

UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCE DE
LA VIE, SANTÉ ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCE DE LA VIE

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING IN
GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH AND
ENVIRONMENTAL SCIENCES

UNIT FOR RESEARCH TRAINING IN LIFE
SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

LABORATORY OF MICROBIOLOGY

**ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DU VINAIGRE DE *Tamarindus*
Indica CONTRE LES BACTERIES PATHOGENE**

Mémoire rédigé et présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en
Microbiologie

Option : Alimentaire et Industrielle

Par :

AIME ARTHUR MANG

Matricule : 18D2094

Licencié en Biosciences



Sous la co-direction de :

TATSADJIEU Léopold

Professeur

Université de Ngaoundéré

TCHIKOUA ROGER

Maître de Conférences

Université de Yaoundé I

2023/2024

DEDICACE

À

MA MAMAN

MARTHE NGO NKONDJOCK

REMERCIEMENTS

Nous tenons avant toute chose à remercier Dieu, le père tout puissant qui nous a accordé la vie, la santé, le courage afin que ce travail se passe dans de bonnes conditions pour sa gloire.

Nous adressons nos remerciements et témoignons nos profondes gratitude à l'endroit de :

- **Pr TCHIKOUA Roger**, Maitre de Conférences à l'Université de Yaoundé I , merci de nous avoir encadrés malgré ses multiples occupations. Professeur, vous avez consacré une part importante de votre temps pour nous diriger tout au long de ce travail. Que le Seigneur vous bénisse et vous paye au centuple pour votre contribution à la formation des jeunes chercheurs ;
- **Pr TATSADJEU NGOUNE Léopold**, pour son aide et sa disponibilité ;
- **Pr ESSIA NGANG Jean Justin**, Chef de département de Microbiologie de l'Université de Yaoundé I, pour tous les sacrifices entrepris pour le bon fonctionnement du Département de Microbiologie et notre formation académique en particulier ;
- **Pr SADO KAMDEM Sylvain Leroy**, pour son aide et ses conseils ;
- Aux Enseignants du Département de Microbiologie, pour la formation académique de qualité reçue durant mes années d'apprentissage ;
- Au doctorant **OKAMBA Blanchard** pour sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements, le suivi des manipulations et de l'évolution du travail. Je vous suis très reconnaissant et vous prie de recevoir ici l'expression de ma profonde gratitude ;
- Aux doctorants et aînés de laboratoire : **MAKUE Elsa, FOGANG Désœuvres et Etoundi Wilfried** pour leur disponibilité, leur présence et leurs conseils ;
- A mes binômes **NKONGO Cheilby** et **FONGANG Roucel** pour l'esprit d'équipe, la familiarité, le soutien, l'entraide et le divertissement durant tout notre parcours académique ;
- A mes promotionnaires de laboratoire **DASSI Raissa, LISSOM Christine, FOTSO Rostand, TENO Lionel, TCHAPPDA Synthia, Wabo Christian** l'esprit de solidarité et d'entraide développé durant nos différentes manipulations ;

- A ma famille : **Marie NGO NKONDJOCK, KOHN Louise Yvette, Nyemb Gilles, Geoffroy, Corbet Agnès, YEMGA Apollinaire et PENDIE Corine** pour tous leurs encouragements, leur soutien moral, financier et spirituel.

TABLE DE MATIERE

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	vi
LISTES DES FIGURES	viii
LISTE DES TABLEAUX	ix
RESUME	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE	3
I.1 <i>Tamarindus indica</i>	3
I.1.1 Généralités.....	3
I.1.2 Taxonomie.....	4
I.1.3 Description botanique	5
I.1.4 Répartition géographique	6
I.1.5 Composition biochimique du tamarin	7
I.1.5.1 Composition biochimique de la pulpe	7
I.1.5.2 Composition biochimique de la graine	8
I.1.6 Principales utilisations du tamarin	9
I.1.6.1 Usages alimentaires et industriel	9
I.1.6.2 Usages médicinaux	9
I.1.7 Propriétés du tamarin	10
I.1.7.1 Propriétés antibactériennes	10
I.1.7.2 Propriétés antiinflammatoires	10
I.1.7.3 Propriété antioxydante	10
I.2 Le vinaigre.....	11
I.2.1 Généralités.....	11
I.2.2 Production du vinaigre	11
I.2.2.1 Microbiologie de la production du vinaigre.....	11
I.2.2.1.1 Fermentation alcoolique.....	11

I.2.2.1.2	Fermentation acétique	12
I.2.3	Procédé de production du vinaigre	12
I.2.3.1	Méthodes anciennes	12
I.2.3.2	Méthodes modernes	13
I.2.4	Différents types de vinaigre	14
I.2.4.1	Vinaigre d'alcool	14
I.2.4.2	Vinaigre de vin.....	14
I.2.4.3	Vinaigre de cidre.....	14
I.2.4.4	Vinaigre balsamique	15
I.2.4.5	Vinaigre de Xérès.....	15
I.2.4.6	Vinaigre de fruits	15
I.2.5	Effets thérapeutiques du vinaigre	16
I.2.5.1	-Effet antibactérien.....	16
I.2.5.2	-Effet antioxydant	16
I.2.5.3	-Effet sur la santé intestinale.....	16
I.3	Risques sanitaires liés à la consommation des tripes de bœuf crues.....	17
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	18	
II.1	MATERIEL.....	18
II.1.1	Matériel microbiologique	18
II.1.2	Matériel végétal.....	18
II.1.3	Matériel animal	19
II.1.4	Matériel d'analyse	19
II.1.4.1	Milieux de culture	19
II.2	METHODES	21
II.2.1	Production du vinaigre de la pulpe de tamarin.....	21
II.2.1.1	Isolement et dénombrement.....	21
II.2.1.2	Bactéries acétiques.....	21
II.2.1.3	Levures.....	22
II.2.1.4	Bactéries lactiques	22
II.2.1.5	Expression des résultats	22
II.2.2	Caractérisation des bactéries acétiques	23
II.2.2.1	Caractérisation macroscopique et microscopiques	23
II.2.2.2	Caractérisation biochimique	23
II.2.3	Production du vinaigre à partir du tamarin.....	25

II.2.4	Evaluation des paramètres physico-chimiques.....	27
II.2.4.1	Détermination du pH.....	27
II.2.4.2	Détermination du taux de solides solubles.....	27
II.2.4.3	Détermination de l'acidité.....	27
II.3	Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin	28
II.3.1	Analyses microbiologiques des tripes de bœuf crues.....	28
II.3.1.1	Enquête	28
II.3.1.2	Echantillonnage.....	28
II.3.1.3	Lavage des tripes de bœuf.....	28
II.3.1.4	Préparation de l'échantillon et dilutions décimales	28
II.3.1.5	Isolement et dénombrement d' <i>Escherichia coli</i>	28
II.3.1.6	Isolement et dénombrement des staphylocoques	29
II.3.1.7	Isolement des salmonelles.....	29
II.3.2	Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin in vitro vis-à-vis des bactéries pathogènes.....	29
II.3.2.1	Préparation de l'inoculum bactérien	29
II.3.2.2	Test de sensibilité.....	30
II.3.3	Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin in situ vis-à-vis des bactéries pathogènes.....	30
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION		31
III.1	RESULTATS	31
III.1.1	Production du vinaigre de la pulpe de tamarin.....	31
III.1.1.1	Isolement et dénombrement.....	31
III.1.1.2	Caractérisation des bactéries acétiques.....	31
III.1.1.2.1	Caractérisation macroscopique et microscopiques	31
III.1.1.2.2	Caractérisation biochimique	32
III.1.1.3	Evaluation des paramètres physico-chimiques au cours de la production du vinaigre	33
III.1.1.3.1	Evolution du pH.....	33
III.1.1.3.2	Evolution du taux de solides solubles.....	33
III.1.1.3.3	Evolution de l'acidité.....	34
III.1.2	Analyses microbiologiques des tripes de bœuf crues.....	35
III.1.3	Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin in vitro vis-à-vis des bactéries pathogènes.....	36

III.1.4	Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin in situ vis-à-vis des bactéries pathogènes.....	38
III.2	DISCUSSION	40
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	45
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	46
	ANNEXES.....	A

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

<i>T.indica</i>	: <i>Tamarindus indica</i>
AAB	: <i>Acid Acetic Bacteria</i>
LAB	: <i>Lactic Acid Bacteria</i>
<i>E.coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>S.aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
GYC	: Glucose-Yeast extract-CaCO ₃
YCE	: Glucose-Yeast extract- CaCO ₃ -Ethanol
GYA	: Glucose - Yeast extract - Acetic Acid
GYP	: Glucose - Yeast extract-Peptide
GYCE	: Glucose-Yeast extract- CaCO ₃ -Ethanol
Log	: Logarithme
ISO	: Organisation Internationale de Normalisation
<i>Sp</i>	:
UFC /g	: Unité Formant Colonies par gramme
UFC/ml	: Unité Formant Colonies par millilitre
°	: Degré d'acidité
°C	: Degré Celsius
°B	: Degré Brix
mm	: millimètre
kg	: kilogramme
g	: gramme
mg	: milligramme
L	: litre
mL	: millilitre

μL : microlitre

% : pourcent

h : heure

min : minute

LISTES DES FIGURES

Figure 1: Photographie d'un tamarinier-----	3
Figure 2: Morphologie botanique des principales parties du <i>Tamarindus indica</i> . (a) écorce et tige grisâtre. (b) Feuilles à folioles alternes et opposées. (c) Fleurs. (d) Fruits. (e) Pulpe brun rouille. (f) Graines -----	5
Figure 3: Aire de répartition du tamarinier en Afrique -----	6
Figure 4: Mère du vinaigre Kombucha -----	18
Figure 5: Fruit de <i>Tamarindus indica</i> -----	18
Figure 6: Tripes de bœuf -----	19
Figure 7: Diagramme de production du vinaigre de la pulpe tamarin -----	26
Figure 8: Diagramme de production du vinaigre de la pulpe tamarin -----	26
Figure 9: Evolution du pH durant la production dans les vinaigres VIN12 A, VIN12 B, VIN12 C et VIN12 D en fonction du temps -----	33
Figure 10: Evolution de la teneur en sucre durant la production dans les vinaigres VIN12 A, VIN12 B, VIN12 C et VIN12 D en fonction du temps -----	34
Figure 11: Evolution du degré d'acidité durant la production dans les vinaigres VIN12 A, VIN12 B, VIN12 C et VIN12 D en fonction du temps -----	35
Figure 12: Halos d'inhibitions des vinaigres VIN12 (A, B, C, D) et du témoin positif (+) vis-à-vis de <i>E.coli</i> -----	37
Figure 13: Halos d'inhibitions des vinaigres VIN12 (A, B, C, D) et du témoin positif (+) vis-à-vis de <i>S.aureus</i> -----	37
Figure 14 : Halos d'inhibitions des vinaigres VIN12 (A, B, C, D) et du témoin positif (+) vis-à-vis de <i>Salmonella sp</i> -----	37
Figure 15: Variation de la charge des bactéries pathogènes après 10, 15, 20 minutes de trempage des tripes de bœuf crues dans le vinaigre VIN12 D -----	39
Figure 16: Variation de la charge des bactéries pathogènes après 10, 15, 20 minutes de trempage des tripes de bœuf crues dans le témoin positif -----	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Noms vernaculaires attribués en fonction des zones de production-----	4
Tableau II: Classification phylogénétique du <i>Tamarindus indica</i> -----	4
Tableau III: Composition biochimique de la pulpe de tamarin -----	7
Tableau IV: Composition biochimique de la graine de tamarin -----	8
Tableau V: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques -----	31
Tableau VI: Caractérisation biochimique des différents isolats -----	32
Tableau VII: Concentrations des germes pathogènes dans les tripes de bœufs crues après lavage (UFC/g) et dans l'eau de lavage (UFC/mL)-----	35
Tableau VIII: Diamètres d'inhibition (mm) des vinaigres produits et du témoin positif vis-à-vis des isolats sauvages pathogènes. -----	36

RESUME

Les tripes sont des viandes sans chairs ni muscles dérivés de l'estomac bovin. Sa consommation par les populations riveraines dans la région de l'Extrême Nord Cameroun lors des événements festifs présente des risques microbiologiques élevés pour celui qui les consomme car peuvent être des vecteurs potentiels de bactéries pathogènes telles que : *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Campylobacter spp*. Pour pallier à ce problème le tamarin, fruit de cette région riche en sucre soluble dont la teneur varie de 54 à 69 % a été utilisé pour produire un vinaigre afin de réduire la charge microbienne des tripes de bœuf. Le vinaigre est un produit liquide qui contient des alcools, des acides, des esters, des aldéhydes et des cétones, dans lequel l'acide acétique est le principal composant. Cette étude avait pour but d'améliorer la qualité microbiologique des tripes de bœuf crues. Pour cela, une production du vinaigre à partir de la pulpe de tamarin a été effectuée tout en évaluant durant la production ses paramètres physico-chimiques. Ensuite, l'activité antibactérienne du vinaigre a été évaluée *in vitro* et *in situ* sur les tripes de bœuf crues. Les résultats de la production du vinaigre ont montré que la double fermentation (alcoolique et acétique) influence les paramètres physico-chimiques des quatre échantillons de vinaigre. Cette influence se traduit par une augmentation non significative du pH et de l'acidité allant de $2,16 \pm 0,01$ à $4,93 \pm 0,01$ et de $1,00 \pm 0,01^\circ$ à $3,88 \pm 0,44^\circ$ respectivement, par contre une diminution du taux de sucres fermentescibles de $5,25 \pm 1,4^\circ$ Brix dans chacun des échantillons de vinaigre a été observée. L'analyse des tripes de bœuf crues après lavage a révélé une présence de *Salmonella sp*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec des charges respectives de $5,51 \pm 0,019$ et $4,16 \pm 0,03$ Log UFC/g. L'effet antibactérien des vinaigres produits sur ces différents germes pathogènes isolés, a montré *in vitro* l'inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et de *Salmonella sp* respectivement avec des diamètres d'inhibition par le vinaigre VIN12 A de ($15,67 \pm 0,24$ mm, $12,80 \pm 0,70$ mm, $16,17 \pm 2,90$ mm), VIN12 B ($16,33 \pm 1,84$ mm, $14,73 \pm 0,21$ mm, $14,50 \pm 1,08$ mm), VIN12 C ($15,83 \pm 1,03$ mm, $14,43 \pm 0,42$ mm, $21,00 \pm 1,78$ mm) et du VIN 12 D ($17,50 \pm 2,16$ mm, $16,07 \pm 0,66$ mm et $23,17 \pm 1,43$ mm). Quant à l'activité antibactérienne *in situ*, au bout de 20 minutes d'exposition des tripes au vinaigre VIN12 D, une réduction d'un Log de la charge *Salmonella sp* a été observée par contre aucune réduction en unité logarithmique n'a été observée pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* au bout du même temps d'exposition. Toutefois, les échantillons traités au vinaigre, ont demeurés de qualité microbiologique insatisfaisantes.

Mots clé : Activité antibactérienne , vinaigre , tamarin , tripes de bœuf crues, bactéries pathogènes , qualité microbiologique.

