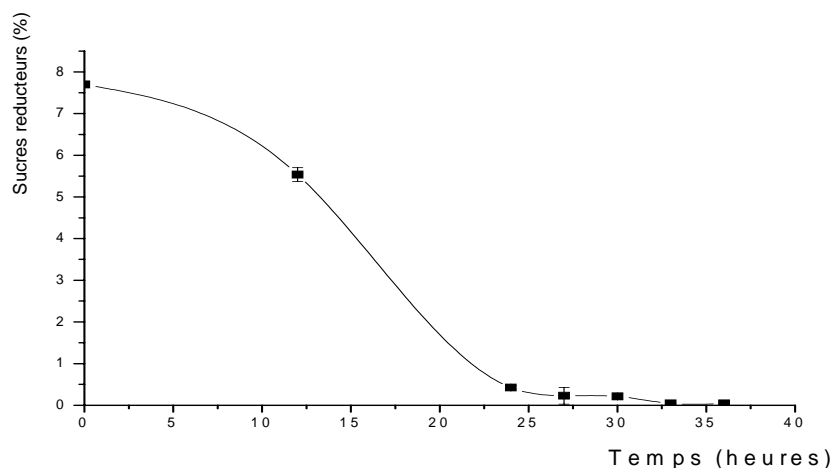
La stabilisation du °Brix à partir de la 30<sup>ème</sup> heure indique la fin de la fermentation.



**Figure IV-34 :** Evolution du °Brix au cours de la fermentation alcoolique du jus de dattes *Degla-Beida* par *S. cerevisiae*.

#### IV-6-4- Evolution des sucres réducteurs

L'évolution du taux de sucres réducteurs au cours la fermentation est représentée dans la figure IV-35.



**Figure IV-35 :** Evolution du taux de sucres réducteurs au cours de la fermentation alcoolique du jus de dattes *Degla-Beida* par *S. cerevisiae*.

Comme illustré sur la figure IV-35, les sucres réducteurs sont consommés plus précocement. A partir de la 25<sup>ème</sup> heure, l'alcool produit est issu de la fermentation du saccharose. Selon **Mehaia et Cheryan (1991)**, c'est le glucose qui s'épuise avant le fructose ce qui veut dire que la levure a plus d'affinité au glucose que le fructose.

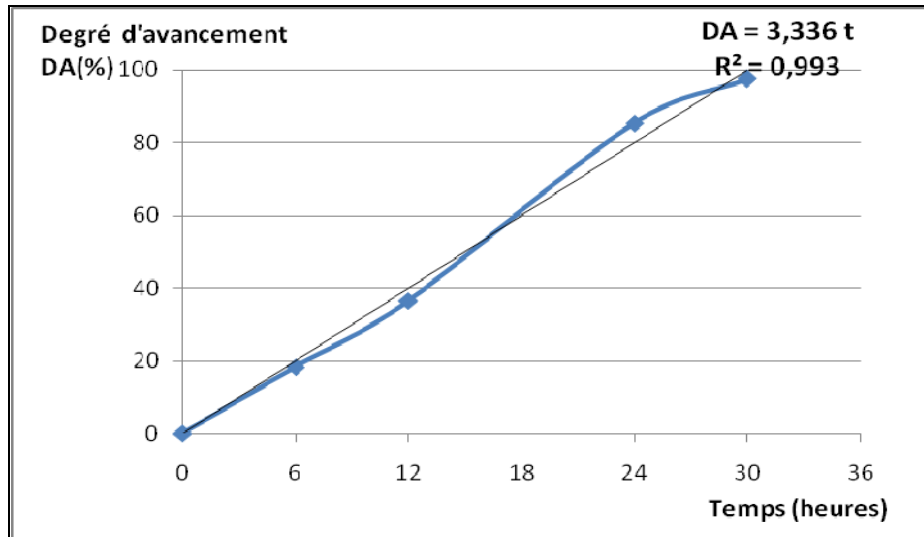
#### IV-6-5- Degré d'avancement « DA » de la fermentation

Il est possible d'exprimer le degré d'avancement de la fermentation par la formule suivante (**Barre et al., 1988**) :

$$DA \% = \frac{^{\circ}\text{Brix}(0) - ^{\circ}\text{Brix}(t)}{^{\circ}\text{Brix}(0) - ^{\circ}\text{Brix}(f)} \times 100$$

$^{\circ}\text{Brix}(0)$ ,  $^{\circ}\text{Brix}(t)$  et  $^{\circ}\text{Brix}(f)$  sont les TSS mesurés avant, au cours et à la fin de la fermentation respectivement.

La variation du DA en fonction du temps est représentée sur la figure IV-36.



**Figure IV-36** : L'état d'avancement de la fermentation en fonction du temps.

L'expression  $DA = 3.336 t$  décrit d'une manière très satisfaisante cette évolution ( $R^2 = 0.99$ ).

Tout de même, il est possible d'exprimer l'état d'avancement de cette fermentation en fonction du  $^{\circ}\text{Brix}$  du milieu, du  $\text{CO}_2$  produit, de la teneur en alcool, de la teneur en sucres résiduels.

#### IV-6-6- Corrélations entre les différents paramètres de la fermentation

Comme le montre les figures IV-37, IV-38 et IV-39, une nette concordance entre l'évolution des différents paramètres est remarquable ce qui est appuyé par des corrélations de forme linéaire.

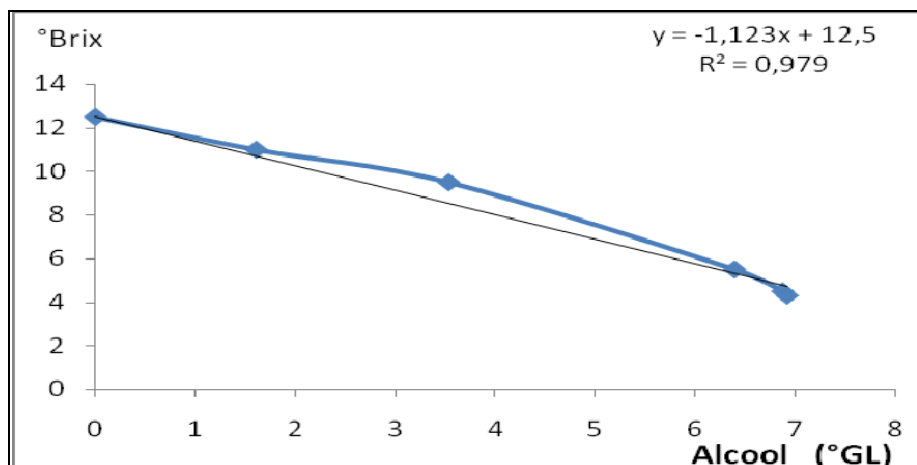


Figure IV-37: Corrélation expérimentale entre la production d'éthanol et la variation du °Brix du milieu.

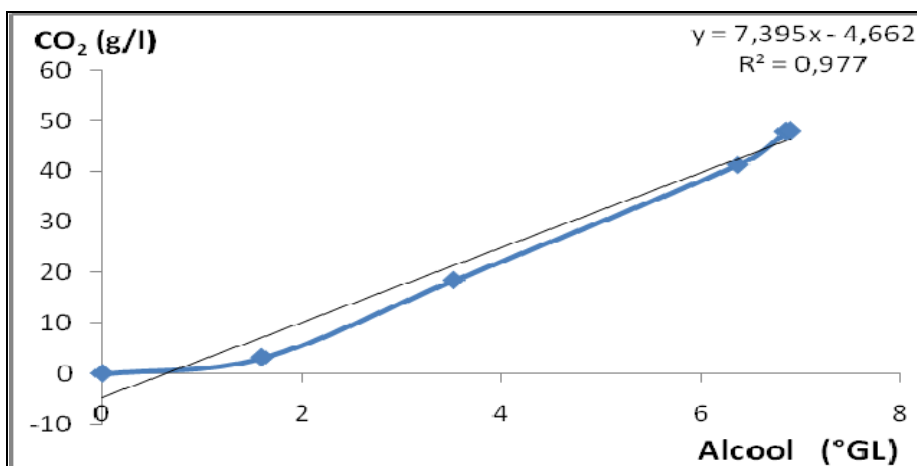


Figure IV-38: Corrélation expérimentale entre la production d'éthanol et la quantité de CO<sub>2</sub> produite.

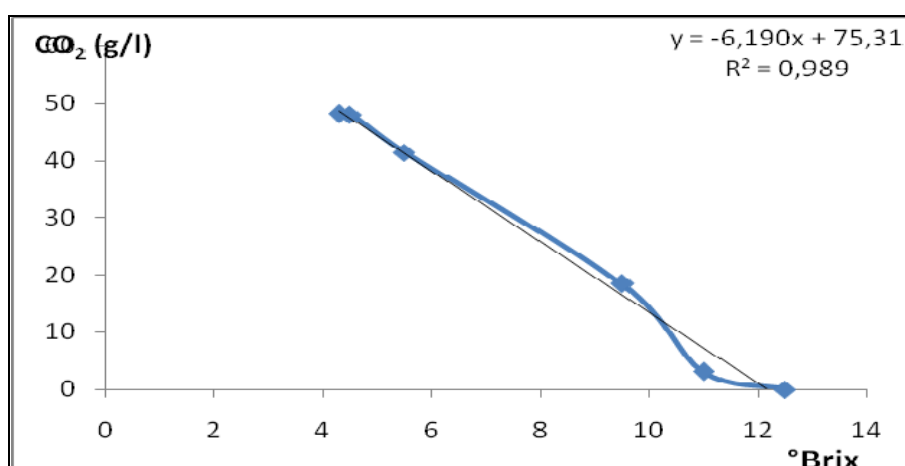


Figure IV-39: Corrélation expérimentale entre la variation du °Brix du milieu et la quantité de CO<sub>2</sub> produite.

L'utilisation des paramètres physiques dans le contrôle in situ de la fermentation alcoolique permet une détermination simultanée des concentrations de l'alcool produit et des sucres résiduels (**Barre et al., 1988**). Ce qui permettra de :

- prévoir l'état final.
- évaluer l'état d'avancement de la fermentation.
- établir la cinétique de la fermentation.
- formuler un diagnostic sur les conditions de déroulement, ce qui facilite la recherche des conditions optimales.

Les caractéristiques physicochimiques du jus de dattes ainsi fermenté sont présentées dans le tableau IV-26.

**Tableau IV-26** : Caractéristiques physicochimiques du jus de dattes fermenté.

Paramètres	Valeurs moyennes (100 ml)
Teneur en éthanol (% v/v)	6.91 ± 0.03
TSS (°Brix)	4.5 ± 0.08
Acidité titrable (g d'acide acétique)	0.26 ± 0.03
pH	4.5 ± 0.11
IB	0.67 ± 0.07

Le pH du jus reste pratiquement inchangé à la fin de la fermentation. Selon **Akin (2008)**, ayant modélisé la variation du pH au cours de la fermentation alcoolique du jus de raisins, le pH diminue pendant le début du processus sous l'effet de production des composés acides (succinique, lactique, acétique...) par la levure, puis une augmentation due principalement à la production d'éthanol qui modifie les constantes de dissociations des constituants et en particulier les acides organiques. La consommation des acides par la levure a été également soulignée par le même auteur.

Après stérilisation, l'IB du jus atteint une valeur de (0.83 ± 0.02), due essentiellement aux réactions de caramélisation et de Maillard. Au cours de la fermentation nous avons constaté un abaissement de cet indice pour atteindre à la fin de fermentation une valeur moyenne de 0.67. Cet abaissement peut être dû à la dégradation des pigments ou à leur consommation par les levures.

La teneur en alcool assure la stabilité du produit dans les conditions de stockage appropriées (**Belitz et al., 2009**).

#### IV-6-7- Calcul du rendement de la production d'alcool à partir de la datte :

Le rendement R de métabolisation de l'éthanol est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{P}{S} \times 100$$

où P est La quantité d'éthanol produite (ml) et S est la quantité de sucres initiales (°Brix).



Paramètre	Valeur
P (g /100ml)	5.45
S (°Brix)	12.50
R (%)	43.28

Le rendement de métabolisation de l'éthanol (43.28 %) est comparable à celui trouvé par **Boughnou (1988)**.

**Gaudmaris et al. (1986)** cité par **Boughnou (1988)**, précisent que dans les conditions strictement anaérobies, 1 g de sucre assure une production de 0.46 g d'éthanol.

#### **IV-6-8- Importance économique de la production d'éthanol à partir des dattes**

Les procédés biotechnologiques de la production d'éthanol sont assez simples (fermentation, distillation et enfin rectification). Du fait de ces utilisations multiples (vinaigrerie, médecine, biocarburant...), la demande en éthanol est très grande et augmente d'une année à l'autre.

Connaissant la proportion de la pulpe dans la datte (80.37 %) et le TSS dans la pulpe (75.33% MF), la quantité de dattes nécessaire pour produire 1 l d'éthanol pur est d'environ 3 Kg.

Tenant compte du prix de vente sur place des dattes communes (*Degla-Beida, Mech-Degla...*) dans les régions du sud (seulement quelques dinars au moment de la récolte), le prix de revient est très acceptable.

Comme l'Algérie est un pays importateur en cette matière, l'investissement dans cette technologie est très promoteur et constitue une véritable source de richesse (produit fini de valeurs, création d'emploi...).

De plus, le rebut et les noyaux peuvent être aussi récupérés et valorisés.

Le rebut peut servir en l'état ou séché comme aliment de bétails.

Le noyau constitue une source intéressante d'huile, connue pour ces bienfaits pour la peau: elle peut constituer, entre autres, un bon ingrédient dans les cosmétiques. Sa richesse en polyphénols est aussi un atout puisque extraits, ils peuvent substituer les antioxydants synthétiques dans diverses formulations alimentaires.

## IV-7- Fermentation acétique et mesures d'améliorations possibles du procédé traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes

### IV-7- 1- Fermentation acétique

Après plusieurs essais, nous n'avons pas abouti à acétifier le jus de dattes fermenté obtenu. En effet, la difficulté liée à la maîtrise de cette bioconversion, l'éthanol en acide acétique, peut expliquer ce résultat. D'ailleurs, à nos jours, le mode de conduite de cette fermentation reste encore trop empirique (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

Actuellement, le vinaigre est principalement produit en semi continu par des cultures submergées (**Rubio-Fernandez et al., 2004; Garcia-Garcia et al., 2007**).

Les principales étapes préconisées par le constructeur d'acétator « FRINGS » quant à la production du vinaigre à partir des moûts de vin et de fruits sont :

- **Dénaturation** : le moût est dénaturé par du vinaigre de façon à avoir une acidité initiale de 1,2 à 1,5%.
- **Le soutirage** : Le volume soutiré en fin de cycle ne doit pas dépasser la moitié du volume total. De plus le débit de chargement est d'autant plus intéressant qu'il soit faible. Après chargement du moût, l'acidité initiale est d'environ 5%.

A cet égard, il devient alors primordial de se focaliser sur l'étude du métabolisme, de la physiologie, et de la génétique des bactéries acétiques, notamment les acétobacter, de sorte à maîtriser leur utilisation. Cela consiste en (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Tesfaye et al., 2002**):

- Amélioration des fermenteurs industriels en les équipant des différents capteurs (éthanol, acidité, oxygène) ;
- Mise au point des ferments permettant de démarrer les fermentations plus rapidement ;
- Sélection des souches performantes, permettant d'atteindre des degrés acétimétriques plus élevés et des qualités organoleptiques supérieurs.

L'ensemble des problèmes rencontrés sont récapitulés dans les points suivants :

- ❖ **L'effet inhibiteur de l'alcool sur la croissance des bactéries acétiques (phase de latence très longue)** : Il est connu qu'une teneur en alcool supérieur à 40 g/l exerce un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries acétiques. Dans notre cas, Le jus de dattes fermenté renferme 54 g/l (6,9°GL).
- ❖ **La volatilisation par entrainement du produit (acide acétique) et du substrat (éthanol) de fermentation** : Selon **Rubio-Fernandez et al. (2004)**, un débit d'aération élevé pour amélioration du taux de production d'acide acétique est indésirable parce qu'il réduit le rendement du processus et les caractéristiques organoleptiques du vinaigre. dans notre cas, ce phénomène est accentué par la faible quantité du moût substrat initialement engagée.