ABSTRACT

Tripe is meat without flesh or muscle derived from the bovine stomach. Its consumption by local populations in the Far North region of Cameroon during festive events presents high microbiological risks for those who eat it, as it can be a potential vector for pathogenic bacteria such as *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Campylobacter spp*. To overcome this problem, tamarind, a fruit from this region rich in soluble sugars ranging from 54% to 69%, was used to produce a vinegar to reduce the microbial load of beef tripe. Vinegar is a liquid product containing alcohols, acids, esters, aldehydes and ketones, in which acetic acid is the main component. The aim of this study was to improve the microbiological quality of raw beef tripe. To achieve this, vinegar was produced from tamarind pulp and its physico-chemical parameters were assessed during production. The vinegar's antibacterial activity was then evaluated *in vitro* and *in situ* on raw beef tripe. The vinegar production results showed that double fermentation (alcoholic and acetic) influenced the physico-chemical parameters of the four vinegar samples. This influence is reflected in a non-significant increase in pH and acidity ranging from 2.16 ± 0.01 to 4.93 ± 0.01 and from $1.00 \pm 0.01^\circ$ to $3.88 \pm 0.44^\circ$ respectively, while a decrease in the level of fermentable sugars of $5.25 \pm 1.4^\circ$ Brix in each of the vinegar samples was observed. Analysis of the raw beef tripe after washing revealed the presence of *Salmonella sp*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, with respective loads of 5.51 ± 0.019 and 4.16 ± 0.03 Log UFC/g. The antibacterial effect of the vinegars produced on the various pathogenic germs isolated showed *in vitro* inhibition of the growth of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp* respectively with inhibition diameters by VIN12 A vinegar of (15, 67 ± 0.24 mm, 12.80 ± 0.70 mm, 16.17 ± 2.90 mm), VIN12 B (16.33 ± 1.84 mm, 14.73 ± 0.21 mm, 14.50 ± 1.08 mm), VIN12 C (15.83 ± 1.03 mm, 14.43 ± 0.42 mm, 21.00 ± 1.78 mm) and VIN 12 D (17.50 ± 2.16 mm, 16.07 ± 0.66 mm and 23.17 ± 1.43 mm). As for *in situ* antibacterial activity, after 20 minutes of exposure of the tripe to VIN12 D vinegar, a one-log reduction in the *Salmonella sp* load was observed, while no reduction in logarithmic units was observed for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* after the same exposure time. However, the vinegar-treated samples remained of unsatisfactory microbiological quality.

Key words: Antibacterial activity, vinegar, tamarind, raw beef tripe, pathogenic bacteria, microbiological quality.

INTRODUCTION

Les abats sont des parties d'un animal abattu qui tombent de la carcasse lors du parage. Ils peuvent t'être rouges (organes) et blancs (entrailles).notamment les organes (abats rouges) et les entrailles (abats blancs). Ces dernières comprennent généralement les intestins et l'estomac qui sont comestibles mais nécessitent un traitement ultérieur. Les tripes sont des viandes maigres mais fortifiantes sans chairs ni muscles dérivés de l'estomac bovin (Mullen et Álvarez, 2016). C'est l'un des principaux sous-produits du bétail, représentant 1,3% de son poids à l'abattage avec un rendement d'environ 4,36 à 5,45 kg/animal. Les propriétés texturales typiques des tripes de bœuf, telles que la mastication et l'élasticité offrent une expérience sensorielle unique lors de la dégustation et présentent des avantages nutritionnels comme une richesse en protéines, en vitamine B12 , en zinc et en sélénium (Anandh et al., 2014).

Dans la région de l'Extrême Nord du Cameroun, les populations riveraines intègrent la consommation de la viande crue, notamment les tripes de bœuf crues, dans leurs habitudes alimentaires. En effet, lors des événements festifs comme les naissances, les mariages, la dote et pendant bien d'autres cérémonies traditionnelles, la population en attendant le repas, se livre après l'abattage du bœuf à la consommation des tripes de bœuf crues avec du sel et du pigment. Cependant, étant en contact avec les déchets digestifs alimentaires dans l'estomac du bovin, la consommation des tripes de bœuf crues présente des risques microbiologiques élevés pour celui qui les consomme car peuvent être des vecteurs potentiels de bactéries pathogènes telles que : *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Campylobacter spp* (Devendra et al., 2021). En outre, on retrouve dans cette région, est présent le tamarinier (*Tamarindus indica*). Un arbre de la famille des *Fabaceae* qui est porteur d'un fruit appelé tamarin ou Djabbi au Cameroun dont les gousses de 5 à 16 cm de long et 2 cm de large sont oblongues, recourbées ou droites et contenant 3 à 12 graines. C'est un fruit acide mais agréable, pauvre en eau, riche en protéines et minéraux (Devi et Boruah, 2020). De plus, la pulpe de tamarin contient des acides organiques, des flavonoïdes et d'autres phyto-nutriments qui lui confèrent une activité antimicrobienne (Okwu et al., 2020). Très sucré, il contient de 54 à 69,9 % de sucres solubles (Hiwale, 2015). Cette capacité glucidique pourrait être exploitée dans la conception de nombreux produits, tels que les alcools, les acides organiques et les vinaigres.

Le vinaigre est un produit liquide qui contient des alcools, des acides, des esters, des aldéhydes et des cétones. L'acide acétique en est le principal composant volatil, lui conférant sa saveur aigre (Ho et al., 2017). Ce dernier est obtenu à partir de sources de glucides par fermentation alcoolique puis acétique. Lors de la fermentation alcoolique, les levures convertissent les sucres en alcool ensuite durant la fermentation acétique les bactéries acétiques oxydent l'alcool formé en acide acétique (Xia et al., 2020). De plus des études antérieures ont

démontré l'efficacité de divers types de vinaigre dans la réduction de la charge bactérienne des aliments, notamment la viande crue (**Khan *et al.*, 2023**). Ainsi, après avoir porté notre intérêt sur la valorisation du tamarin par la production du vinaigre afin de réduire la contamination des tripes de bœuf, nous nous sommes donné pour objectif général d'améliorer la qualité microbiologique des tripes de bœuf crues et plus spécifiquement de :

- ❖ Produire le vinaigre à partir de la pulpe de tamarin ;
- ❖ Déterminer l'activité antibactérienne *in vitro* et *in situ* du vinaigre de la pulpe de tamarin

CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE

I.1 - *Tamarindus indica*

I.1.1 - Généralités

Tamarindus indica appartient à la famille des *Fabaceae* avec la sous famille des *Caesalpinaceae* et est largement cultivé depuis l'antiquité (entre 1200 et 200 avant JC) (**Resny et al., 2018**). Il est originaire de la zone tropicale africaine, mais il a été noté que l'ancêtre sauvage existerait en Inde (**Bourou, 2012**). C'est une plante (figure 1) considérée comme pantropicale qui s'étend du Sénégal à l'Erythrée, de la Sierra Leone au Cameroun, de l'Ethiopie et de la Somalie à la Mozambique (**Bhadoriya et al., 2011**). Au 18^e siècle, Linné lui a donné le nom de *Tamarindus indica*, inspiré du nom arabe « tamar-ul-Hind », signifiant datte de l'Inde (**Yahia et Salih, 2011**). La capitale du Sénégal, Dakar, tient son nom de la dénomination locale du tamarinier (dakhar) (**Samarou et al., 2022**).



Figure 1: Photographie d'un tamarinier (**Chimsah et al., 2020**)

Dans les zones de production du tamarinier, il est connu sous de nombreux noms vernaculaires.

Tableau I : Noms vernaculaires attribués en fonction des zones de production (**Azad, 2018**)

Pays	Nom vernaculaires
Cameroun	Djabbi
Sénégal	Dakhar, Dahar
Nigéria	Ajagbon, Icheku Oibo, Tsaniya,
Guinée	Ntemi, Ntomi
Niger	Tsamia
Benin	Djatani, Bobosséi, Bupugubu
Madagascar	Tamarin
Inde	Ambliki, Ambali, Cheench, Cinca, Imli, Tamarind, Tateli, Tatul
Brésil	Tamarin
Antilles	Tamarin des Indes, Tamarind, Tame tamarind
Thaïlande	Makham

I.1.2 - Taxonomie

Tamarindus indica fait partie de la famille des *Fabaceae*, sous-famille des *Caesalpinoideae* et le genre *Tamarindus* est monotypique dans son taxon et ne compte donc qu'une seule espèce (*Tamarindus Indica L.*) (**Chimsah et al., 2020**). La classification scientifique de cette espèce est la suivante :

Tableau II : Classification phylogénétique du *Tamarindus indica* (**Anonyme, 2022**)

Domaine	Eukarya
Royaume	Plantes
Sous-royaume	<i>Tracheophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Fabales Bromhead</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Genre	<i>Tamarindus Tourn.ex L</i>
Espèce	<i>Tamarindus Indica L.</i>

I.1.3 - Description botanique

Le tamarinier est un arbre massif, à feuilles persistantes ou semi-persistantes de 12 à 14 m de haut avec un tronc épais atteignant 1,5 à 2 m de diamètre et jusqu'à 8m de circonférence (Devi et Boruah, 2020). Il est caractérisé par un tronc à écorce rugueuse fissurée, grisâtre-brun (fig. 2a). Les feuilles sont pennées, de 5 à 12,5 cm de long, à pétiole court et glabre ou pubérulent (fig. 2b). Les fleurs sont attrayantes, jaunes pale ou rosâtres (fig. 2c), petits épis lâches d'environ 2,5 cm de largeur (Samarou *et al.*, 2022).

Les fruits ont un goût acide mais agréable, fibreux et comestibles. Ce sont des gousses de 5 à 16 cm de long et 2 cm de large, oblongues, recourbées ou droites et comprimées (fig. 2d). L'épicarpe externe de la gousse présente une couleur brune ou gris clair et écailleuse. La pulpe à l'intérieur est molle et de couleur brun noirâtre (fig. 2e). Chacune des gousses contient jusqu'à 3-12 graines obovales et oblongues (Devi et Boruah (2020), mesurant environ 1,6 cm de long et 0,6 cm de large, de forme irrégulière et le testa est dur, brillant et lisse (Komakech *et al.*, 2019). Selon la localité la composition du fruit est variable, le tamarin a une faible teneur en eau et un niveau élevé de protéines, de glucides (60 à 72%) et de minéraux. La teneur en sucres solubles varie de 54 à 69,9°Brix (Hiwale, 2015). Les fruits décortiqués sont composés de 55% de pulpe, 33% de graines et de 12% de fibres (Attokaran, 2017).

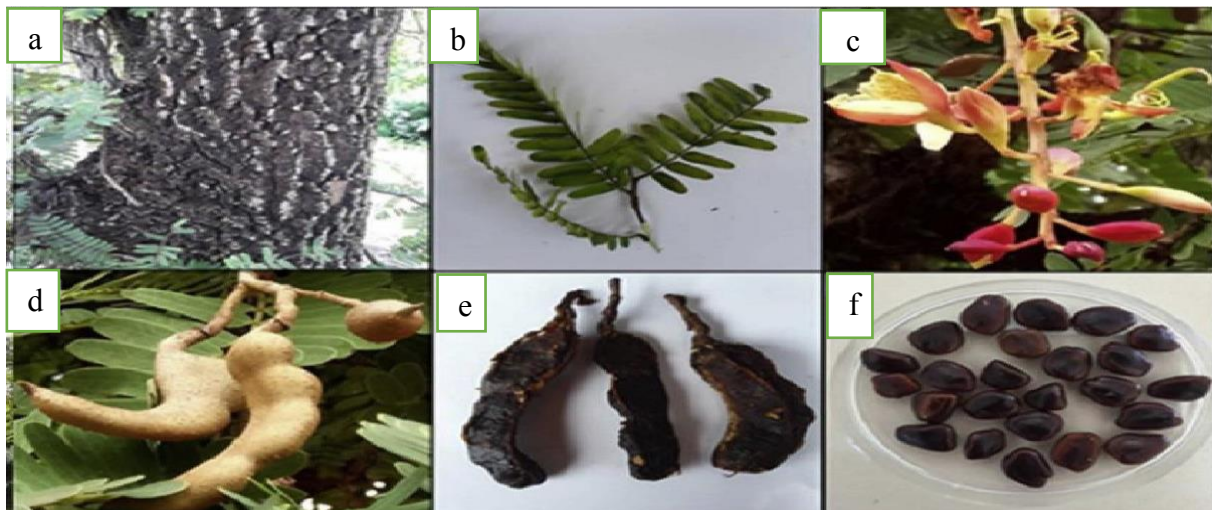


Figure 2: Morphologie botanique des principales parties du *Tamarindus indica*. (a) écorce et tige grisâtre. (b) Feuilles à folioles alternes et opposées. (c) Fleurs. (d) Fruits. (e) Pulpe brun rouille. (f) Graines (Komakech *et al.*, 2019)

I.1.4 - Répartition géographique

Actuellement, le tamarin est cultivé dans 54 pays du monde ; 18 pays dans son aire de répartition d'origine et 36 autres pays où il est naturalisé (Hiwale, 2015). Il est originaire d'Afrique tropicale où il est largement distribué dans toute la ceinture tropicale, de l'Afrique à l'Asie du Sud, en passant par le nord de l'Australie et dans toute l'Océanie, l'Asie du Sud-Est, Taiwan et la Chine. Au XVIe siècle, il a été introduit au Mexique et, dans une moindre mesure, en Amérique du Sud, par les colons espagnols et portugais (Mukherjee *et al.*, 2018).

Le tamarinier couvre aujourd'hui une aire géographique vaste au niveau mondial, principalement dans les continents américain (la région centrale et latine) et asiatique (Inde) (Rasolonirina, 2017). En Afrique, l'aire de distribution du tamarinier se retrouve dans la partie au sud du Sahara qui s'étend du Sénégal à Djibouti et jusqu'à Madagascar (Bourou, 2012). Il couvre la zone tropicale aride (figure 3). L'espèce serait autochtone au Burkina Faso, dans le nord du Cameroun, en Erythrée, en Ethiopie, en Gambie, en Guinée, en Guinée-Bissau, au Kenya, à Madagascar, au Mali, au Mozambique, au Niger, au Nigéria, en Ouganda, en République centrafricaine, au Sénégal, au Soudan, en Tanzanie, au Tchad et au Zimbabwe (Muok et Alem, 2011).

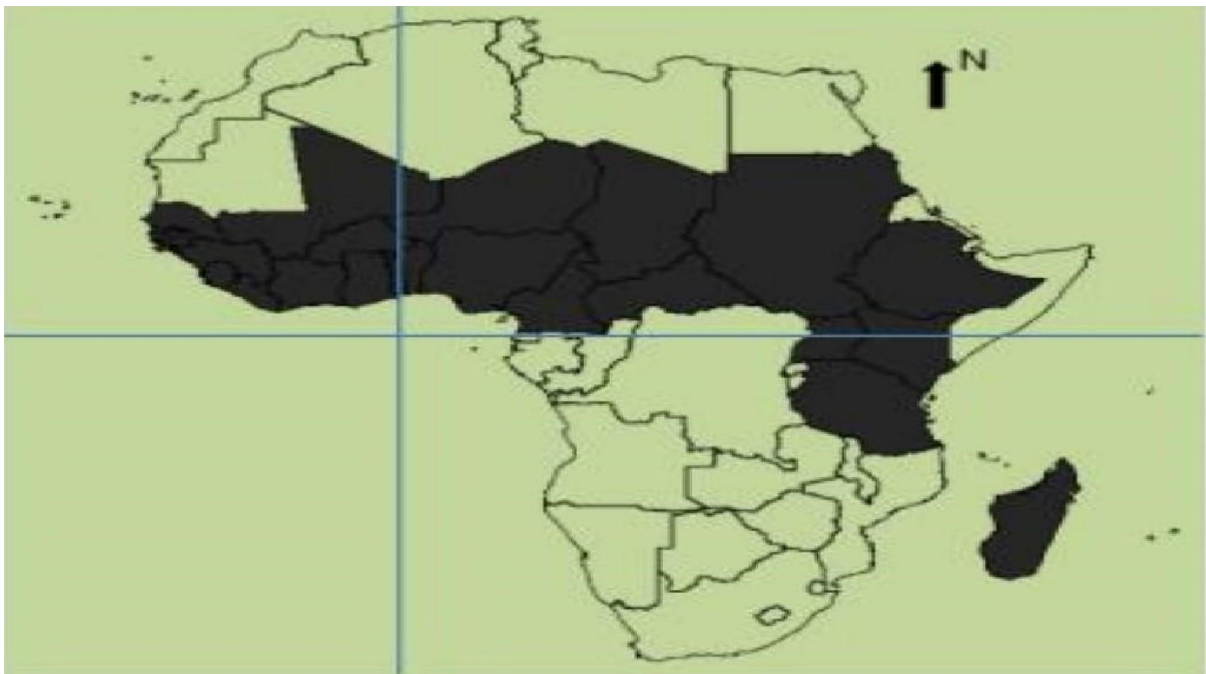


Figure 3: Aire de répartition du tamarinier en Afrique (Samarou *et al.*, 2022)

I.1.5 - Composition biochimique du tamarin

I.1.5.1 - Composition biochimique de la pulpe

A maturité, la pulpe du fruit est acidulée et sucrée. Elle se caractérise par une faible teneur en eau qui avoisine 38 %, et une quantité importante de protéines, glucides et d'acide tartrique (Favet *et al.*, 2011). Le tamarin peut être une riche source de tous les minéraux disponibles, en particulier le magnésium, le cuivre et le potassium, en plus d'être une bonne source de calcium, de phosphore, de fer et de sélénium (Almeida *et al.*, 2009). La pulpe de tamarin est constituée de nombreux composés volatils qui sont responsables de son arôme, dont le principal composé est le 2-acétyl-furanne. Elle est constituée dans l'ensemble de composés volatils dont les dérivés furaniques (44,4%) et l'acide carboxylique (33,3%) (Vuyyala *et al.*, 2020).

Tableau III : Composition biochimique de la pulpe de tamarin

Eléments	Valeurs (pour 100g)	Unités
Protéines	6,3	g
Glucides	81	g
Lipides	1,4	g
Acide tartrique	21,2	g
Cellulose	5,6	g
Pectine	2,8	g
Calcium	465,75	mg
Phosphore	91,00	mg
Sodium	76,66	mg
Magnésium	72,03	mg
Potassium	62,00	mg
Cuivre	21.83	mg
Fer	8,49	mg
Acide ascorbique	18	mg
Thiamine	0,6	mg
Niacine	0,6	mg
Riboflavine	0,2	mg

I.1.5.2 - Composition biochimique de la graine

La graine est une bonne source de glucides et protéines. La composition minérale de la graine de tamarin semble être une bonne source de différents éléments minéraux, tels que le calcium, le phosphore, le magnésium et le potassium (Vuyyala *et al.*, 2020). À l'exception de quelques-uns, tous les acides aminés tels que : asparagine (935mg/g) , glucine (1449mg/g) l'isoleucine (623mg/g), et lysine (527mg/g) sont considérablement élevés dans la graine (Pal et Mukherjee, 2020)

Tableau IV : Composition biochimique de la graine de tamarin

Eléments	Valeurs (pour 100g)	Unités
Protéines	53,5	%
Glucides	20,1	%
Lipides	10,4	%
Fibres	8,1	%
Cendres	2,9	%
Eau	10,4	%
Calcium	786.86	mg
Potassium	610.00	mg
Phosphore	165.00	mg
Magnésium	118.00	mg
Sodium	19.17	mg
Cuivre	18.97	mg
Zinc	3.00	mg
Glucine	1149	mg
Asparagine	935	mg
Leucine	623	mg
Arginine	617	mg
Glycine	585	mg
Lysine	527	mg
Tyrosine et Phénylalanine	523	mg
Serine	445	mg
Valine	409	mg
Isoleucine	356	mg

I.1.6 - Principales utilisations du tamarin

Tamarindus indica est reconnu comme un arbre fruitier d'importance capitale et ses produits font l'objet de multiples usages (alimentaires, industriels, médicinales, culturels etc.) (Garba *et al.*, 2020).

I.1.6.1 - Usages alimentaires et industriel

La pulpe de tamarin est un ingrédient important dans la préparation des marinades, du curry, du chutney, des vindaloes et de la sauce Worcestershire (Ferarra, 2019). En Inde, la pulpe est consommée crue avec du sucre et est également utilisée pour fabriquer des viandes sucrées mélangées à du sucre, communément appelées boules de tamarin. Commercialement, on l'utilise comme matière première pour la fabrication de nombreux produits alimentaires et industriels, tels que le concentré de jus de tamarin, les currys, l'acide tartrique, la poudre de pulpe de tamarin, les sauces, la pectine, la crème glacée et les boissons alcoolisées. La pulpe du fruit est également utilisée comme fixateur dans la teinture lorsqu'elle est mélangée au curcuma (*Turcuma longa*) et au rocou (*Bixa orellana*). Elle sert également à coaguler le latex de caoutchouc. Elle peut également être utilisée dans la production d'éthanol (Chimsah *et al.*, 2020). La principale voie de valorisation de la graine de tamarin est la transformation en poudre d'amande (ou Tamarind Kernel Powder, TKP). La graine comprend principalement de la gomme qui possède des caractéristiques visqueuses et capable de former un gel, elle peut donc également être appliquée comme modificateur de rhéologie dans les produits alimentaires (Rao *et al.*, 2015).

I.1.6.2 - Usages médicaux

L'extrait de pulpe de tamarin est utilisé pour soigner la fièvre paludéenne, soulager les insulations, traiter les infections cutanées, les affections intestinales mais il est également doté de propriétés laxatives, (Devi *et al.*, 2020). En effet la pulpe du fruit du tamarin a une action laxative due à la présence d'acide malique et tartrique qui aident à soulager les douleurs abdominales et la diarrhée. Il est également digestif, agissant sur la sécrétion biliaire et prévenant les maladies du foie (Rodriguez *et al.*, 2016). Les graines du fruit riches en fibres aident à réguler la fonction intestinale et à abaisser le taux de cholestérol dans le sang (Lim *et al.*, 2013). Il a été démontré qu'un extrait du péricarpe de la graine exerce une activité antiarthritique, neutralisant la dégénérescence osseuse et la dégénérescence du cartilage articulaire grâce à l'inhibition des enzymes protéolytiques (Sundaram *et al.*, 2015).

I.1.7 - Propriétés du tamarin

I.1.7.1 - Propriétés antibactériennes

Une étude a déterminé l'activité de *Tamarindus indica* contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les extraits aqueux et éthanoliques de *T.indica* avaient une activité contre ces microorganismes, qui semblait dépendante de la dose. Il a été noté que *E.coli* était plus sensible à *T.indica* que *S. aureus*, tant pour les extraits aqueux qu'éthanoliques. La sensibilité la plus élevée a été observée avec *E.coli* à 100 mg/ml, cette dose testée étant la plus élevée d'extrait aqueux de *T.indica*, a donné une zone d'inhibition de 14,8 mm. La concentration minimale inhibitrice des extraits aqueux et éthanoliques de *T.indica* contre *E.coli* et *S. aureus* s'est avérée être de 0,5 mg/ml (**Phiri et al., 2020**). Des études similaires ont montré que les extraits de fruits de *T.indica* possèdent une activité contre *E. coli* (**Abdallah et Muhammad, 2018**).

I.1.7.2 - Propriétés antiinflammatoires

L'extrait de graines de *T.indica* est connu pour présenter de puissants effets anti-inflammatoires, anti-nociceptifs et anti-arthritiques dans des modèles animaux (**Babarria et al., 2011**). Un inhibiteur de la sérine protéinase, connu pour exercer une activité antiinflammatoire contre l'élastase des neutrophiles humains, a été identifié, isolé et purifié à partir de graines de *T.indica* (**Fook et al., 2005**). Il a été observé que l'extrait éthanolique à 95 % de graines de *T. indica* était un agent puissant pour réduire les niveaux de médiateurs pro inflammatoires et la dégradation du cartilage et des os induits par l'arthrite chez les rats Wistar adultes à une dose de 25 à 50 mg/kg par jour après 15 jours de traitement (**Sundaram et al., 2015**).

I.1.7.3 - Propriété antioxydante

Les extraits hydroalcooliques et aqueux de tamarin possèdent des activités antioxydantes telles que le potentiel de réduction du Fe^{+3} , le potentiel de piégeage des radicaux $NO\bullet$, $OH\bullet$ et $DPPH\bullet$ (**Meher et Dash, 2013**). L'extrait brut de pulpe de tamarin contient des composés phénoliques aux propriétés antioxydantes qui ont amélioré l'efficacité de la superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase chez les animaux (**Buchholz et Melzig, 2016**). Il a été rapporté que les flavonoïdes exercent de multiples propriétés biologiques, mais la propriété la mieux décrite de presque tous les groupes de flavonoïdes est leur capacité à agir comme antioxydants, ce qui peut protéger le corps humain des radicaux libres (**Airaodion et al., 2019**).

I.2 - Le vinaigre

I.2.1 - Généralités

Depuis plus de 5000 ans, la découverte du vinaigre est intimement liée à la fabrication de vin dont il tire son nom. En effet, le vin exposé à l'air pendant une certaine période se transformera naturellement en un liquide au goût acide : c'est la naissance du vinaigre ou du « vin-aigre ». Les Babyloniens l'ont fabriqué 5000 ans avant J-C à partir du vin de palme. 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*. 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 Barja, 2009).

Le vinaigre est un produit liquide qui contient des alcools, des acides, des esters, des aldéhydes et des cétones, dans lequel l'acide acétique est le principal composant volatil qui lui donne sa saveur aigre (Ho *et al.*, 2017). Il est obtenu à partir de sources de glucides par fermentation alcoolique puis acétique. Lors de la fermentation alcoolique, les levures convertissent les sucres en alcool, tandis que les bactéries acétiques (AAB) sont impliquées dans la fermentation acétique au cours de laquelle l'alcool est oxydé en acide acétique (Komagata *et al.*, 2014). Dans la législation française, la dénomination de « vinaigre » est réservée aux produits obtenus par fermentation acétique de boissons ou dilution alcoolique et renfermant au moins 5% d'acide acétique. Toutefois pour les vinaigres de vin, la teneur minimale d'acide acétique doit être de 6% (Décret Français N°88-1207 du 30 décembre 1988 modifié par le 23 mars 2023).

I.2.2 - Production du vinaigre

I.2.2.1 - Microbiologie de la production du vinaigre

Le vinaigre est le produit d'un processus possédant deux étapes dont la première est la fermentation alcoolique des sucres en éthanol par les levures suivie de la fermentation acétique qui impliquent les bactéries acétiques (AAB) qui vont oxyder l'éthanol en acide acétique (Yetiman et Kesmen, 2015).

I.2.2.1.1 - Fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique est une réaction qui se déroule en anaérobie, devant être maintenue à une température contrôlée de 20-30 °C, pour que les sucres fermentescibles soient transformés en éthanol par l'action des levures (Li *et al.*, 2015). Les sucres principalement

transformés par les levures sont le glucose et le fructose (Bhat *et al.*, 2014). En effet, les principaux groupes de levures fermentaires qui produisent l'alcool à partir de glucides sont des levures appartenant au genre *Saccharomyces* notamment *Saccharomyces cerevisiae* qui est l'espèce la plus répandue dans les vinaigres de fruits et légumes, mais on note également les levures apiculées des genres *Hanseniaspora* et *Kloeckera*, les levures fermentant le lactose du genre *Kluyveromyces* et les levures osmophiles du genre *Zygosaccharomyces* (Villarreal *et al.*, 2022).

I.2.2.1.2 - Fermentation acétique

La fermentation acétique est un processus où l'éthanol est oxydé en acide acétique par le biais des bactéries acétiques dans des conditions strictes d'aérobiose, elle nécessite donc une très forte aération. Ainsi, l'alcool se transforme en acide acétique, s'accompagnant d'une forte consommation d'oxygène se déroulant à une température comprise de 25 à 30°C (Guiraud, 2003). Les cinq genres de AAB les plus courants sont *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter*, *Asaia* et *Komagataebacter*. Les trois genres d'AAB responsables de la fermentation acétique du vinaigre sont les *Acetobacter*, *Gluconobacter* et *Komagataebacter* (Yetiman et Kesmen, 2015). Tout au long du processus d'oxydation, les AAB se développent et forment un film non toxique composé d'AAB et de cellulose qui s'accumulent à la surface du vinaigre. En effet, ce film est connu comme la « mère du vinaigre » (Gomes *et al.*, 2018).

I.2.3 - Procédé de production du vinaigre

Il existe plusieurs méthodes de production du vinaigre, regroupées en méthodes anciennes et méthodes modernes.

I.2.3.1 - Méthodes anciennes

Elles sont divisées en 03 sous-méthodes à savoir :

➤ La méthode Orléans

La méthode Orléans ou procédé français est la méthode traditionnelle et lente utilisée depuis 1670 pour le vin acétifiant. Dans ce processus, des fûts en bois sont utilisés et remplis du liquide de la fermentation alcoolique jusqu'à environ 3/4. Tout d'abord, des trous sont percés aux extrémités du canon, à quelques centimètres au-dessus de la surface du liquide, qui reste ouverte et recouverte d'un écran. Deuxièmement, environ 20 à 25 % de vinaigre frais acidifie le liquide au point de favoriser une croissance optimale pour les bactéries du vinaigre. Les

bactéries du vinaigre se déposent dans le liquide à partir de l'air et forment une couche visqueuse gélatineuse au-dessus du liquide. Le liquide est fermenté pendant environ 1 à 3 mois. Elle a l'avantage de donner un liquide possédant un bouquet agréable mais d'un rendement assez faible (Singh *et al.*, 2023).

➤ **La méthode Shüntzenbach**

Elle consiste à faire couler un liquide alcoolique, titrant de 20 à 25° sur des copeaux de hêtre ou de sapin. Les bactéries sont immobilisées sur des copeaux empilés dans des caisses dont le fond et les parois sont perforés, de manière à faciliter la circulation de l'air, formant un lit solide sur lequel le vinaigre se répand. Une fois que ce vinaigre a traversé le lit de copeaux, il est recueilli dans un récipient au fond et pompé vers le même lit fixe. Il est préférentiellement utilisé pour la production du vinaigre d'alcool. Il a l'avantage d'être rapide mais le vinaigre est de qualité inférieure (Mas *et al.*, 2014).