- ❖ **La présence de levure dans le jus de dattes (centrifugation à 5000 tr/min pendant 20 min est insuffisante pour se débarrasser totalement des levures) :** la levure, en absence du sucre, peut probablement consommer l'acide acétique produit. A notre avis, il est probable que les levures entrent en compétition avec les bactéries acétiques.
- ❖ **Les difficultés liées à la maîtrise de quantité d'oxygène dissoute :** L'acide acétique produit et le taux de croissance bactérien sont fortement affectés par le taux de transfert de l'oxygène (**Rubio-Fernandez et al., 2004**)...

#### **IV-7- 2- Mesures d'améliorations possibles du procédé traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes**

Afin de surmonter cette difficulté (acétification en culture submergée) d'une part, et dans le souci d'améliorer le processus traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes, on s'est rabattu vers la fermentation spontanée (décrite dans la figure IV -10). La procédure est scindée en deux étapes :

**1-** Une fermentation alcoolique spontanée d'une mesure de dattes coupées (pulpe) dans 4 mesures d'eau de robinet est réalisée à une température de 30°C, celle-ci a permis d'atteindre une teneur en alcool de 9,2 °GL. Ce processus a duré 5 jours environ : correspondant à un arrêt presque total de dégagement du CO<sub>2</sub>.

La remarque la plus importante à tirer par cette première étape est l'absence d'un développement apparent des moisissures.

**2-** Après clarification du jus fermenté obtenu (0,7% d'acide), un échantillon d'environ 100 ml (épaisseur est 1 cm dans une fiole de 1l) placé à une température de 25 - 30 °C nous a permis d'avoir en 9 jours une acidité de 5,8%.

En réalité, ce procédé d'acétification est connu à l'échelle mondiale et correspond à ce que l'on appelle le procédé d'acétification traditionnel dit d'Orléans (voir section **II-4-2-2-1**).

## *Conclusion*

Avec un poids de  $6.19 \pm 1.06$  g pour la datte entière « *Degla-Beida* » où la pulpe constitue plus de 80 %, une longueur de  $3.65 \pm 0.47$  cm et une largeur de  $1.78 \pm 0.09$  cm : on peut affirmer qu'elle est de caractéristiques physiques très acceptables.

Le fruit de datte analysé, malgré la consistance sèche de la pulpe (14.55% d'humidité), révèle une composition très intéressante. Sa richesse, particulièrement en sucres (75°Brix MF), fait de celui-ci un fruit unique. De plus, il constitue une source intéressante en minéraux (2.56% MS), en polyphénols (6.65 mg/g EAG/MS) et est doté d'un pouvoir antioxydant remarquable (4.49 mg/g EAA MS). Quant aux protéines et lipides, la datte étudiée révèle des teneurs faibles qui sont respectivement de 2.49% et 0.27% (MS), cette dernière valeur étant favorable du point de vue conservation.

Le vinaigre traditionnel de dattes commercialisé à la région M'Zab ne répond pas aux normes préconisées par le Codex Alimentarius et les normes algérienne. D'une part, il révèle une faible acidité titrable ( $2.48 \pm 0.02\%$ ) dont la proportion de l'acidité volatile ne dépasse pas 65%. D'autre part, le taux d'alcool résiduels ( $4.83 \pm 0.07$  % v/v) est largement supérieur au seuil maximal (0.5%) accepté par ces organismes. En fait, la double fermentation traditionnelle telle que conduite au sud algérien nous paraît très empirique. Une multitude de flore incontrôlable peut y trouver un milieu de prédilection au demeurant très instable. Parmi les résultats obtenus figure justement la proposition d'une installation apte à assurer une fermentation alcoolique spontanée à 30 °C tout en évitant le développement de la flore aérobie (moisissures particulièrement).

La modélisation de l'extraction du jus de dattes, par l'application des plans d'expériences, révèle que le degré de désintégration et le temps de contact, comparés à la température, sont les facteurs les plus influents sur la diffusion des sucres (matières solubles). Toutefois, la température montre un effet plus prononcé sur l'indice de brun (IB). En outre, il existe une corrélation négative entre l'IB et le pH. Les modèles obtenus sont :

➤ le processus de diffusion des sucres :

$$^{\circ}\text{Brix}(\%) = 7.356 + 1.185T + 2.19t + 2.34D + 0.152Tt + 0.069TD + 0.156tD - 0.4146TtD$$

➤ la variation de l'IB au cours de l'extraction :

$$IB = 0.492 + 0.203T + 0.081t + 0.215D + 0.09TD + 0.024tD - 0.032TtD$$

➤ la variation du pH au cours de l'extraction :

$$pH = 5.635 - 0.293T - 0.298t - 0.267D - 0.036Tt + 0.041TD + 0.103tD + 0.095TtD$$

A la base des modèles mathématiques ainsi obtenus, un ensemble d'abaques a été tracé. Le jus de dattes obtenu peut servir de matière première pour de multiples formulations alimentaires et non alimentaires de type biologique: jus, sirop, vinaigre, alcool, production de biomasse ...

L'étude de la possibilité d'utilisation de la réfractométrie comme moyen unique pour le contrôle in situ de ce processus a révélé une bonne corrélation ( $R^2 = 0.98$ ) entre les °Brix

initial et final :  $^{\circ}\text{Brix}_f = 0.377 \times ^{\circ}\text{Brix}_i$ . De plus, nous avons vérifié la relation entre la variation du  $^{\circ}\text{Brix}$  final et initial ( $\Delta^{\circ}\text{Brix}$ ) et le degré alcoolique expérimental ( $A_{\text{exp}}$ ) :  $C_{\Delta^{\circ}\text{Brix}/A_{\text{exp}}} = 1.1$ . Ce dernier permet le traçage d'abaque d'isoréponses facilitant l'accès simultané aux taux d'alcool produit et de sucres résiduels avec une erreur relative moyenne (MRE) de 5.35%.

Le taux d'alcool atteint en fin de fermentation alcoolique provoqué (*S. cerevisiae*) du jus de dattes à 12.5 $^{\circ}\text{Brix}$  est de 6.9  $^{\circ}\text{GL}$ , et celui par la fermentation spontanée est de 9.2. Mais l'acétification n'a pas abouti ce qui démontre de sa complexité.

Comme complément à cette étude, nous recommandons :

- Détermination des composés mineurs de la datte Degla-Beida (minéraux, polyphénols...);
- Identification (caractérisation) de la flore indigène de ce fruit ;
- Recherche de toxines ou d'autres métabolites, pouvant être à l'origine d'intoxication, dans le « vinaigre » de dattes traditionnel ;
- Etude épidémiologique ;
- Perfectionnement de l'étude concernant d'utilisation de la réfractométrie dans le suivi de la fermentation alcoolique ;
- Réalisation de la fermentation acétique sur le jus de dattes fermenté issu de la fermentation alcoolique, puis caractérisation du vinaigre obtenu
- Etude économique : production du jus, alcool, vinaigre...

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Acourene, S., Buelguedj, M., Tama, M., Taleb, B., 2001. Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Ziban. *Revue Recherche Agronomique*, N° 8, Ed. INRAA, pp19-39.
- Acourene, S., Tama, M., 1997. Caractérisation physico-chimique des principaux cultivars de dattes de la région des Zibans. *Recherche Agronomique*, Vol. 1, pp. 59-66.
- Ait Ameer, 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. Mémoire de magister, Département de technologie alimentaire, Boumerdes, 80 p.
- Akin, H., 2008. Evolution du pH pendant la fermentation alcoolique de moûts de raisins : modélisation et interprétation métabolique. Thèse doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, option : Génie des Procédés et Environnement, 121 p.
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily K., Al-Amry M., Al-Rawahy F., 2007. Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 104, pp. 943–947.
- Al-Hooti, S., Sidhu, J.S., Qabazard, H, 1997. Physicochemical characteristics of five date fruit cultivars grown in the united Arab Emirates. *Journal of Plants Foods for Human Nutrition*, Vol. 50, pp. 101-113.
- Anonyme, 2002. Statistiques agricoles superficies et productions. Ministère de l'Agriculture et du développement rural, Série A palmiers dattier, pp. 5-6.
- Anonyme (Document Agriculture et Agroalimentaire Canada), 2007. Le marché mondial du vinaigre, possibilités pour les exportateurs canadiens de vinaigre. *Agriculture et Agroalimentaire, Canada*, 16 p.
- Anonyme (RAB 98/G 31: Maghreb Date Palm Project), 2004. Gestion participative des ressources génétiques du palmier dattier dans les oasis du Maghreb, Analyse des principaux marchés Européens des dattes et de leurs produits dérivés. Première partie : Analyse de l'offre, aperçu sur la situation des dattes communes dans les pays du Maghreb.
- AFNOR (NF), 1982. Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR, 325 p.
- Arslan, D., MusaOzcan, M., 2007. Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. *Journal of Energy Conversion and Management*, pp. 2-6.
- Audigié, Cl., Dupont, G., Zonszain, F., 1985. Principe des méthodes d'analyse biochimique. Edition Doin, Biologie appliquée, 190 p.