➤ **La méthode traditionnelle**

Elle est encore appelée culture de surface utilisant une culture statique de bactéries acétiques à l'interface entre le liquide et l'air. Les futs sont remplis au 2/3 de leur capacité pour laisser une chambre à air, qui est maintenue en contact avec l'air extérieur par l'une des ouvertures. Elle a pour avantage d'obtenir un vinaigre aux qualités sensorielles élevées (Mas *et al.*, 2014).

I.2.3.2 - Méthodes modernes

Elles sont divisées en 02 sous-méthodes à savoir :

➤ **Fermentation en culture immergée**

La méthode de production la plus courante de nos jours est la culture immergée qui améliore les conditions générales de fermentation comme l'aération, l'agitation, le chauffage. En effet le milieu liquide est généralement agité pour améliorer le transfert d'oxygène, ce qui permet une aération rapide et efficace (Vidra et Németh, 2018). Ce système possède un stator non rotatif qui supporte une turbine à corps creux. Des trous radiaux, qui s'ouvrent dans le sens de rotation opposé, permettent à l'air de l'extérieur de s'évacuer vers l'intérieur, créant ainsi de très fines bulles d'air. L'ensemble de la masse est maintenu dans un état d'agitation continu, permettant un transfert aisé de l'oxygène du milieu vers les bactéries. Cela empêche la mort cellulaire d'Acétobacter et favorise une croissance microbienne efficace (Gullo *et al.*, 2014). Ses systèmes de culture sont lents et coûteux (Singh *et al.*, 2023).

➤ Fermentation en culture submergée

Le système de culture submergée offre une alternative beaucoup plus rapide. Ces systèmes s'appuient sur des turbines adaptées pour générer un flux de bulles d'air dans la solution alcoolique. En effet, le processus d'oxydation se produit dans les interfaces air-liquide des bulles d'air et les bactéries deviennent des bioréacteurs pour la transformation de l'alcool en acide acétique lors de la production du vinaigre dans ce système. Ce système présente comme avantage la rapidité (le vinaigre est produit par cycle de 24 heures) et l'acidité produite peut atteindre des concentrations d'acide acétique allant jusqu'à 23-25 % contre 6-13 % réalisé avec d'autres systèmes) mais, présente comme inconvénient majeur la perte de qualité du produit due à un flux d'air qui contribue à une perte considérable des composés volatils ce qui donne lieu à un produit plus limité sur le plan organoleptique. (Gomes *et al.*, 2018).

I.2.4 - Différents types de vinaigre

Il existe plusieurs types de vinaigre et ceux-ci varient en fonction de la matière première utilisée, de son mode de production, du lieu de production, de la quantité d'acide acétique etc. De façon générale on a :

I.2.4.1 - Vinaigre d'alcool

Le vinaigre d'alcool, aussi appelé vinaigre blanc ou cristal, est fabriqué à partir de sucre de betterave (le moins cher), transformé en alcool puis en acide acétique. On l'emploie aussi pour certains soins de beauté, notamment dans le bain, pour le soin des cheveux, pour apaiser les petites brûlures ou encore en cuisine par exemple dans la préparation des vinaigrettes (Lefief, 2019).

I.2.4.2 - Vinaigre de vin

Le vinaigre de vin ou de raisin issu du raisin est appelé "vinaigre de vin" ou "vinaigre de raisin". Il peut être fabriqué à partir de vin blanc, rouge ou rosé. Il doit contenir au moins un gramme de matière solide de raisin, 0,13g de cendre de raisin et 4 grammes d'acide acétique pour 100 mL à 20°C (Bhat *et al.*, 2014).

I.2.4.3 - Vinaigre de cidre

Ce vinaigre est fabriqué à partir de pommes et est de loin le vinaigre le plus populaire. Il doit contenir au moins 1,6 gramme de solides de pomme par 100 ml, dont plus de 50% de sucres réducteurs, et au moins 4 grammes d'acide acétique par 100 ml à 20°C. On retrouve

environ 600 mg par litres d'antioxydant, des vitamines (A, B1, B2, B3 et C), des enzymes bénéfiques pour l'organisme et plusieurs minéraux (phosphore, calcium, magnésium, fer etc...). Ce cocktail d'éléments explique les propriétés de ce vinaigre sur la santé (**Oussaïd et al., 2021**).

I.2.4.4 - Vinaigre balsamique

Il résulte de la cuisson du jus de raisin qui est ensuite mis à murir et à fermenter naturellement dans des fûts en bois, de plus en plus petits. Cela donne un baume (d'où le nom de « balsamique ») à la texture sirupeuse, au goût et à la couleur intenses. Il est préparé à partir de raisins issus de cépages particuliers, cultivés dans la région de Modène, en Italie mais concurrencé aujourd'hui par des vinaigres balsamiques industriels (**Lefief, 2019**).

I.2.4.5 - Vinaigre de Xérès

Originaire de la région de Jerez, dans le sud de l'Andalousie (Espagne), ce vinaigre résulte de la fermentation de vins doux de certains cépages (Palomino, en très grande majorité, Pedro Ximénez et Moscatel), vieillis dans des fûts en bois précieux selon la méthode criaderas y soleras. Cette technique consiste à remplir une pyramide de fûts qui ont déjà été utilisés pour produire du vin de Xérès. La première rangée ou solera, contient le vinaigre le plus vieux, puis les suivantes (*primera criadera, segunda criadera...*) du vinaigre de plus en plus jeune. Ce vinaigre est régulièrement prélevé pour être transféré d'un fut à l'autre, mais aussi pour être mis en bouteille. Finalement, cela donne un vinaigre épais, mature, complexe, savoureux et très aromatique. Ce vinaigre bénéficie d'une AOP (Appellation d'origine protégée) (**Lefief, 2019**).

I.2.4.6 - Vinaigre de fruits

L'utilisation des vinaigres de fruits est devenue de plus en plus importante dans le domaine de la nutrition comme approche visant à accroître l'efficacité et les bienfaits de ces substances. En effet, les fruits sont riches en sucres (glucose, fructose) et contiennent une teneur élevée en fibres alimentaires (cellulose, hémicellulose, pectine), en acides organiques (acide citrique, acide malique, acide tartrique, acide fumarique etc...) et sont généralement utilisés en tant que matière première de la fermentation du vinaigre (**Sivapragasam et al., 2023**). Aux côtés du vinaigre de cidre, qui est le plus connu, on trouve aussi des vinaigres de fruits produits à partir de fruits tropicaux tels que le vinaigre de papaye (**Bouatenin et al., 2020**), le vinaigre de canne à sucre (**Singh et al., 2023**), le vinaigre d'ananas (**Roda et al., 2016**), le vinaigre de mangue (**Adebayo et al., 2017**), le vinaigre de datte (**Laouar et al., 2021**).

I.2.5 - Effets thérapeutiques du vinaigre

I.2.5.1 - Effet antibactérien

L'acide acétique est le principal acide organique présent dans le vinaigre et est responsable de ses puissants effets antimicrobiens. Une analyse de l'influence des acides organiques sur les bactéries pathogènes d'origine alimentaire a montré que l'acide acétique avait l'effet inhibiteur le plus puissant sur la croissance d'*Escherichia coli* O1757 : H7, par rapport à l'acide lactique, citrique et malique. La croissance d'*Escherichia coli* dans les aliments conservés au réfrigérateur a été également inhibée par ajout de vinaigre (**Park et al., 2016**). Par ailleurs, une solution de vinaigre à 10% s'est avérée efficace pour inhiber le développement de *Candidia spp* (**Pinto et al., 2008**). Une étude similaire sur les propriétés antimicrobiennes du vinaigre de cidre contre *E. coli*, *C. albicans* et *S. aureus* a montré que le type de micro-organisme déterminait la dilution du vinaigre à laquelle leur développement était observé (**Yagnik et al., 2018**). Par conséquent il a été suggéré par la suite que l'acide acétique affecte le métabolisme bactérien, par exemple en inhibant les activités enzymatiques, en perturbant la fonction membranaire, en altérant le transport des nutriments et en affaiblissant l'activité métabolique (**Fernandes et al., 2019**).

I.2.5.2 - Effet antioxydant

Le vinaigre est riche en composés phénoliques qui sont responsables des propriétés de ce produit sur la santé notamment antiinflammatoires, antitumoraux et antidiabétiques (**Fushimi et al., 2001**). En Inde, **Pazuch et al. (2015)** ont montré que le contenu phénolique et l'activité antioxydante étaient plus importants dans le vinaigre de jujube produit localement par rapport au jus de fruit frais. Ils ont donc conclu que le vinaigre possède une activité antioxydante considérable. En outre, l'inclusion du vinaigre étant riche en polyphénols peut avoir dans l'alimentation des effets protecteurs contre les maladies chroniques, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires (**Forbez et al., 2015**).

I.2.5.3 - Effet sur la santé intestinale

Le vinaigre permet de résoudre un bon nombre de problèmes du tube digestif, en particulier le vinaigre de cidre qui favorise la santé intestinale. En effet, l'acide acétique contenu dans le vinaigre est connu pour empêcher la prolifération de bactéries nocives dans l'intestin tout en améliorant la population microbienne intestinale bénéfique notamment les bactéries intestinales saines (**Zhu et al., 2019**). Par ailleurs, une étude clinique a démontré que le vinaigre peut être

utilisé comme traitement efficace pour réduire la constipation chez les patients obèses (**Hjorth et al., 2020**).

I.3 - Risques sanitaires liés à la consommation des tripes de bœuf crues

Les sous-produits animaux sont définis comme le cinquième quartier ou abats, étant des parties non carnées d'une carcasse (**Soladoye et al., 2022**). En effet les abats peuvent être décrits comme les organes internes et les entrailles d'un animal abattu, à l'exclusion des muscles et des os. **Mullen et Álvarez (2016)** ont publié que les abats sont un terme utilisé pour classer les parties d'un animal abattu qui tombent de la carcasse lors du parage, comme les organes et les entrailles. La classification des abats comprend la distinction entre les rouges et les blancs. Les abats rouges sont constitués de parties directement comestibles, pouvant être consommées sous une forme reconnaissable. En revanche, les abats blancs désignent les parties comestibles mais nécessitant un traitement ultérieur, comme l'estomac et les intestins. (**Mullen et Álvarez, 2016**). La viande du rumen, également connue sous le nom de « tripes » est l'un des abats blancs comestibles les plus importants. Il représente environ 1,3 % du poids d'abattage. Le rendement en tripes de bœuf varie de 4,36 à 5,45 kg/animal. Les propriétés texturales typiques des tripes de bœuf, telles que la mastication et l'élasticité offrent une expérience sensorielle unique lors de la dégustation (**Anandh et al., 2014**). Les abats non organiques, tels que les tripes et la langue, peuvent avoir des comptes microbiologiques intrinsèquement plus élevés en raison de leur fonction/emplacement chez l'animal. En effet, les tripes peuvent être traitées de plusieurs manières, ce qui entraîne une grande variation de la qualité microbiologique du produit final et causant de nombreuses maladies d'origine alimentaire tel que les toxi-infections et intoxications pouvant conduire à la mort (**Vanderlinde et al., 2022**). Les principaux micro-organismes pathogènes causant des maladies d'origine alimentaire dans les abats rouges et blancs sont : *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella* et *Campylobacter jejuni* (**Cohen et al., 2006**).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1 - MATERIEL

Le matériel qui a été utilisé dans ce travail était constitué du matériel microbiologique, du matériel végétal (fruits de tamarin), du matériel alimentaire (tripes de bœuf) et du matériel d'analyse.

II.1.1 - Matériel microbiologique

Le matériel microbiologique utilisé dans ce travail était la mère du vinaigre kombucha qui a été fourni par le laboratoire de microbiologie de l'Université de Yaoundé I pour la production du vinaigre à partir de la pulpe des fruits tamarin.

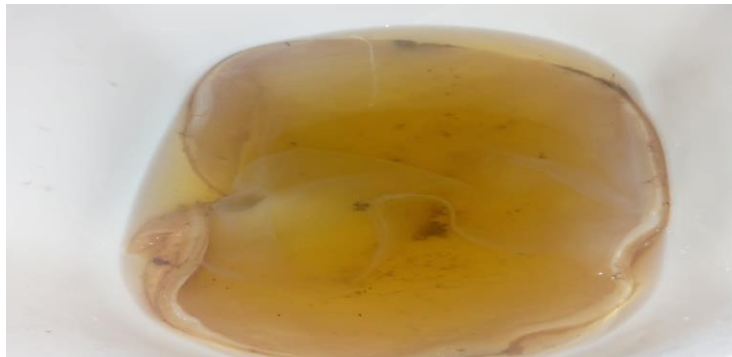


Figure 4: Mère de Kombucha (Mang, 2024)

II.1.2 - Matériel végétal

Le matériel végétal qui a été utilisé dans ce travail était le fruit de *Tamarindus indica* trivialement appelé *tamarin* qui a été acheté au marché Elig-Edzoa (3°53'22''N, 11°31'47''E, Centre, Cameroun) dans le 1^{er} arrondissement de la ville de Yaoundé. La pulpe de ce fruit a permis d'obtenir un mout qui a été utilisé pour la production du vinaigre.



Figure 5: Fruit de *Tamarindus indica* (Mang, 2024)

II.1.3 - Matériel alimentaire

Le matériel alimentaire utilisé dans ce travail était les tripes de bœuf crues qui ont été achetées au marché du Mfoundi dans le 5^{ème} arrondissement de la ville de Yaoundé (3°51'57''N, 11°31'29''E, Centre, Cameroun). Elles ont été utilisées pour isolement des germes pathogènes et les tests de sensibilité *in situ*. Un vinaigre de cidre de 50cl, ayant été utilisé comme témoin positif pour le test de sensibilité *in vitro* et *in situ*. Il a été acheté au Supermarché Carrefour de la marque Carrefour Bio et de numéro de lot L31123. Il a été utilisé



Figure 6: Tripes de bœuf (Mang, 2024)



Figure 7: Vinaigre de cidre (Mang, 2024)

II.1.4 - Matériel d'analyse

Le matériel d'analyse utilisé dans cette étude était celui dont dispose le laboratoire de microbiologie de l'Université de Yaoundé I. Ce matériel était constitué d'appareils, de la verrerie, des milieux de culture et réactifs.

II.1.4.1 - Milieux de culture

Les milieux utilisés dans cette étude sont ceux qui ont servi pour les analyses microbiologiques. Ils sont constitués des milieux gélosés et des milieux liquides.

Les milieux gélosés ont été :

- Le milieu Glucose-Yeast extract-CaCO₃ (GYC), utilisé pour le test de production d'acide gluconique à partir du glucose ;
- Le milieu Frater / Glucose-Yeast extract- CaCO₃-Ethanol (GYCE), utilisé pour le dénombrement des bactéries acétiques et le test de production de l'acide acétique à partir de l'éthanol ;
- Le milieu Carr, pour la réalisation du test d'oxydation de l'acide acétique en gaz carbonique et en dihydrogène ;

- Le milieu Glucose - Yeast extract – Acetic Acid (GYA), plus acide ac pour le test de croissance des bactéries acétiques en présence d'acide acétique ;
- Le milieu Glucose – Yeast extract-Peptone (GYP), pour le test de pigmentation ;
- Le milieu au glycérol utilisé pour le test au pouvoir cétogène ;
- Le milieu Salmonella-Shigella (SS), pour l'isolement et le dénombrement des *salmonella* ;
- Le Milieu Mac Conkey, pour l'isolement et le dénombrement d'*Escherichia coli* ;
- Le milieu Mannitol Salt Agar (MSA), pour l'isolement et le dénombrement des *staphylocoques aureus* ;
- Le milieu De MAN Rogosa et Sharp (MRS) a été utilisé pour l'isolement et le dénombrement des bactéries lactiques ;
- Le milieu Sabouraud au chloramphénicol, pour le dénombrement des levures ;
- Le Mueller Hinton Agar (MHA), a été utilisée pour, la détermination des diamètres des zones d'inhibitions ;
- Le bouillon Rappaport vassiliadis au soja (RVS) pour l'enrichissement des salmonelles.

II.1.4.2 - Réactifs

Les réactifs quant à eux, ont été utilisés pour les analyses physicochimiques. Ces réactifs sont entre autres :

- L'hydroxyde de sodium (NaOH), utilisé pour le dosage de l'acidité titrable ;
- Le vert de bromocrésol, utilisé pour la mise en évidence de l'oxydation de l'acide acétique ;
- La liqueur de Fehling, utilisé pour la mise en évidence de la dihydroxyacétone ;
- Le Lugol, utilisé pour la mise en évidence de la production de la cellulose ;
- L'acide sulfurique 60%, utilisé pour la mise en évidence de la production de la cellulose ;
- L'acide acétique pur, pour le test d'oxydation de l'acide acétique.

II.1.4.3 - Appareils et verreries

Pour les analyses physicochimiques, les appareils utilisés ont été :

- Un pH-mètre de marque CE, utilisé pour la mesure du pH de nos échantillons de vinaigre ;
- Un Brix mètre de marque ATC, utilisé pour la mesure de la concentration en sucre dans les moûts de la pulpe de tamarin.

II.2 - METHODES

Le présent travail s'est effectué en deux principales phases correspondant aux objectifs fixés.

- ❖ La production du vinaigre de la pulpe de tamarin ;
- ❖ La détermination de l'activité antibactérienne *in vitro* et *in situ* du vinaigre de la pulpe de tamarin produit.

II.2.1 - Production du vinaigre de la pulpe de tamarin

Durant cette phase il a été question de prime abord d'isoler, dénombrer et caractériser les microorganismes impliqués dans la production du vinaigre puis de produire le vinaigre et enfin d'évaluer les caractéristiques de ce dernier.

II.2.1.1 - Isolement et dénombrement

Pour l'isolement des microorganismes responsables de la production du vinaigre bactéries acétiques, des levures et de bactéries lactiques, une jeune préparation de 700ml de la boisson (thé) kombucha a été réalisée à partir de 52,2g de sucre et 2 cuillères à soupe de thé vert de marque *CAMEROON TEA ESTATE* en ajoutant une mère de Kombucha à 3% et laissée en fermentation pendant 10 jours à une température $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ (Cardoso *et al.*, 2020). Après 48h de fermentation de cette préparation, une série de dilutions décimales ont été réalisées jusqu'à la dilution 10^{-7} . Par la suite 0,1ml de chaque dilution a étéensemencé sur des milieux appropriés.

II.2.1.2 - Bactéries acétiques

L'isolement et le dénombrement des bactéries acétiques ont été réalisés sur le milieu GYC (10% glucose ; 1% yeast extract ; 2% calcium carbonate ; 1,5% agar ; pH 6.8) supplémenté de natamycine (100mg/L) pour inhiber les levures et la pénicilline (12,5mg/L) pour inhiber la croissance de bactéries lactiques. Après 48h d'incubation à 30°C , les colonies ont été dénombrées et le résultat exprimé en Log UFC/mL. Les colonies présentant un halo dû à une acidification du milieu ont été sélectionnées ensuite purifiées par stries successives. Les isolats purifiés Gram négatif et oxydase négatif sont présumés être des bactéries acétiques. Les isolats isolés ont été conservés dans des tubes Eppendorf, à -4°C , dans un milieu GY (10% glucose, 1% yeast extract), avec 20% de glycérol, pour les études ultérieures. (Kourouma *et al.*, 2021)

II.2.1.3 - Levures

L'isolement et le dénombrement des levures ont été effectués en ensemençant 0,1 mL de chaque dilution en surface par étalement sur la gélose Sabouraud au chloramphénicol. L'incubation a été faite à la température de 25°C pendant 3 jours **NF ISO 21527-1 (2008)**.

II.2.1.4 - Bactéries lactiques

Le dénombrement des bactéries lactiques a été effectué en ensemençant 1 mL de chaque dilution en profondeur dans la gélose Man, Rogosa et Sharpe (MRS) puis les boîtes de Pétri ont été incubées à 30°C pendant 48h. **NF ISO 15214 (1998)**.

II.2.1.5 - Expression des résultats

Après les temps d'incubation, les colonies ont été comptées. Les résultats ont été exprimés en nombre d'unité formant colonies par gramme ou par millilitre de produit (N) selon l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{mL} \times (n_1 + 0.1n_2) \times d_1}$$

N : Nombre d'UFC par gramme ou par mL de produit initial ;

$\Sigma \text{colonies}$: Somme des colonies des boîtes interprétables ;

V_{mL} : volume de l'inoculum déposé ;

n_1 : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue ;

n_2 : nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue ;

d_1 : la première dilution retenue ;

$0,1$: coefficient d'uniformisation.

II.2.2 - Caractérisation des bactéries acétiques

Afin d'identifier les bactéries acétiques, des examens macroscopiques, microscopiques (coloration de Gram et état frais) et une caractérisation biochimique ont été réalisés sur les colonies pures obtenues. La caractérisation biochimique a été faite par recherche des caractéristiques propres aux bactéries acétiques notamment leur capacité à dégrader l'éthanol en acide acétique et leur tolérance à l'acide acétique. De plus, certains tests ont permis de différencier les bactéries acétiques entre elles grâce à leur capacité à produire ou à dégrader certains composés.

II.2.2.1 - Caractérisation macroscopique et microscopiques

Les isolats de bactéries acétiques purifiés ont subi une observation macroscopique dans le but de déterminer leurs formes, taille, couleur, contour et l'opacité. Après cette observation macroscopique, la coloration de Gram et l'état frais ont été effectués, pour déterminer la morphologie, le type de Gram, le mode regroupement cellulaire et la mobilité. (El-Salam, 2012).

II.2.2.2 - Caractérisation biochimique

1. Catalase

L'activité catalase a été confirmée, par la formation des bulles d'air due au contact des bactéries et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) traduisant ainsi la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène (Reiner, 2010).

2. Oxydase

Le test d'oxydase a été réalisé en mettant en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en dérivé rose violacé comme décrit par Shields et Cathcart (2010).

3. Production d'acide acétique à partir d'éthanol

Pour observer la production d'acide acétique à partir de l'éthanol, la technique de la dissolution du $CaCO_3$ autour des colonies sur le milieu solide GYCE (Glucose-Yeast extract- $CaCO_3$ -Ethanol) a été utilisée. La présence d'un halo clair autour des colonies après 48h d'incubation à 30°C traduisait d'une réaction positive à la production d'acide acétique. (Wu *et al.*, 2012).

4. Oxydation d'acide acétique en CO₂ et H₂O

Encore appelé pouvoir suroxydant, il a été mis en évidence sur milieu Carr. Pour ce faire 0,1mL de chaque isolat pur a été ensemencé sur ce milieu par étalement. Le virage de l'indicateur coloré (vert de bromocrésol) du vert au jaune après 48h d'incubation à 30°C a traduit l'oxydation de l'acide acétique (**Carr, 1968**).

5. Croissance en présence d'acide acétique

La capacité à tolérer certains seuils de concentrations en acide acétique est une caractéristique essentielle des bactéries acétiques. Pour ce faire, 0,1mL de chaque isolat a été ensemencé sur le milieu GYA (Glucose - Yeast extract) contenant 0,35% (V/V) d'acide acétique pur. L'observation des colonies après 48h d'incubation à 30°C sur ce milieu a traduit la tolérance de l'isolat cultivé vis-à-vis de l'acide acétique (**Rodrigo et al.,2018**).

6. Pouvoir cétogène

Certaines bactéries acétiques peuvent transformer le glycérol en dihydroxyacétone, qui peut être mis en évidence par la liqueur de Fehling. Les isolats ont été ensemencés sur un milieu gélosé au glycérol pendant 24 à 48h d'incubation à 30°C. La révélation a été faite en ajoutant 200microlitres de liqueur de Fehling dans les boites de culture puis l'excédent a été retiré. Une réaction positive se matérialise par une coloration rouge brique autour des colonies. (**Guiraud, 2012**).

7. Production de pigmentation

Certaines souches de bactéries acétiques produisent un pigment brun durant leur culture. Les isolats ont été ensemencés sur milieu GYP (Glucose - Yeast extract-Peptone) et incubées à 30°C pendant 48h. La présence ou l'absence de pigmentation brune sur le milieu a été observée (**Guiraud, 2012**).

8. Formation d'acide gluconique à partir du glucose

Chaque isolat pur a été ensemencé sur la gélose GYC (Glucose-Yeast extract-CaCO₃) puis incubé à 30°C pendant 48h. La production d'acide gluconique se traduit par la présence d'une zone claire autour des colonies (**Gullo et al., 2006**).

9. Production de cellulose

Chaque isolat pur a été cultivé dans un bouillon puis incubé à 30°C pendant 48h. S'il se formait une pellicule blanche, s'il apparaissait de sphères ou masses irrégulières à la surface du bouillon, celle-ci était prélevée et placée sur une lame pour être recouverte successivement de Lugol, puis d'acide sulfurique à 60%. Le développement de la couleur bleue a traduit la production de cellulose (Gu et Catchmark, 2012).

II.2.3 - Production du vinaigre à partir du tamarin

Les fruits de tamarin ont été pesés (1kg) à l'aide d'une balance de précision et lavés afin de les débarrasser de toutes impuretés puis 2L d'eau ont été ajoutés et l'ensemble a été porté à ébullition pendant 20 minutes. Ce mélange, une fois refroidi a été pétri en ajoutant à nouveau 3L d'eau pour obtenir le mout de tamarin.

La production de vinaigre de la pulpe de tamarin a été réalisée suivant la méthode de Mbungu (2016) avec modification (Figure 8). Le degré Brix du mout a été déterminé à l'aide d'un Brix-mètre (12,8°B), puis une série de chaptalisation a été effectuée en ajoutant à chaque fois à un litre de mout 12g, 32g, 52g, 72g, de saccharose afin d'obtenir des degrés Brix de 14, 16, 18, 20 respectivement. Ces quatre mouts de degré Brix différents ont été introduits dans des bouteilles en verre stérile de 300ml à raison de 180ml de mout par bouteille. Ils ont ensuite été pasteurisés pendant 15 minutes à 85°C et refroidis jusqu'à température 30°C.

Les bouteilles en verre de fermentation ont été complétées au 2/3 de leur volume en ajoutant à nos 180mL de mout 20mL de la jeune préparation de Kombucha contenant 5,5 Log de AAB, 5 Log de levures, 3,5 Log de LAB afin de déclencher une fermentation alcoolique puis acétique. Le mélange a été laissé pendant 45 jours ensuite filtré pour éliminer les dépôts résultant de la fermentation.

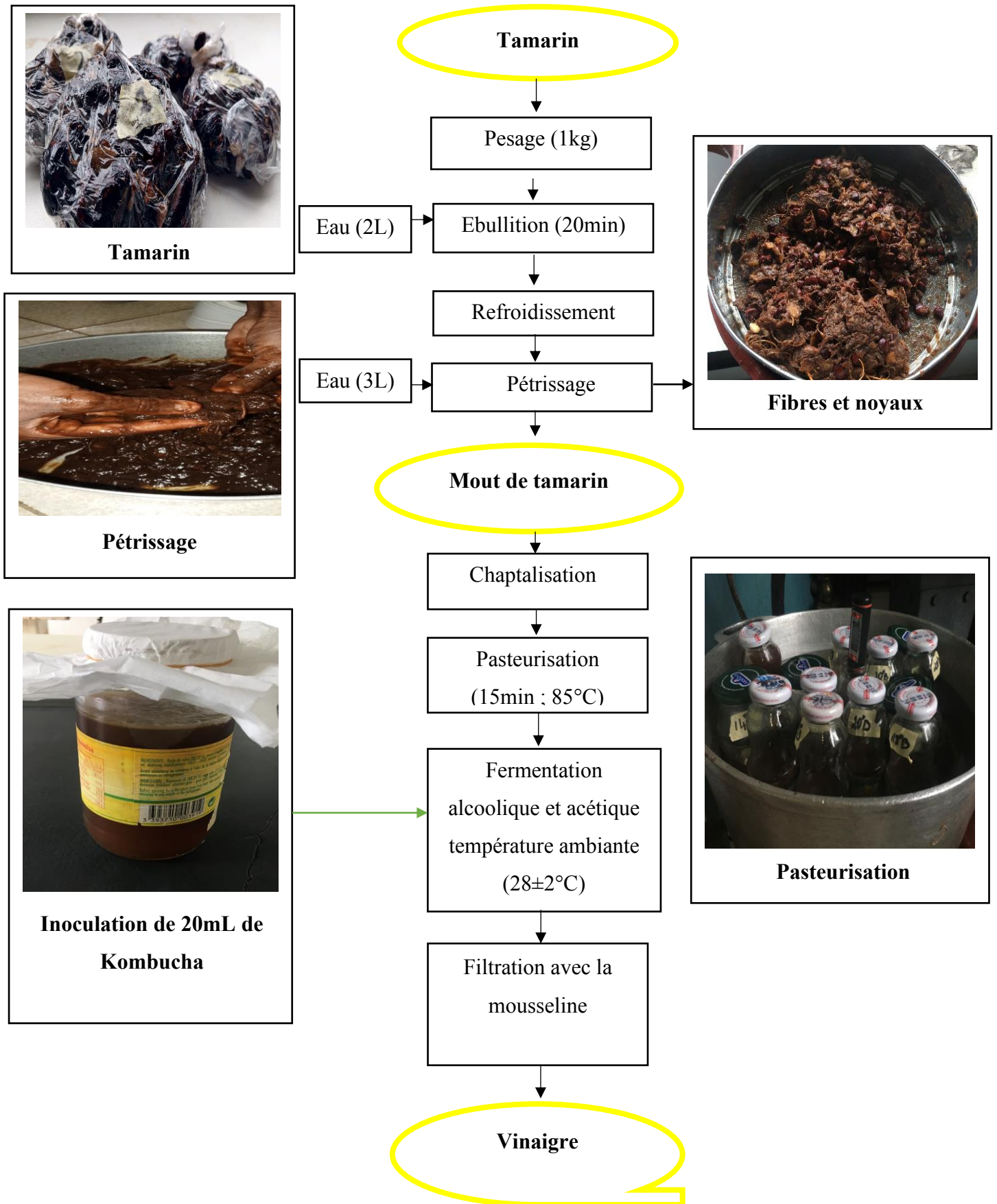


Figure 8: Diagramme de production du vinaigre de la pulpe tamarin

II.2.4 - Evaluation des paramètres physico-chimiques

Durant les 45 jours de fermentation, des analyses physico-chimiques ont été effectuées tous les 3 jours afin de suivre l'évolution de ces paramètres dans le milieu fermentaire.