- Baena-Ruano, S., Jiménez-Ot, C., Santos-Duenas, I.M., Cantero-Mareno, D., Barja, F., Garcia-Garcia, I., 2006. Rapid method for total, viable and non-viable acetic-acid bacteria determination during acétification process. *Journal of Process Biochemistry*, vol. 41, pp. 1160-1164.
- Baléo, J. N., Bourges, B., Courcoux, Ph., Faur-Brasquet, C., & Le cloirec, P., 2003. *Méthodologie Expérimentale, Méthodes et outils pour les expérimentations scientifiques. Techniques et Documentation, Lavoisier*, 361 p.
- Barre, P., Chabas, J., Corrieu, G., Davenel A., El-Haloui, N. Grenier, P., Navarro, J.M., Picque, D., Sablayrolles, J.M., Sevilla, F., Vannobel, C., 1988. Procédé de prévision et de contrôle de la fermentation alcoolique. Office Européen des Brevets : EP 0 271 380 B1, 31p.
- Barreveled, W.H., 1993. Date Palm Products. FAO, Agricultural services, Bulletin N°101, FAO, Rome, 211 p.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P., 2009. Fruits and fruit products. in: *Journal of Food Chemistry* (chapter 18), pp. 807-861.
- Benahmed Djilali Adiba, 2007. Etude et optimisation d'un processus de fabrication traditionnelle du vinaigre a partir de deux variétés de dattes communes cultivées dans le sud algérien. Mémoire de Magister spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès.
- Benamara, S., Chibane, H., Boukhelifa, M., 2004. Essai de formulation d'un yaourt naturel aux dattes. *Journal of Industries Alimentaires et Agricoles IAA, Actualités techniques et scientifiques*, N° ½ mensuel, pp.11-14.
- Benchelah, A.-C., Maka, M., 2006. Les dattes, de la préhistoire à nos jours. *Phytothérapie (ethnobotanique) Springer*, vol N°1, pp.43 - 47.
- Benchelah, A.-C., Maka, M., 2008. Les Dattes, intérêt et nutrition. *Phytothérapie (ethnobotanique) Springer*, vol N°6, pp. 117 -121.
- Ben Thabet, I., Hamadi, A., Besbes, S., Deroanne, C., Francis, F., Drira, N.E., Christophe B., 2007. Physicochemical and Functional Properties of Typical Tunisian Drink: Date Palm Sap (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Food Biophysics*, Vol. 2, pp. 76–82.
- Berraud C., 2000. Production of highly concentrated vinegar in fed-batch culture. *Journal of Biotechnology Letters*, Vol. 22, pp. 451–454.
- Besbes, S., Drira, L., Blecker, K., Deroanne, C., Hamadi, A., 2009. Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): compositional, functional and sensory characteristics of date jam. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 112, pp. 406-411.
- Biglari, F., Al-Karkhi Abbas, F.M., Mat, E.A., 2008. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits from Iran. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 107, pp.1636–1641.

- Blancou, J., Vin-Niveaux, P., 2006. Relations historiques et anecdotiques sur les anciens traitements par les plantes des maladies infectieuses et parasitaires des animaux. *Journal of Phytotherapie*, N° 2, pp. 74-82.
- Bonaz, B., Mathieu, N., Chambron, E., 2007. Nutrition et maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin. *J. Afr Hepato Gastroenterol*, vol. 3-4, pp. 136-140.
- Booij, I., Piombo, G., Risterucci, J. M., Coupe, M., Thomas, D., Ferry, M., 1992. Etude de la composition chimique de dates à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Fruits*, vol. 47, N° 6, pp. 667-677.
- Boughnou, N., 1988. Essai de production du vinaigre à partir des déchets de dattes. Thèse Magister INA El-Harrach, 82 p.
- Bourgeois, C.M., Larpent, J.-P., 1996. *Microbiologie Alimentaire : aliments fermentés et fermentations alimentaires (Tome 2)*. Edition Techniques et documentations, 623 p.
- Bourgeois, C., 2003. *Les vitamines dans les industries agroalimentaires*. Ed. Tech et Doc-Lavoisier, Paris, 483 p.
- Branger, A., 2008. Fabrication des produits alimentaires par fermentation : les ferments. technique de l'ingénieur F 3500, 1-16 p.
- Buelguedj, M., 2001. Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-Est Algérien., INRAA El-Harrach N° 11, Alger, 289 p.
- Callejón, R.M., Tesfaye, W., Torija, M.J., Mas, A., Troncoso, A.M., Morales, M.L., 2009. Volatile compounds in red wine vinegars obtained by submerged and surface acetification in different woods. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 113, pp. 1252-1259.
- Carreño, S. A.C., Aristizábal, L. M., 2003. Utilisation de bananes plantain pour produire du vin. *INFOMUSA, Revue Internationale sur Bananiers et Plantains*, Vol.12 N°1, 58 p.
- Chaibi, N., Ben Abdallah, A., Harzellah, H., Lepoivre, P., 2002. Potentialités androgénétiques du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. en culture in vitro d'anthères. *Journal of Biotechnol. Soc. Environ.*, Vol. 6 (4), pp. 201-207.
- Chaira, N., Ferchichi, A., Mrabet, A., Sghairoun, M., 2007. Chemical composition of the flesh and the pit of date palm fruit and radical scavenging activity of their extracts. *Journal of Pakistan journal of Biological Sciences*, Vol. 10 (13), pp. 2202-2207.
- Cheftel, J.C., Cheftel, H., 1992. *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*. Edition Techniques et documentations- Lavoisier, Vol. 1, 381 p.
- Chekroune, M., 2008. Etude comparative de deux techniques de séchage (convection et micro-onde) par application des plans d'expérience : Cas du fruit de datte. *Memoire de Magister, spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès*.

- Chiaromonti, N., Khoumeri, B., Balbi, N.H., Balbi, J., 1997. Fermentation alcoolique : Détermination des grandeurs thermodynamiques par modélisation. *Journal of Thermal Analysis*, Vol. 48, pp. 413-425.
- Chibane, H., Benamara, S., Noui, Y., Djouab, A., 2007. Some physicochemical and morphological characterisation of three varieties of Algerien commun dates. *European journal of scientific research*, vol.18 N° 1, pp. 134-140.
- Chibane, H., 2008. Aptitudes Technologiques de Quelques Variétés Communes de Dattes : Formulation d'un Yaourt Naturellement Sucré et Aromatisé. Thèse de doctorat spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès.
- Cook, J.A., Furr, J.R., 1952. Sugars in the fruits of soft, semi-dry and dry commercial date varieties. *Date Grower's Institute Report*, 29, pp. 3-4.
- Decloux, M., 2008. Procédés de transformation en sucrerie (partie 1). *Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire F 6 150*, pp. 1-18.
- Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K., Maïga, A., 2004. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie* 7, pp. 1073-1080.
- Djerbi, M., 1994. Précis de phoeniciculture : FAO ; 192 p.
- Djouab, A., 2007. Contribution à l'identification des constituants mineurs de la datte Mech-Degla. Essai de valorisation par incorporation dans une recette de margarine allégée. *Memoire de Magister spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès*.
- El Hadrami, A., El Idriss, T., El Hassni, M., Daayf, F., El Hadrami, I., 2005. Toxin-based in-vitro selection and its potential application to date palm for resistance to the bayoud Fusarium wilt. *C. R. Biologie* 328, pp. 732-744.
- Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N.E., Hamadi, A., 2008. Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 111, pp. 676-682.
- Espiard, E., 2002. Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc Lavoisier, pp147-155.
- Estanove, P., 1990. Note technique : Valorisation de la datte. Option Méditerranéennes. Série A.N° 11. Les systèmes Agricoles Oasiens. Ed *IRFA-CIRAD* France.
- Garcia-Garcia, I., Cantero-Moreno, D., Jiménez-ot, C., Baena-Ruano, S., Jiménez-Hornero, J., Santos-Duenas, I., Bonilla-Venceslada, J., Barja, F., 2007. Estimating the mean acetification rate via on-line monitored changes in ethanol during a semi-continuous vinegar production cycle. *Journal of food engineering*, Vol. 80, pp. 460-464.
- Gilles, P., 2000. Cultiver le palmier dattier. Edition CIRAS, pp. 110.
- Goupy, J., 2001. Introduction aux plans d'expériences. Dunod, Paris, 2<sup>ème</sup> édition , 293 p.