II.2.4.1 - Détermination du pH

La détermination du pH a été effectuée par une lecture directe à l'aide d'un pH mètre préalablement étalonné. La lecture s'est faite en s'assurant que l'électrode soit complètement immergée dans la solution **AOAC (2000)**.

II.2.4.2 - Détermination du taux de solides solubles

Le taux de sucres solubles (TSS), exprimé en degré Brix a été déterminé à l'aide d'un réfractomètre. La mesure de TSS a été obtenue par lecture directe en appliquant une à deux gouttes de l'échantillon sur le prisme inférieur **AOAC (2000)**.

II.2.4.3 - Détermination de l'acidité

L'acidité titrable a été déterminée par dosage acido-basique avec une solution de soude à 0,1 N, en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré selon la méthode de l'**AOAC (2000)**. Toutes les 72h, 2ml de notre solution ont été prélevés puis placés dans un bécher puis quelques gouttes de phénolphtaléine ont été ajoutées. Le dosage avec la soude a été effectué jusqu'au virage de l'indicateur en rose montrant ainsi le point à l'équivalence.

Le degré d'acidité **D** d'un vinaigre est défini comme étant la masse d'acide acétique pure contenue dans 100ml de vinaigre. Le calcul du degré d'acidité s'est effectué comme suit :

→ Après dosage à l'équivalence, la concentration g/l d'acide acétique est donnée par la relation :

$$C_m = \frac{C_B * V_B * M_A}{V_A}$$

- **C_B** est la concentration du NaOH
- **V_B** est le volume de NaOH versé
- **V_A** est le volume de l'échantillon à doser
- **M_A** est la masse molaire de l'acide acétique

→ Le degré d'acidité a été calculé par la formule suivante :

$$D = \frac{C_m}{10}$$

II.3 - Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin

II.3.1 - Analyses microbiologiques des tripes de bœuf crues

II.3.1.1 - Enquête

Des entretiens ont été réalisés auprès des vendeurs de tripes de bœufs braisées dans la rue à l'aide d'un questionnaire. L'enquête avait pour objectif de collecter les données sur le lieu d'achat, type de tripes achetées, mode transport, le type de lavage effectué, type d'eau de lavage, provenance de l'eau, le nombre de lavage et la durée de lavage des tripes de bœuf crues.

II.3.1.2 - Echantillonnage

La collecte des échantillons des tripes de bœuf crues a été réalisée auprès des grossistes du marché Mfoundi de l'arrondissement de Yaoundé 5° (3°51'57''N, 11°31'29''E, Centre, Cameroun). Les échantillons ont été prélevés dans des sachets zip stériles puis étiquetés (code, date et lieu de collecte) ensuite transportés au laboratoire dans une glacière pour traitement puis analyses.

II.3.1.3 - Lavage des tripes de bœuf

II.3.1.4 - Préparation de l'échantillon et dilutions décimales

Une masse de 25g de tripes de bœuf a été pesée aseptiquement ensuite introduit dans un Erlenmeyer stérile contenant 225ml d'eau peptonée stérile. Le mélange ainsi obtenu est homogénéisé pendant 10 à 15 minutes puis soumis à une série de dilutions décimales **NF en ISO 6887-1 : 2004. Le meme processus pour l'eau de lavage chercher réferece de l'analyse de l'eau.**

II.3.1.5 - Isolement et dénombrement d'*Escherichia coli*

La recherche d'*Escherichia coli* s'est faite par ensemencement de 0,1ml des différentes dilutions sur milieu Mac Conkey. Au terme d'une période d'incubation de 24 à 48h à 37°C, les colonies roses sont dénombrées et prélevées du milieu pour des épreuves de confirmation (catalase et coloration de Gram) **ISO 4832 : 2006.**

II.3.1.6 - Isolement et dénombrement de *staphylocoques aureus*

Elle s'est faite selon la norme (NF ISO 6888-1 : 2004) en ensemencement 0,1 ml des dilutions décimales retenues sur milieu Manitol Salt Agar puis incubé pendant 24h d'incubation à 37°C. Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent jaunes. La présence de *Staphylococcus aureus* est confirmée par les tests de la catalase, coloration de Gram et la coagulase.

II.3.1.7 - Isolement des salmonelles

La recherche des salmonelles a été faite en 3 étapes (le pré enrichissement, l'enrichissement, isolement, identification) selon la norme ISO 6579-2017.

- **Pré enrichissement**

25 g de viande ont pesés et introduits dans un Erlenmeyer contenant 225 ml d'eau peptonée stérile. L'ensemble a été incubé pendant 24 heures à une température de 37°C.

- **Enrichissement**

1 ml de culture du pré-enrichissement est introduit dans les tubes contenant 9 ml du bouillon Rappaport Vassiliadis Soja (RVS). L'incubation a été faite 37°C pendant 24 heures.

- **Isolement**

A partir du milieu d'enrichissement, un isolement par des stries a été réalisé sur milieu SS à l'aide d'une anse de platine ensuite les boîtes ont été incubés à 37°C pendant 24h.

Les souches de bactéries pathogènes ont été conservées après repiquage dans des tubes Eppendorf, à -80°C, dans un bouillon nutritif avec 20% de glycérol, pour les tests *in vitro*.

II.3.2- Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin *in vitro* vis-à-vis des bactéries pathogènes

II.3.2.1 - Préparation de l'inoculum bactérien

Pour la préparation de l'inoculum bactérien, des colonies de 18 à 24h isolées sur milieu spécifique ont été introduits et homogénéisées dans 5mL d'un d'eau stérile contenue dans un tube à essai. Cette suspension a été ajustée par comparaison au standard Mc Farland 0,5 correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,1. Ce qui correspond à une suspension contenant environ $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (CA-SFM, 2013) et l'inoculum bactérien a été obtenu par dilution de cette suspension bactérienne au 1/100^{ème} et donc à 10^6 UFC/mL.

II.3.2.2 - Test de sensibilité

L'activité antimicrobienne des vinaigres a été déterminée en utilisant la méthode de diffusion sur gélose contre trois micro-organismes sauvages (*Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *salmonella sp*). Les échantillons de vinaigre produit ont été utilisés comme test et le vinaigre de cidre commercial à 5% a été utilisé pour le contrôle positif. La technique est celle utilisée par **Saqib (2017)**. Les échantillons de vinaigre tests ont été purifiés en utilisant des filtres à membrane (0,45 μm). La gélose Mueller-Hinton a été stérilisée, refroidie entre 45 et 50°C ensuite coulée. Après solidification, 100 μL de la culture bactérienne a été ensemencée. Par la suite, à l'aide d'une perceuse stérile des pores d'un rayon de 5mm ont été effectués pour obtenir des puits dans la gélose Mueller-Hinton. 100 μL de chaque vinaigre test et du vinaigre de cidre ont été ajoutés aux puits et incubées à $37\pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 heures. Les zones autour des puits ont été mesurées en mm. Le diamètre des zones d'inhibition autour de chacun des puits a été pris comme mesure de l'activité antibactérienne. Le vinaigre produit ayant la plus grande activité antimicrobienne sera choisi pour la suite des tests *in situ*.

II.3.3 - Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin *in situ* vis-à-vis des bactéries pathogènes

Le vinaigre ayant obtenu la plus grande activité *in vitro* a été choisi pour la suite de l'étude *in situ*. Le vinaigre commercial de cidre à 5% d'acide acétique a été utilisé comme contrôle positif une fois de plus. Après lavage des tripes de bœufs crues selon l'enquête, 10g ont été prélevés et ajoutés à 50ml de solution de traitement au vinaigre dans des bocaux stériles pendant 0, 10, 15 et 20 minutes à 25°C. Par la suite, les 10g de tripes ont été prélevés et ajoutés à 90mL d'eau peptonnée afin d'effectuer des dilutions en série. 1mL des dilutions ont été étalés sur les milieux spécifiques et les boites de Pétri ont été incubés à 37°C pendant 24h.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 - RESULTATS

III.1.1 - Production du vinaigre de la pulpe de tamarin

III.1.1.1 - Isolement et dénombrement

Après l'isolement des bactéries acétiques de la jeune préparation de Kombucha, 20 isolats ont été obtenus. Sur la base de leur capacité à former un halo clair autour des colonies sur le milieu GYC, ces isolats ont pu être regroupés en 6 isolats codifiés par 1E, 2A, 3AG, 3AP, 4AG, 4AP. Les charges en AAB, LAB et levures étaient respectivement 5.5 ± 0.47 Log UFC/mL, 3.5 ± 0.23 Log UFC/ml et 5.33 ± 0.5 Log UFC/mL .

III.1.1.2- Caractérisation des bactéries acétiques

III.1.1.2.1 - Caractérisation macroscopique et microscopiques

Une analyse culturale et microscopique de ces 6 isolats a permis de présenter une diversité de leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques tel que le montre les résultats du **tableau V**. Il en ressort de ces résultats que ces isolats présentaient les mêmes caractéristiques macroscopiques en termes de forme, couleur, opacité et contours culturaux mais de taille variable allant de petite à moyenne jusqu'à grande. Tous les isolats étaient des Gram négatif avec le même mode de regroupement en chaîne. A l'état frais les 6 isolats ont tous présentés une mobilité, quant à leur formes seul l'isolat 1E a présenté une forme en bâtonnet contrairement aux autres qui étaient en coque.

Tableau V : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques

Isolats		1E	2A	3AG	3AP	4AG	4AP
Caractéristiques macroscopiques	Forme	Arrondie	Arrondie	Arrondie	Arrondie	Arrondie	Arrondie
	Taille	Petite	Petite	Grande	Moyenne	Grande	Moyenne
	Couleur	Beige	Beige	Beige	Beige	Beige	Beige
	Opacité	Opaque	Opaque	Opaque	Opaque	Opaque	Opaque
	Contour	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier
Caractéristiques microscopiques	Mobilité	Mobile	Mobile	Mobile	Mobile	Mobile	Mobile
	Forme	Bâtonnet	Coque	Coque	Coque	Coque	Coque
	Gram	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
	Mode de regroupement	Chaîne	Chaîne	Chaîne	Chaîne	Chaîne	Chaîne

Echelle de la taille des colonies : entre 1 et 2 mm : **Petite** ; entre 3 et 5 mm : **Moyenne** ; >5mm : **Grande**

III.1.1.2.2 - Caractérisation biochimique

Le **tableau VI** montre les résultats de chaque isolat aux différents tests biochimiques. Il en ressort que, tous les isolats sont oxydases négatives et ne produisent pas de cellulose. Ils ont été tous positifs au test à la catalase, à la production d'acide acétique à partir d'éthanol, au pouvoir suroxydant et la croissance en présence d'acide acétique. Les isolats 1E, 2A, 3AP, 3AG et 4AG ont pu former une zone claire autour des colonies sur le milieu GYC, ce qui traduisait la production d'acide gluconique contrairement à l'isolat 4AP n'ayant pas formé une zone claire autour des colonies. Les résultats du test de pigmentation sur milieu GYP, montraient que les isolats 1E, 2A, 3AG, 3AP et 4AP ont produit un pigment brun sur la ligne des stries, ce qui n'a pas été le cas de l'isolat 4AG ayant été négatif à ce test. Le test au pouvoir cétogène a été positif pour les isolats 2A et 3AG, mais négatif pour les isolats 1E, 3AP, 4AG, 4AP car n'ont pas produit un halo rouge brique après addition de la liqueur de Fehling autour des colonies développées sur le milieu gélosé au glycérol.

Tableau VI : Caractérisation biochimique des différents isolats

Isolats	1E	2A	3AG	3AP	4AG	4AP
Tests biochimiques						
Catalase	+	+	+	+	+	+
Oxydase	-	-	-	-	-	-
Production d'acide acétique à partir d'éthanol	+	+	+	+	+	+
Pouvoir suroxydant	+	+	+	+	+	+
Croissance en présence d'acide acétique	+	+	+	+	+	+
Production d'acide gluconique	+	+	+	+	+	-
Production de pigmentation	+	+	+	+	-	+
Pouvoir cétogène	-	+	+	-	-	-
Production de cellulose	-	-	-	-	-	-

+ = Test positif ; - = Test négatif

III.1.1.3 - Evaluation des paramètres physico-chimiques au cours de la production du vinaigre

III.1.1.3.1 - Evolution du pH

La figure ci-contre présente l'évolution du pH dans les quatre échantillons de vinaigre lors de la production. D'après le graphe ci-dessous, il est observé une variation du pH dans tous les vinaigres au cours de la production. En effet, le pH augmente progressivement du 1^{er} jour au 30^{ème} jour de fermentation quittant de $2,16 \pm 0,01$ à $3,68 \pm 0,06$ dans les différents vinaigres. A partir du 30^{ème} jour, ils ont subi une brusque augmentation allant de $3,68 \pm 0,06$ pour atteindre le 45^{ème} jour $4,93 \pm 0,01$.

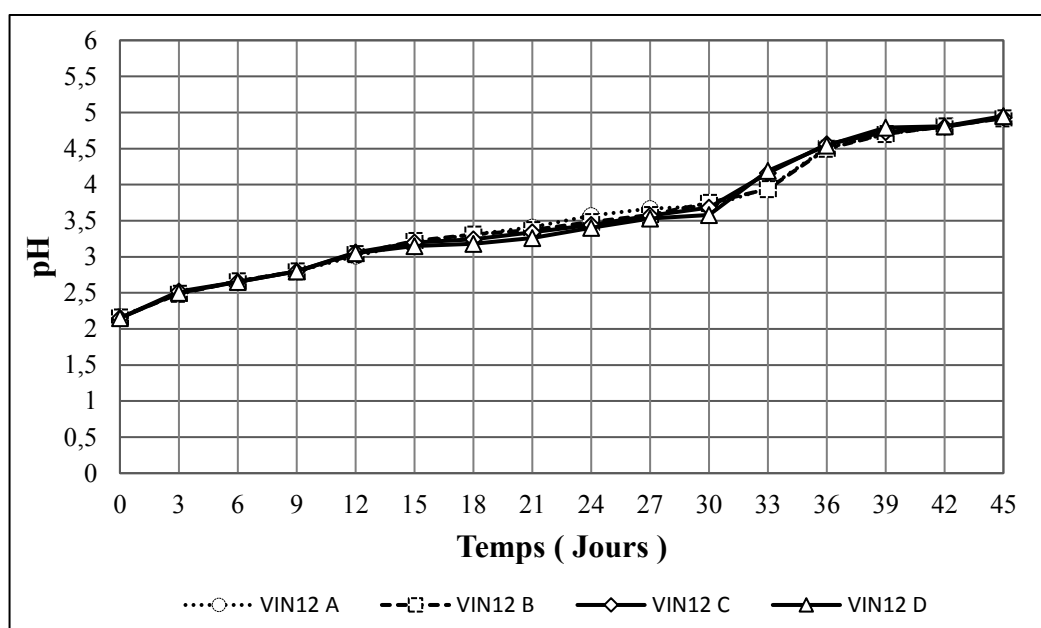


Figure 9 : Evolution du pH durant la production dans les vinaigres VIN12 A, VIN12 B, VIN12 C et VIN12 D en fonction du temps

III.1.1.3.2 - Evolution du taux de sucres solubles

La figure ci-dessous présente l'évolution du taux de sucres solubles dans les quatre vinaigres lors des 45 jours de fermentation. Le graphe ci-dessous a permis d'observer une diminution générale la teneur en sucre de $3,92 \pm 0,07^\circ\text{Brix}$ dans les différents vinaigres au cours des 9 premiers jours. En effet le vinaigre VIN12 A a diminué de 14 ± 0 à $10,00 \pm 0,00^\circ\text{B}$, VIN12 B a diminué de 16 ± 0 à $11,66 \pm 0,47^\circ\text{B}$, VIN12 C et VIN12 D sont quittés de $18,00 \pm 0$ et $20,00 \pm 0$ $^\circ\text{B}$ respectivement à $14,05 \pm 0,5$ et $15,66 \pm 0,47^\circ\text{B}$. A partir du 9^{ème} jour jusqu'au 45^{ème} jour de fermentation on constate une diminution lente de la teneur en sucre dans chaque vinaigre d'environ $1,27 \pm 0,19^\circ\text{B}$.