- Guattieri, M., Rapaccini, S., 1994. Date stones in broiler's feeding. In Technologie de la datte. Ed. GRIDAO, 35 p.
- Guiraud J.P., 1998. Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD, Paris, 615 p.
- Hamad, A.M., Mustafa, A.I., El. Kahtan, M.S., 1983. Effect of Na beta-sulfite alone and in Combination with Na-benzoate on the microbial flora and quality of six soft date varieties. The first symposium on the date palm king Faysal Universiy Al-Hassa-Kingdom of Saudi Arabia, pp. 480-495.
- Hinneburg, I., Damian Dorman, H.J., Hiltunen, R., 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Journal of Food Chemistry 97, pp. 122-29.
- Hussein, F., Moustafa, S., El-Kahtani, M., El-Samiraie, F., El-Zeid, A., 1974. Studies on physical and chemical characteristics of eighteen date cultivars grown in Saudi Arabia. Kingdom of Saudi Arabia, Ministry of Agriculture, Research Bulletin N° 4, pp. 5-18.
- Hou-yin Wang, Xiao-song Hu, Fang Chen, Ji-hong Wu, Zheng-hua Zhang, Xiao-jun Liao, Zheng-fu Wang, 2006. Kinetic analysis of non-enzymatic browning in carrot juice concentrate during storage. Journal of Eur. Food Res. Technol., Vol. 223, pp. 282–289.
- Jha, S.N., Kingsly, A.R.P., Sangeeta, C., 2006. Physical and mechanical properties of mango during growth and storage for determination of maturity. Journal of Food Engineering, Vol. 72, pp. 73–76.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F., 2006. The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. Meat Science, 72, pp 446-456.
- Kaidi, F., Touzi A., 2001. Production de bioalcool a partir des déchets de dattes. Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse, pp.75-78.
- Kendri, S., 1999. Caractéristiques biochimiques de la biomasse "*Saccharomyces cerevisiae*" produite à partir des dattes « Variété Ghars ». Mémoire d'Ingénieur. Département d'agronomie, Batna ; 51 p.
- Khalil, K.E., Abd-El-Bari, M. S., Hafiz, N. E., Entsar, Y. A., 2002. Production, evaluation and utilization of date syrup concentrate (Debis). Egypt. J. Food Sci. 30 N° 2, pp. 179-203.
- Kerstens Karel, Lisdiyanti Puspita, Komagata Kazuo, Swings Jean, 2006. The Family Acetobacteraceae: The Genera Acetobacter, Acidomonas, Asaia, Gluconacetobacter, Gluconobacter, and Kozakia. Journal of Prokaryotes 5, Chapter 3.1.8, pp. 163–200.
- Komia, M., 1996. Produire du vinaigre avec des produit tropicaux : c'est simple et peu couteux. Bulletin du réseau T.P.A. N° 19.
- Lapornik, B., Prosek, M. Wondra, A.L., 2004. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. Journal of Food Engineering, Article in press.

- Larparent-Gourgaud, M., Sanglier, J.J., 1992. *Biotechnologies : principes et méthodes. Biosciences et Techniques*, Doin éditeur-paris, 21 p.
- Larparent, J.P., 1991. *Biotechnologie des levures*. Ed *Masson*, Paris, 421 p.
- Larparent J.P., 1997. *Microbiologie Alimentaire : techniques de laboratoire*. Edition Tec & Doc ; 1073 p.
- L.D., 2007 ; Du vinaigre pour sauver des vies. *Revue de Biotribune « Springer 2007 »*, Vol. 23 - trimestriel septembre 2007, pp. 4.
- Linden, G., 1991. *Techniques d'analyses et de contrôles dans les industries agroalimentaires*. Edition Tec et Doc, 2<sup>ème</sup> édition, pp. 48-52.
- Mansouri Abdelhak, Embarek Guendez, Kokkalou Eugene, Kefalas Panagiotis, 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Journal of Food Chemistry*, Vol. 89, pp. 411–420.
- Matheis, W., Bourgeois, J., Caperos, J., Feusi, J., Girard, J.-M., Helbling, J., Hischenhuber, C., 1995. *Vinaigre de fermentation*. MSDA (manuel suisse des denrées alimentaires).
- Mehaia, M.A., Cheryan, Munir, 1991. Fermentation of date extracts to ethanol and vinegar in batch and continous membrane reactors. *Journal of Enzyme Microb. Technol*, Vol. 13, pp. 257-261.
- Meligi, M.A., Sourial, G.F., 1982. Fruit quality and general evaluation of some Iraqi date palm cultivars grown under conditions of barrage region. Ed : First symposium on the date palm, Saudi-Arabia, 23-25 March, pp. 212-220.
- Mélarde, G., 1991. *Statistique et mathématiques appliquées : Méthodes de prévision à court terme*. *Ellipses, Paris*, pp. 171-389.
- Mohammed, S., Shabana, H.R., Mawloud, E.A., 1983. Evaluation and identification of Iraqi date cultivars. Fruits characteristics of fifty cultivars. *Journal of Date Palm Journal*, Vol. 2, pp. 27-55.
- Meunier, P., 1973. *Le palmier dattier*. Ed. MAISONNEUVE, Paris, 221 p.
- Noui, Y., 2007. *Caractérisation physico-chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla*. *Memoire de Magister spécialité génie alimentaire*, Université de Boumerdès.
- Ould El Hadj, M.D., Sebihi, A.H., Siboukeur, O., 2001. Qualité hygiénique et caractéristiques physicochimiques du vinaigre traditionnel de quelques variétés de dattes de la cuvette de Ouergla. *Rev. Energ. Ren. : Production et valorisation – Biomasse*, pp. 87-92.
- Owen, P.L., Johns, T., 1999. Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 64, pp. 149-160.