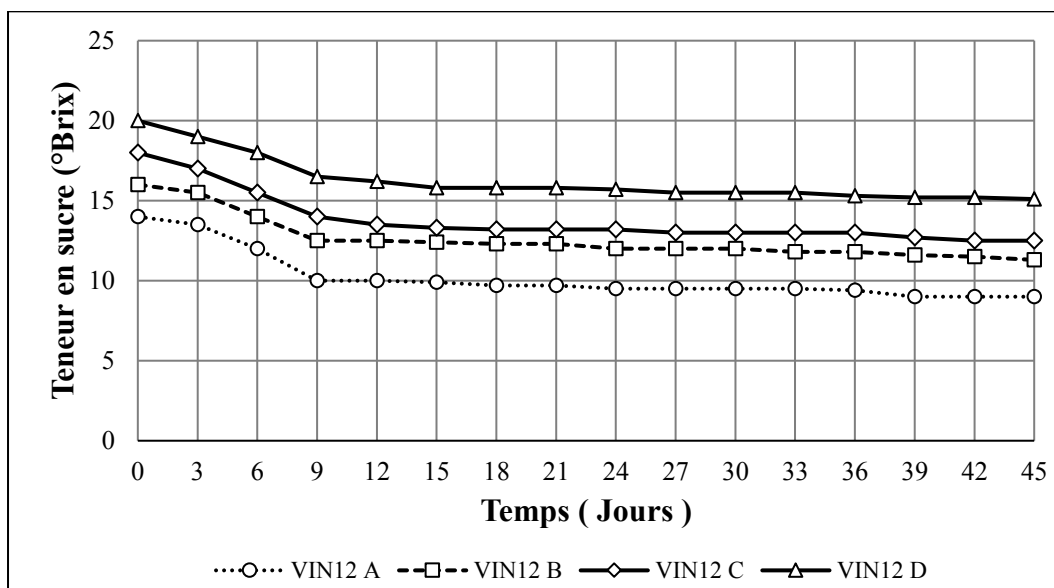


Figure 10: Evolution de la teneur en sucre durant la production dans les vinaigres VIN12 A, VIN12 B, VIN12 C et VIN12 D en fonction du temps

III.1.1.3.3 - Evolution de l'acidité

La figure 12 présente l'évolution du degré d'acidité dans les quatre vinaigres lors de la production. D'après le graphe ci-dessous, le degré d'acidité a subi différentes variations au cours des 45 jours de production. Il en ressort ainsi, du 1^{er} jour au 15^{ème} jour, une augmentation lente du degré d'acidité allant de $1,00 \pm 0,01^\circ$ à $2,63 \pm 0,01^\circ$ pour VIN12 A, de $1,00 \pm 0,01^\circ$ à $2,41 \pm 0,01^\circ$ pour VIN12 B, de $1,00 \pm 0,01^\circ$ à $2,31 \pm 0,00$ pour VIN12 C et de $1,00 \pm 0,01^\circ$ à $2,02 \pm 0,02^\circ$ pour VIN12 D. Entre le 15^{ème} jour et le 18^{ème} jour, on constate cette fois une augmentation rapide du degré d'acidité jusqu'à $3,79 \pm 0,22^\circ$ dans chaque vinaigre. Par la suite, cette augmentation progressive s'est poursuivie atteignant $4,4 \pm 0,02^\circ$ pour VIN12 A, $4,80 \pm 0,03^\circ$ pour VIN12 B, $4,80 \pm 0,05^\circ$ VIN12 C et $5,18 \pm 0,02^\circ$ pour VIN12 D au 30^{ème} jour. Dès le 31^{ème} jour, une diminution brusque du degré d'acidité en dessous de $4,5 \pm 0^\circ$ dans chacun des vinaigres a été observée jusqu'au 33^{ème} jour. Ensuite entre le 34^{ème} jour et 36^{ème} jour, une augmentation rapide de $3,8 \pm 0,09^\circ$ à $4,8 \pm 0,10^\circ$ pour VIN12 A, de $4 \pm 0,02$ à $5,13 \pm 0,04^\circ$ pour VIN12 B, de $4,23 \pm 0,04^\circ$ à $5,31 \pm 0,02^\circ$ pour VIN12 C et de $4,5 \pm 0,15^\circ$ à $5,9 \pm 0,05^\circ$ pour VIN12 D a été constaté. Une seconde diminution de $4,19 \pm 0,22^\circ$ pour tous les vinaigres a été observé et s'est poursuivie jusqu'au 45^{ème} jour à $3,31 \pm 0,05^\circ$ pour VIN12 A et $3,36 \pm 0,02^\circ$ pour VIN12 B par contre au 40^{ème} jour VIN12 C et VIN12 D ont à nouveau augmenté pour atteindre quant à eux $3,85 \pm 0,02^\circ$ et $4,53 \pm 0,01^\circ$ respectivement le 45^{ème} jour.

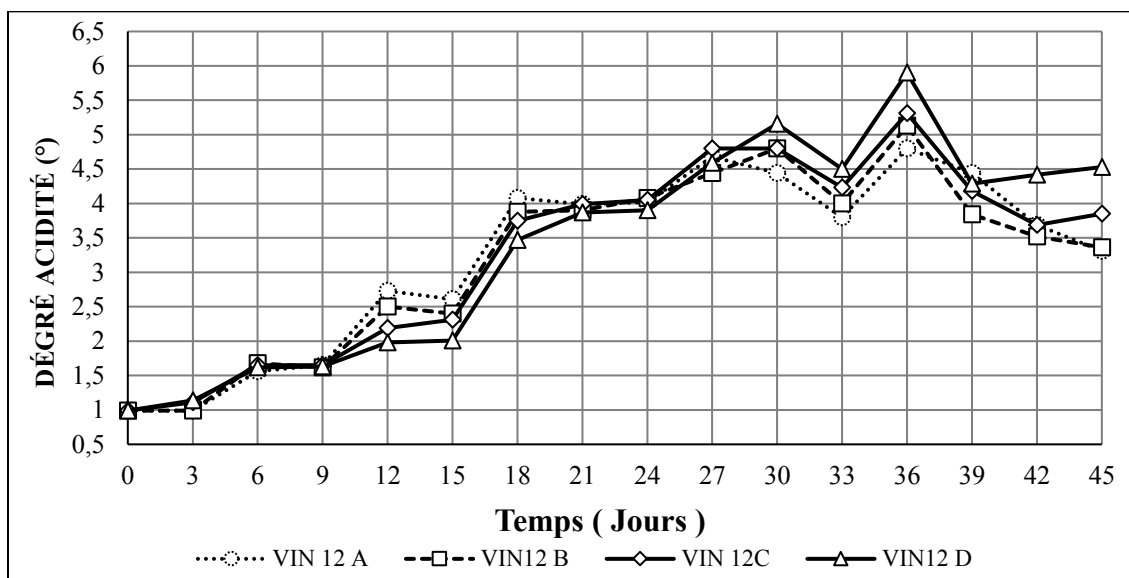


Figure 11: Evolution du degré d'acidité durant la production dans les vinaigres VIN12 A, VIN12 B, VIN12 C et VIN12 D en fonction du temps

III.1.2 - Analyses microbiologiques des tripes de bœuf crues

L'évaluation de la qualité microbiologique des tripes de bœufs crues a consisté à rechercher et évaluer la charge des germes tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* dans l'eau de lavage et dans les échantillons de tripes de bœuf crues lavés.

Le **tableau VII** présente le résultat des concentrations des germes pathogènes présents dans les tripes de bœuf crues lavés et dans l'eau de lavage. Il en ressort qu'après lavage, la charge moyenne en *E.coli* et *S.aureus* était de $5,51 \pm 0,19$ et $4,16 \pm 0,03$ Log UFC/g respectivement. Pour ce qui était des salmonelles, leur présence a été observée dans tous les échantillons analysés. L'analyse de l'eau utilisée après lavage a également montré une présence en *Salmonella sp*, mais aussi une charge en *E. coli* de $6,30 \pm 0,20$ Log UFC/mL et en *S.aureus* de $3,15 \pm 0,10$ Log UFC/mL dans les échantillons analysés.

Tableau VII : Concentrations des germes pathogènes dans les tripes de bœufs crues après lavage (UFC/g) et dans l'eau de lavage (UFC/mL)

	Souches	E n°1	E n°2	Moyenne
Tripes	<i>E. coli</i>	$5,32 \pm 0,02$	$5,71 \pm 0,01$	$5,51 \pm 0,19$
	<i>S.aureus</i>	$4,15 \pm 0,02$	$4,17 \pm 0,04$	$4,16 \pm 0,03$
	<i>Salmonella sp</i>	Presence	Presence	Presence
Eau de lavage	<i>E. coli</i>	$6,50 \pm 0,02$	$6,11 \pm 0,07$	$6,30 \pm 0,20$
	<i>S.aureus</i>	$3,12 \pm 0,04$	$3,17 \pm 0,13$	$3,15 \pm 0,10$
	<i>Salmonella sp</i>	Presence	Presence	Presence

III.1.3 - Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin *in vitro* vis-à-vis des bactéries pathogènes

L'activité antimicrobienne *in vitro* des quatre vinaigres produits ainsi que du témoin positif a été évaluée face aux isolats pathogènes sauvages et les diamètres d'inhibition caractéristiques de cette activité ont été consignés dans le **tableau VIII** et illustrés par les **figures 12, 113 et 14**. Il en ressort que tous les vinaigres produits ont eu une activité antibactérienne vis-à-vis des isolats pathogènes sauvages. Les diamètres d'inhibition des quatre vinaigres ont varié de 15,67±0,24 mm à 17,50±2,16 mm pour *E.coli*, de 12,80±0,70 mm à 16,07±0,66 mm pour *S.aureus* et de 14,50±1,08 mm à 23,17±1,43 mm *Salmonella sp*. L'isolat de *salmonella sp* a été la plus sensible par contre celui de *S.aureus* a été la plus résistante par ailleurs le vinaigre VIN12 D a montré la plus grande activité antibactérienne face aux isolats pathogènes sauvages. Le témoin positif a présenté une activité antibactérienne plus importante que les quatre vinaigres avec des diamètres d'inhibition vis-à-vis d'*E.coli*, *S.aureus* et *Salmonella sp* respectivement de 25,33±0,47 mm, 27,83±0,24 mm et 30,50±0,50 mm.

Tableau VIII : Diamètres d'inhibition (mm) des vinaigres produits et du témoin positif vis-à-vis des isolats sauvages pathogènes.

Isolats sauvages Vinaigre	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>Salmonella sp</i>
VIN12 A	15,67±0,24	12,80±0,70	16,17±2,90
VIN12 B	16,33±1,84	14,73±0,21	14,50±1,08
VIN12 C	15,83±1,03	14,43±0,42	21,00±1,78
VIN12 D	17,50±2,16	16,07±0,66	23,17±1,43
Vinaigre témoin	25,33±0,47	27,83±0,24	30,50±0,50

mm : millimètre

Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin contre quelques bactéries pathogènes alimentaires sur les tripes de bœuf de crues

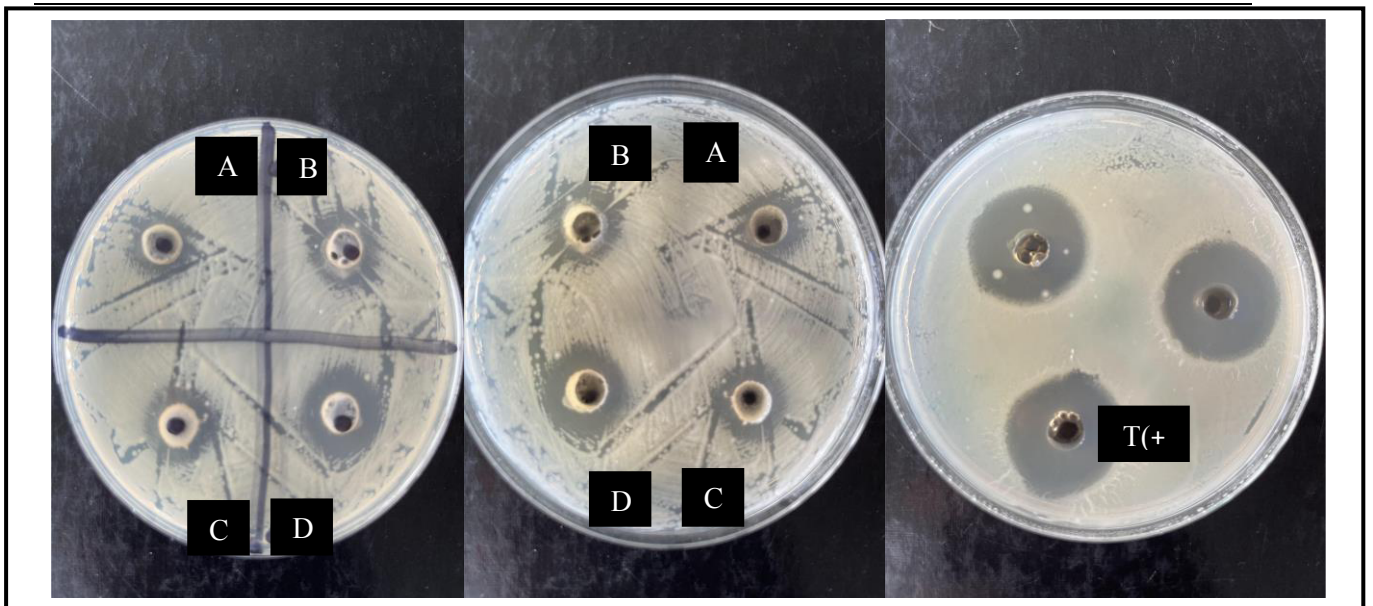


Figure 12: Halos d'inhibitions des vinaigres VIN12 (A, B, C, D) et du témoin positif (+) vis-à-vis de *E.coli*