- Polat, A.A., Caliskan, O., 2008. Fruit characteristics of table fig (*Ficus carica*) cultivars in subtropical climate conditions of the Mediterranean region. *Journal of New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science abstracts*, Vol. 36, pp. 107–115.
- Quigping Xu, Wenyi Tao, Zanghua Ao, 2007. Antioxidant activity of vinegar mélanoidins. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 102, pp. 841-849.
- Rémésy, C., 2008. Sucres simples purifié´s versus sucres des fruits, ont-ils les mêmes effets métaboliques. *Journal of Phytothérapie*, Vol. 6, pp. 91–95.
- Reynes, M., Bouabidi, H., Piombo, G., Risterucci, A.M., 1994. Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djérid en Tunisie. *Journal of Fruits*, Vol. 49, pp. 289-298.
- Rodier, J., 1997. L'analyse de l'eau, eau naturelles, eau résiduaires, eau de mer. Ed. DUNOD, 8<sup>ème</sup> édition, pp. 57-65.
- Roig, B., Thomas, O., 2003. Rapid estimation of global sugars by UV photodegradation and UV spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* 477, pp. 325-329.
- Roukas, T., Kotzekidou, P., 1997. Pretreatment of date syrup to increase citric acid production. *Journal of Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 21, pp 273-276.
- Rubio-Fernandez, H., Salvador, M.D., Fregapane, G., 2004. Influence of fermentation oxygen partial pressure on semicontinuous acetification for wine vinegar production. *Journal of Eur. Food Res. Technol.*, Vol. 219, pp. 393–397.
- Sakanaka, S., Ishihara, Y., 2008. Comparaison of antioxidant propertes of persimmon vinegar and some other vinegars in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates. *Journal of Food Chemistery*, Vol. 107, pp 739-744.
- Schimmerling, P., Sisson, J.C., & Zaidi, A., 1998. *Pratique des plans d'expériences. Technique et Documentation*, Lavoisier, pp. 61-438.
- Schmid Rolf, D., 2005. *Atlas de poche de Biotechnologie et de Génie Génétique*. Editions Flammarion , pp. 175-200.
- Selselet, G., 1990. Les progresses à réaliser en matière de stockage au froid en Algérie. *Algérie verte*, Vol. 13, pp. 14-17.
- Simon, P., Meunier R., 1970. *Microbiologie industrielle et génie biochimique*. édition Masson et C<sup>ie</sup> , paris.
- Tesfay, W., Morales, M.L., Garcia-Parrilla, Troncoso, A.M., 2002. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation; *Journal of Trends in Food Science & Technology*, Vol. 13, pp. 12-21.
- Touzi, A., 1997. Valorisation des produits et sous-produits de la datte par les procédés biotechnologiques. Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte", CIHEAM - Options Méditerranéennes, pp. 214.
- Véret Claude, 2008. Réfractométrie. *Technique de L'ingénieur R 6300*, pp. 1-12.

Voca Sandra, Dobricevic Nadica, Dragovic-Uzelac Verica, Duralija Boris, Druzic Jasmina, Cmelik Zlatko, Skendrovic Babojelic Martina, 2008. Fruit Quality of New Early Ripening Strawberry Cultivars in Croatia. *Journal of Food Technol. Biotechnol.*, Vol. 46 (3), pp. 292-298.

Xu Qingping, Tao Wenyi, Ao Zonghua, 2007. Antioxidant activity of vinegar mélanoidines. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 102, pp. 841-849.

Zamora F., 2009. Biochemistry of Alcoholic Fermentation (chapter 1). *Journal of Wine Chemistry and Biochemistry*, 26 p.

Zehdi, S., Pintaud, J.C., Billotte, N., Ould Mohamed Salem, A., Sakka, H., Rhouma, A., Marrakchi, M., Trifi, M., 2006. Etablissement d'une clé d'identification variétale chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par les marqueurs microsatellites. *Bulletin des Ressources Phytogénétiques (IPGRI/FAO)*, Issue N°145, pp. 11- 18.

Zhongxiang Fang, Yuhan Zhang, Yuan Lü, Guangpeng Ma, Jianchu Chen Donghong Liu, Xingqian Ye, 2009. Phenolic compounds and antioxydant capacities of bayberry juices. *Journal of Food Chemistry* 113, pp. 884-888.

### **Sites Internet**

[www.fao.org](http://www.fao.org)

[www.santeguerir.fr](http://www.santeguerir.fr)

[www.medicalservices.com](http://www.medicalservices.com)

# *Annexes*



## I- Les plans d'expérience

L'industrie agroalimentaire, devant l'amélioration ou la création d'un nouveau produit, accorde ces dernières années une place importante à l'organisation des essais expérimentaux. La démarche traditionnelle pas à pas était basée sur le savoir-faire et le bon sens de l'expérimentateur. Cela engendrait de nombreux essais et un temps considérable pour atteindre parfois des résultats difficilement interprétables.

Cependant, les exigences du client sur le plan qualité et goût d'une part et la course des entreprises vers des réductions des coûts de développement d'autre part, nécessitent l'utilisation d'une approche scientifiquement rigoureuse : un « **plan d'expériences** » (Baléo *et al.*, 2003 ; Goupy, 2001).

Le plan factoriel complet permet une modélisation linéaire d'une expérimentation. Dans cette annexe nous allons donner la définition d'un plan factoriel complet  $2^k$ , ainsi que les différentes étapes de la modélisation.

### 1- Définitions

Le terme « **plans d'expériences** » vient de l'anglais « Experiments Design » qui se traduit par «conception des expériences » (Schimmerling *et al.*, 1998) ».

Selon Fisher (mathématicien), les plans d'expériences constituent « un essai technologique d'utilisation maximale des données » (Schimmerling *et al.*, 1998).

Un plan est dit factoriel, lorsque les niveaux de tous les facteurs, qualitatifs ou quantitatifs sont codés. Un plan factoriel est dit « **plan factoriel total** » ou « **plan factoriel complet** » lorsque toutes les combinaisons distinctes des niveaux des facteurs sont toutes présentes (Schimmerling *et al.*, 1998).

### 2- Plan factoriel complet $2^k$ : planification

Le nombre d'expériences à réaliser lors de l'application d'un plan factoriel complet à deux niveaux est donné par la formule ci-dessous (Goupy, 2001) :

$$N = 2^k \quad (1)$$

Où  $k$  est le nombre de facteurs et 2 nombre de niveaux des facteurs.

Le modèle décrivant le comportement d'un système dont la réponse  $Y$  est une variable dépendant de  $p$  facteurs influents  $(x_1, x_2, \dots, x_p)$  est donné par la formule suivante (Baléo *et al.*, 2003) :

$$Y = f_{\beta}(x_1, x_2, \dots, x_p) + \varepsilon \quad (2)$$

Avec  $\beta$  est l'ensemble des paramètres caractérisant la forme de la fonction  $f_{\beta}$  et  $\varepsilon$  est le terme d'erreur.

L'objectif étant d'estimer les paramètres du modèle par l'application du plan factoriel complet à deux niveaux en minimisant l'erreur  $\varepsilon$  (Baléo *et al.*, 2003).

La démarche à suivre est la suivante :

**2-1- La fixation du nombre de facteurs à examiner ainsi que le nombre de niveaux qu'il faut leur donner (Schimmerling *et al.*, 1998).**

## 2-2- La codification des niveaux des facteurs du plan

La codification se fait par les signes (-) et (+) pour les niveaux bas et haut de chaque facteur respectivement. Ces variables sont dites centrées réduites ou codées (**Goupy, 2001**).

La formule ci-dessous permet de passer des variables courantes aux variables centrées réduites (codées) (**Goupy, 2001**).

$$x = \frac{(A - A_0)}{pas} \quad (3)$$

Où x est la variable centrée réduite mesurée avec le pas comme unité ; A est la variable courante mesurée en unités habituelles et  $A_0$  est la valeur (mesurée en unité habituelle) que prend la variable courante au milieu du domaine (au point choisi comme origine pour la variable centrée réduite).

$$A_0 = (X_i \text{ sup} + X_i \text{ inf})/2 \quad (4)$$

Le « *pas* » est la valeur correspondant à l'unité de la variable centrée réduite mesurée en unités d'origine.

$$pas = (X_i \text{ sup} - X_i \text{ inf})/2 \quad (5)$$

## 2-3- La randomisation des essais

La randomisation des essais a pour résultat de rendre aléatoire la répartition des erreurs systématiques et de permettre ainsi l'application des tests statistiques (qui prennent pour hypothèse de base la distribution au hasard des erreurs). Elle contribue à rendre faible l'erreur **aléatoire** (**Goupy, 2001**).

## 2- 4- La réalisation des essais

La réalisation des essais en contrôlant au mieux les facteurs externes : à cette étape les répétitions sont nécessaire car elles permettent de réduire l'incertitude sur les estimations des coefficients du modèle et par conséquent sur les prévision pour des combinaisons observées (**Schimmerling et al., 1998**).

Les différents résultats obtenus sont portés dans un tableau appelé matrice des expériences (**Goupy, 2001**).

## 2-5- Test de Cochran d'homogénéité des variances

Le test de Cochran permet de tester l'homogénéité des variances pour des échantillons composés d'un même nombre de résultat (**Schimmerling et al., 1998**)

La valeur critique (calculée) ;  $C(m, N, \alpha = 0.05)$  du critère :

$$C = \frac{\sigma_{u \max}^2 \{y\}}{\sum_{1 \leq u \leq N} \sigma_u^2 \{Y\}} \quad (6)$$

$$\sigma_u^2 \{y\} = \frac{\sum_{u=1}^N (Y_{ui} - \bar{Y}_u)^2}{(m-1)} \quad (7)$$

$\sigma_{u \max}^2 \{y\}$  : La variance maximale observée sur les échantillons ;

$\sigma_u^2 \{y\}$  : est la variance de l'échantillon (variance des expériences dans chaque point) ;

$N$  : est le nombre d'échantillon (d'expériences) ;

$\alpha$  : est la probabilité de l'erreur de 1<sup>ère</sup> espèce ;

$u$  : Numéro de l'expérience ;

$m$  : Nombre de répétition (la taille de chaque échantillon) ;

$Y_{ui}$  : Valeur du paramètre d'optimisation dans la  $u^{\text{ème}}$  expérience à la  $i^{\text{ème}}$  répétition ;

$\bar{Y}_u$  : Valeur moyenne du paramètre d'optimisation dans la  $u^{\text{ème}}$  expérience.

Le choix du diviseur  $(m-1)$  vient du fait qu'il y a seulement  $(m-1)$  mesures indépendantes pour calculer la variance, car il existe une relation entre les  $m$  mesures initiales : la relation de définition de la moyenne (**Goupy, 2001**).

Lorsque  $C_t(N, P=0.95, v=m-1) > C$ , on rejette l'hypothèse d'égalité des variances au risque  $\alpha$ , les variances sont homogène et l'expérience est dite reproductible.

Si les variances ne sont pas homogènes, on vérifiera l'absence de mesures aberrantes pour la ou les combinaisons présentant une variance maximale et nous retestons à nouveau l'homogénéité des variances (**Schimmerling et al., 1998**).

## 2-6- Calcul des coefficients du modèle par la régression linéaire multiple RLM

Cette méthode est la plus simple et la plus utilisée lorsqu'on cherche à établir la relation entre une variable expliquée et un ensemble de variables explicatives (**Baléo et al., 2003**).

Cette méthode prend pour hypothèse la linéarité du modèle par rapport aux paramètres inconnus à estimer (**Baléo et al., 2003**).

Les coefficients se calculent ainsi :

$$b_0 = \sum_{u=1}^N \bar{Y}_u / N \quad (8)$$

$$b_i = \sum_{u=1}^N \bar{Y}_u \times X_{iu} / N \quad (9)$$

$$b_{ij} = \sum_{u=1}^N \bar{Y}_u \times X_{iu} \times X_{ju} / N \quad (10)$$

$X_{iu}, X_{ju}, X_{ku}$  : Valeurs codées des facteurs ; dans la  $u^{\text{ème}}$  expérience ;

$\bar{Y}_u$  : Valeur moyenne des paramètres d'optimisation dans la  $u^{\text{ème}}$  expérience ;

$N$  : Nombres d'essai.

Ce n'est pas par chance que l'on peut calculer ci facilement effets et interactions, mais c'est une conséquence des modèles mathématiques qui sont sous-jacents à la théorie des plans d'expériences (**Goupy, 2001**).

### 2-7- Test de signification des paramètres

L'hypothèse est que la vraie valeur du paramètre  $\beta_j$  est nulle alors  $t_j$  suit une loi de Student à  $\nu = (N(m-1))$  degré de liberté. Le test consiste à comparer  $t_j$  au seuil  $t_{1-\alpha/2}^{N(m-1)}$  (**Baléo et al., 2003**).

Quand le nombre de données  $N$  est petit, il est préférable d'employer le quantile d'ordre  $(1-\alpha/2)$  de la loi de Student, où  $\alpha$  est le niveau de signification choisi (**Mélard, 1991**).

La valeur calculée du critère de Student est :

$$t_j = \frac{|b_j|}{\sigma_{b_j}} \quad (11)$$

$$\sigma^2\{b_j\} = \frac{\sigma_1^2\{Y\}}{N \times m} \quad (12)$$

$$\sigma_{b_j} = \sqrt{\sigma^2\{b_j\}} \quad (13)$$

$$\sigma_1^2\{Y\} = \frac{\sum_{u=1}^N \sigma_u^2\{Y\}}{N} \quad (14)$$

$\sigma_1^2\{y\}$  : La moyenne des variances de la série (variance de reproductibilité) ;

$|b_j|$  : Valeur absolue du coefficient  $b_j$  ;

$\sigma_{b_j}$  : L'écart type du coefficient  $b_j$ .

Pour l'équation factorielle totale  $\sigma^2\{b_j\} = \text{constante}$ .

Ce test est dit bilatéral (on n'a pas a priori une idée sur le signe du coefficient dans la population), c'est-à-dire qu'on rejette l'hypothèse à tester que le coefficient soit positif ou négatif et de valeur absolue trop grande (**Mélard, 1991**).

Si  $|t_j| > t_{1-\alpha/2}^{N(m-1)}$ , l'hypothèse  $\beta_j = 0$  est fautive et doit être rejetée, on considère que la valeur observée de  $b_j$  est significative.

Si  $|t_j| < t_{1-\alpha/2}^{N(m-1)}$ , alors l'hypothèse  $\beta_j = 0$  ne peut être exclue et doit être conservée, la valeur observée de  $b_j$  n'est pas significative (**Baléo et al., 2003**).

### 2-8- Vérification de l'adéquation du modèle mathématique

Il s'agit de vérifier si le modèle estimé explique correctement les variations de la réponse observée (Schimmerling et al., 1998).

**2-8-1- Le test de Fisher-Snedecor**

La valeur calculée du critère de Fisher est donnée par :  $F_c = \frac{\sigma_2^2\{Y\}}{\sigma_1^2\{Y}}$  (15)

$$\sigma_2^2\{Y\} = \frac{m \times \sum_{i=1}^N (\bar{Y}_i - Y_{ic})^2}{N - Z_s} \quad (16)$$

$F_c > 1$ , pour les valeurs de F comprises entre 0 et 1, on a :

$$F_{1-p}(v_1, v_2) = \frac{1}{F_p(v_2, v_1)} \quad (17)$$

$\sigma_1^2\{Y\}$  : La moyenne des variances de la série ;

$\sigma_2^2\{Y\}$  : La variance d'adéquation ;

$\bar{Y}_i$  : Valeur moyenne du paramètre d'optimisation dans la  $i^{\text{ème}}$  expérience ;

$Y_{ic}$  : Valeur du paramètre d'optimisation dans la  $i^{\text{ème}}$  expérience, calculée d'après le modèle mathématique obtenu ;

$m$  : Le nombre de répétitions ;

$N$  : Le nombre d'expériences ;

$Z_s$  : Le nombre de coefficients significatifs dans le modèle mathématique.

Si  $F_c < F_i(\alpha = 0.05, v_1, v_2)$ , le modèle obtenu est adéquat ;

Si  $F_c > F_i(\alpha = 0.05, v_1, v_2)$ , le modèle n'est pas adéquat, il faut passer à la recherche d'un modèle plus complexe.

**2-8-2-** Une autre méthode pour contrôler la validité du modèle consistant à réaliser des mesures au centre du domaine expérimental. On compare ainsi la moyenne calculée à partir du modèle et la moyenne mesurée, si les deux valeurs sont proches (l'écart est acceptable) cela signifie que le modèle est valide sinon il faut chercher un modèle plus complexe (**Goupy, 2001 ; Schimmerling et al., 1998**).

Le modèle mathématique ne présente pas la même précision dans tous le domaine expérimental, c'est au point central qu'il est le plus précis (**Goupy, 2001**).

**A- Coefficient de corrélation et coefficient de détermination**

Le coefficient de corrélation entre x et y, r ou  $r_{xy}$ , se définit comme suit :

$$r_{xy} = \frac{S_{xy}}{S_x S_y} \quad (18)$$

Le coefficient de détermination est le carré du coefficient de corrélation

$$R^2 = r_{xy}^2 = \left( \frac{S_{xy}}{S_x S_y} \right)^2 \quad (19)$$

$r$  est compris entre -1 et 1, plus précisément  $-1 \leq r \leq +1$

$r$  : Proche de zéro indique que x et y sont peu liées ;

$r$  : Proche de 1 indique que x et y sont fortement liées linéairement, en sens direct ;

$r$  : Proche de -1 indique que x et y sont fortement liées linéairement, en sens contraire.

### B- Calcul de l'erreur expérimentale S et le l'erreur relative moyenne MRE et l'erreur SSE (somme des écarts au carré)

- *L'erreur expérimentale est calculée comme suit :*

$$S = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_1^N (y_i - \bar{y})^2} \quad (20)$$

où  $\bar{y}$  est la valeur calculée par le modèle mathématique,  $y_i$  est la valeurs expérimentales et N le nombre de répétitions.

- *MRE ET SSE sont calculées selon les formules suivantes :*

$$MRE = \frac{1}{N} \left( \sum \frac{(R_{\text{exp}} - R_{\text{calc}})}{R_{\text{calc}}} \right) * 100 \quad (21)$$

$$SSE = \sqrt{\sum (R_{\text{exp}} - R_{\text{calc}})^2 / N} \quad (22)$$

où  $R_{\text{exp}}$  est la valeur expérimentale,  $R_{\text{calc}}$  est la valeur prédite (calculée) par le modèle et N le nombre de répétitions.

### 3- Utilité du plan 2<sup>k</sup>

Les plans factoriels sont les seuls qui permettent l'étude des modèles matriciels complets.

L'avantage de ces plans est qu'ils fournissent l'effet lui même avec son signe. L'interprétation est beaucoup plus facile.

D'une manière générale, le modèle peut servir à 2 utilisations principales :

- Identifier la meilleure combinaison des niveaux des facteurs ;
- Etablir des prévisions.

Lorsque le nombre de facteur devient supérieur à 4 ou 5, ils conduisent à un nombre de combinaisons jugé en général trop élevé, même si le nombre de niveaux des facteurs est limité à 2 (Schimmerling *et al.*, 1998).

## Les courbes d'étalonnages

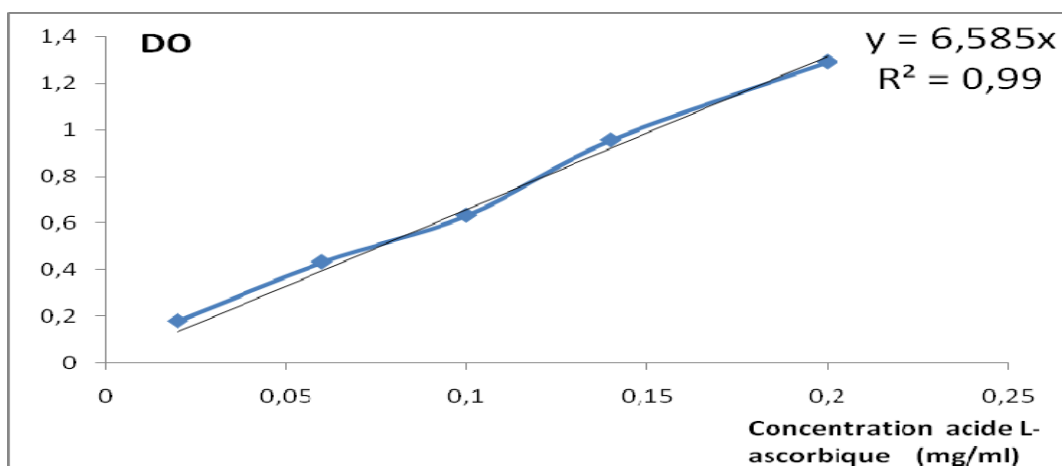


Figure A-1 Courbe d'étalonnage de la vitamine C (pouvoir réducteur).

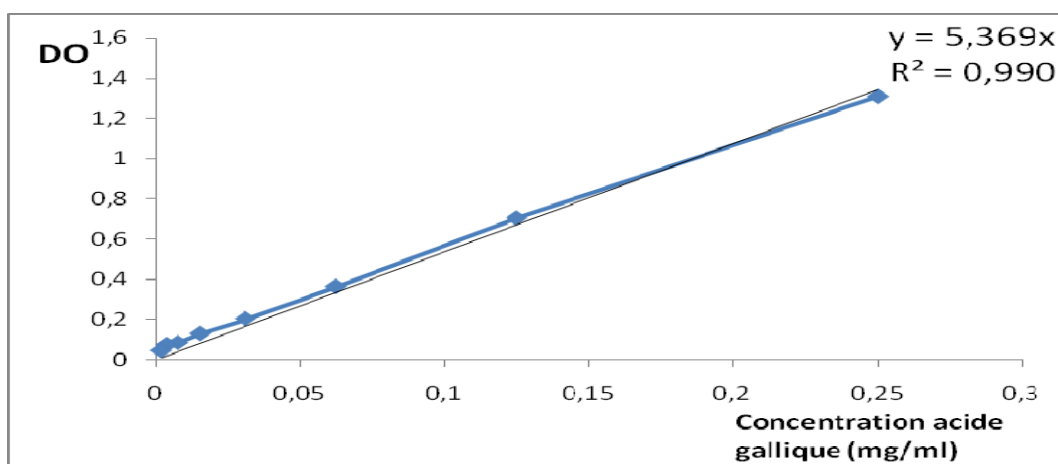


Figure A-2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Dosage des polyphénols totaux).

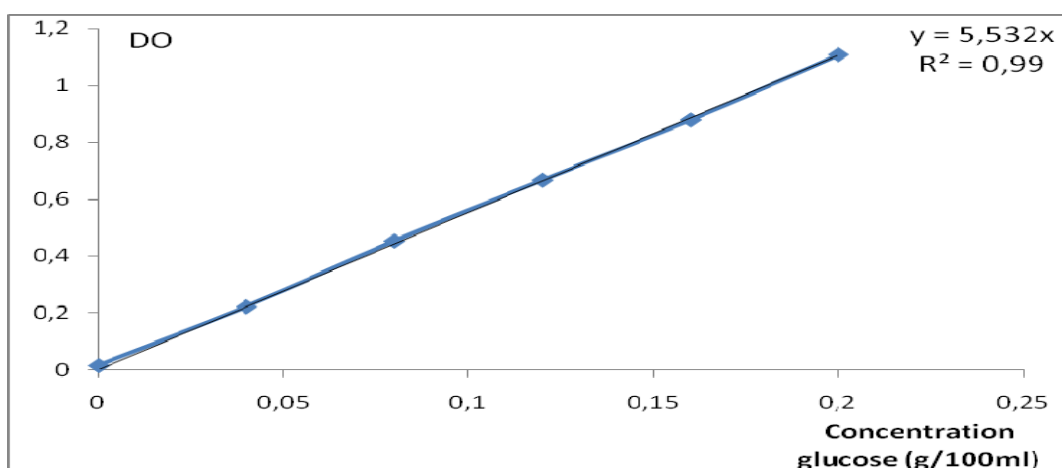


Figure A-3 : Courbe d'étalonnage du glucose (sucres réducteurs par la méthode de DNS).

**Tableau A-1** : Matrice d'expériences, et détermination des effets des différents paramètres.

N <sup>o</sup>	M	G	F	A	GF	FA	GA	GFA	°BRIX	IR
1	+	-	-	-	+	+	+	-	0	1,333
2	+	+	-	-	-	+	-	+	9,7	1,3472
3	+	-	+	-	-	-	+	+	9,75	1,3473
4	+	+	+	-	+	-	-	-	18,75	1,3618
5	+	-	-	+	+	-	-	+	1,1	1,3346
6	+	+	-	+	-	-	+	-	10,15	1,35
7	+	-	+	+	-	+	-	-	11,5	1,352
8	+	+	+	+	+	+	+	+	19,9	1,364
<b>EFFETS (°Brix)</b>	<b>10,11</b>	<b>4,519</b>	<b>4,869</b>	<b>0,556</b>	-0,17	- 0,04	0,281	- 0,11		
<b>EFFETS (IR)</b>	<b>1,34874</b>	<b>0,00701</b>	<b>0,00754</b>	<b>0,00141</b>	-	-	0,00031	0,00046		
<b>Paramètres Niveaux</b>		<b>G</b>	<b>F</b>	<b>A</b>						
Niveau bas (-)		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>						
Niveau haut (+)		<b>10</b>	<b>10</b>	<b>6</b>						

M : moyenne

**NB** : le saccharose n'est pas pris en compte afin d'éviter la complication de cette expérience.