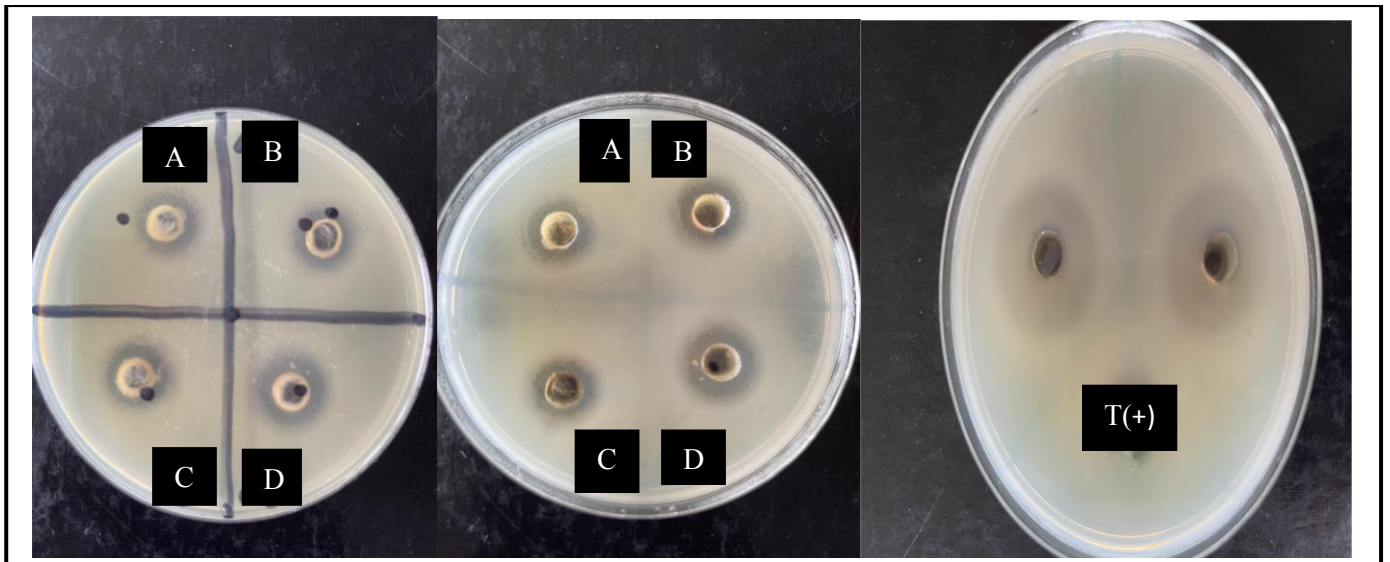


Figure 13: Halos d'inhibitions des vinaigres VIN12 (A, B, C, D) et du témoin positif (+) vis-à-vis de *S.aureus*

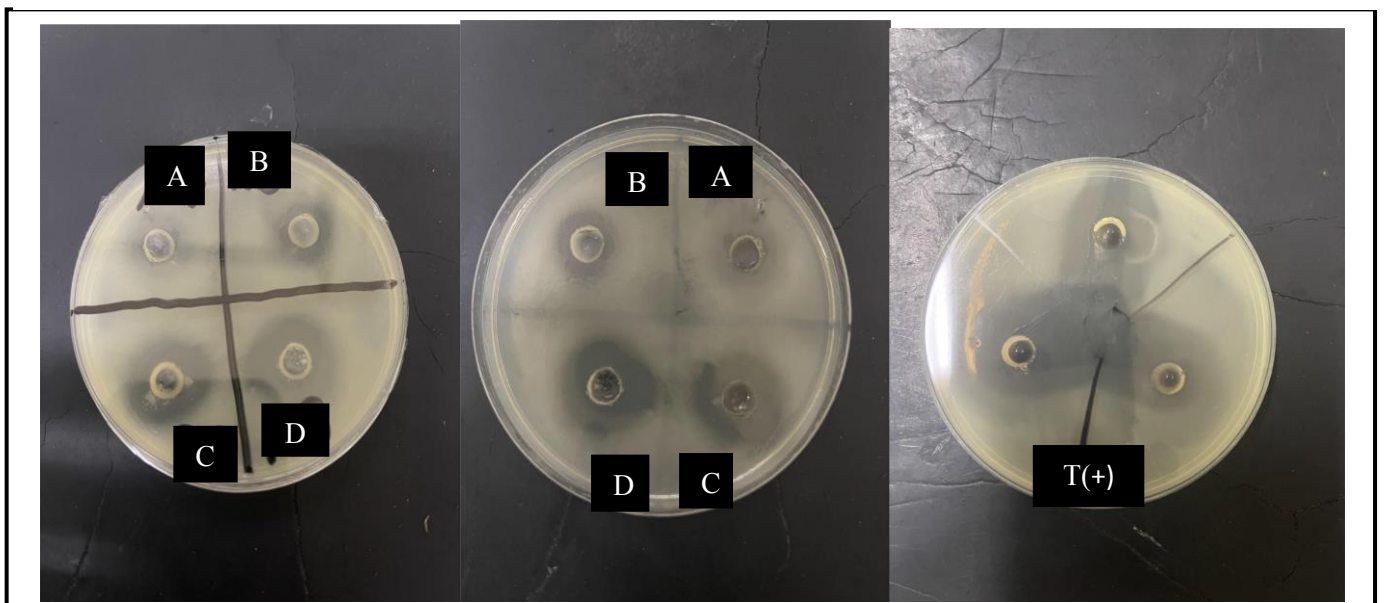


Figure 14: Halos d'inhibitions des vinaigres VIN12 (A, B, C, D) et du témoin positif (+) vis-à-vis de *Salmonella sp*

III.1.4 - Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin *in situ* vis-à-vis des bactéries pathogènes

Il ressort des **figures 15 et 16**, qu'avant traitement la charge en *E.coli* sur les tripes de bœufs crues était de $5,72 \pm 0,10$ Log UFC/g. A la suite du traitement, la charge dans les tripes ne varie pas au contact du vinaigre VIN12 D au bout de 10, 15, 20 minutes avec des charges respectives de $5,65 \pm 0,01$ Log UFC/g, $5,56 \pm 0,29$ Log UFC/g et $5,52 \pm 0,19$ Log UFC/g. Pareillement pour le vinaigre témoin dont le contact n'a pas eu à faire varier la charge au bout de 10, 15, 20 minutes avec des charges respectives de $5,47 \pm 0,03$ Log UFC/g, $5,27 \pm 0,02$ Log UFC/g, $5,08 \pm 0,02$ Log UFC/g.

La charge en *S.aureus* quant à elle était de $4,81 \pm 0,06$ Log UFC/g avant traitement, à la suite du traitement la charge ne varie pas également après contact avec du vinaigre VIN12 D et du témoin positif. Les charges après 10, 15 et 20 minutes de traitement avec le vinaigre VIN12 D étaient respectivement de $4,55 \pm 0,22$ Log UFC/g, $4,53 \pm 0,02$ Log UFC/g et $4,40 \pm 0,0$ Log UFC/g celles avec le vinaigre témoin aux mêmes intervalles de temps ont été respectivement de $4,50 \pm 0,07$ Log UFC/g, $4,40 \pm 0,20$ Log UFC/g, $4,27 \pm 0,13$ Log UFC/g.

La charge en *Salmonella sp* avant traitement était de $4,65 \pm 0,08$ Log UFC/g, à la suite du traitement avec le vinaigre VIN12 D la charge ne varie pas au bout de 10 et 15 minutes avec des charges respectives de $4,42 \pm 0,42$ et $4,37 \pm 0,37$ Log UFC/g, mais diminue de 1 Log au bout de 20 minutes avec une charge correspondante à $3,60 \pm 0,50$ Log UFC/g. Contrairement au vinaigre VIN12 D, le vinaigre témoin a eu à diminuer la charge d'une unité logarithmique dans les tripes après 15 minutes avec une charge de $3,66 \pm 0,57$ Log UFC/g puis d'une unité logarithmique supplémentaire au bout de 20 minutes avec une charge de $2,98 \pm 0,98$ Log UFC/g.

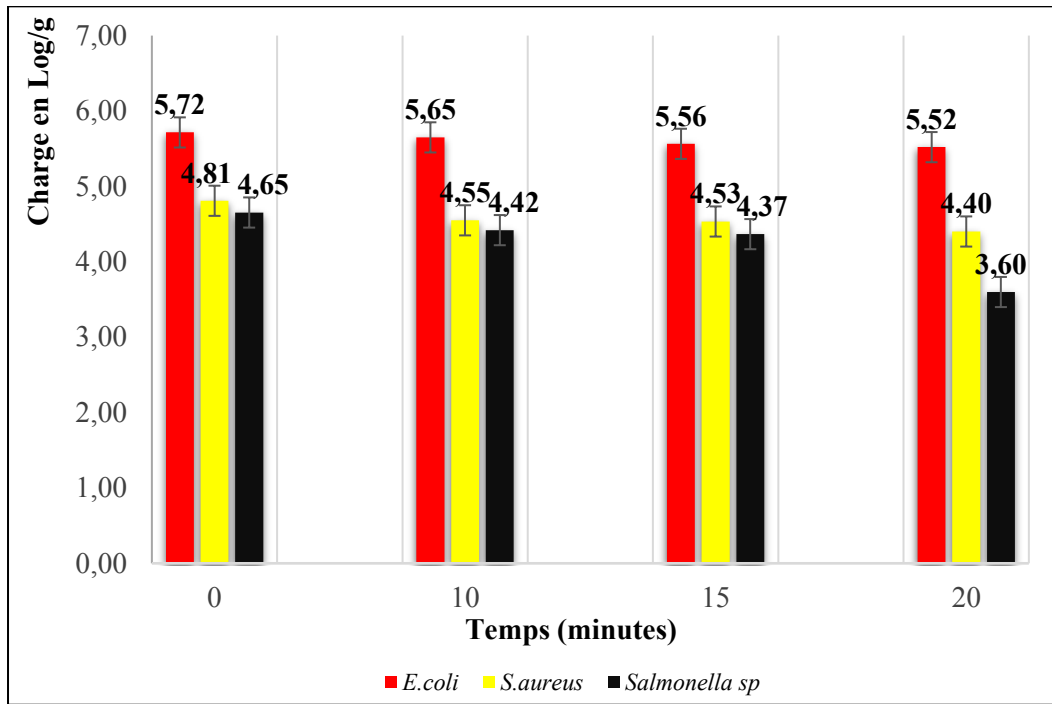


Figure 15: Variation de la charge des bactéries pathogènes après 10, 15, 20 minutes de trempage des tripes de bœuf crues dans le vinaigre VIN12 D

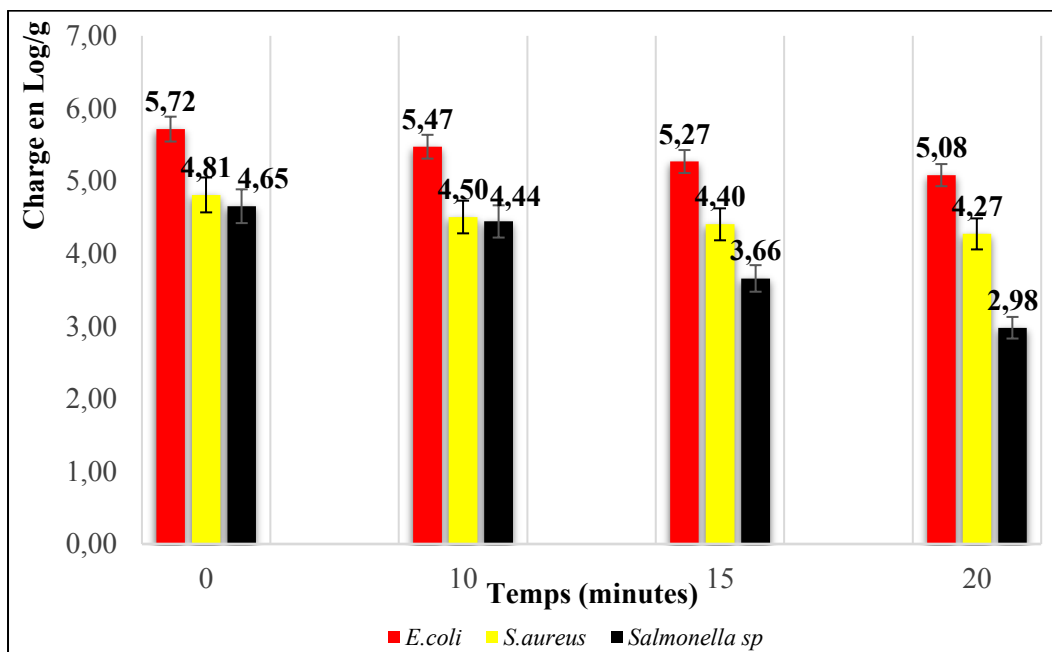


Figure 16: Variation de la charge des bactéries pathogènes après 10, 15, 20 minutes de trempage des tripes de bœuf crues dans le témoin positif

III.2 - DISCUSSION

Au Cameroun dans la région de l'extrême-Nord, les populations consomment des tripes de bœuf crues juste après abattage de l'animal. Cette pratique s'intègre dans leurs habitudes alimentaires, mais ces consommateurs sont exposés à des maladies d'origine alimentaire dues à la présence de micro-organismes pathogènes dans cette viande. Le vinaigre, qui possède un puissant effet antibactérien, pourrait être une alternative permettant de réduire la charge microbienne à risque dans les tripes crues avant consommation. C'est dans ce contexte que s'est inscrit notre étude dont le but est d'améliorer la qualité microbiologique des tripes de bœuf consommées crues à partir du vinaigre de la pulpe de tamarin.

La production du vinaigre de la pulpe de tamarin à partir du kombucha a nécessité une évaluation de la charge microbienne présente dans le kombucha. Une charge en levures de 5.33 ± 0.5 Log UFC/mL, de 5.5 ± 0.47 Log UFC/mL pour les bactéries acétiques et 3.5 ± 0.23 Log UFC/mL pour les bactéries lactiques a été dénombrés de la préparation de kombucha après 48h de fermentation. Des résultats similaires ont été observés à partir des échantillons de kombucha produits par **Wang et al. (2022)** en Nouvelle-Zélande. **Wang et al. (2022)** avaient des concentrations en levures de ($5,69 \pm 0,01$ Log UFC/mL) suivi de ($5,57 \pm 0,07$ Log UFC/mL) et enfin de ($4,75 \pm 0,10$ Log UFC/mL) et des charges en bactéries acétiques de ($5,63 \pm 0,02$ Log UFC/mL) et ($4,97 \pm 0,06$ Log UFC/mL). Cette similitude en matière de population microbienne pourrait s'expliquer par le fait que, dans ces études, la quantification microbienne s'est faite à partir de la partie liquide du kombucha, qui pourrait donc être une matrice mieux adaptée à la croissance rapide des micro-organismes, et non à partir de la partie solide (pellicule) du kombucha.

Les différences macroscopiques et microscopiques ont permis de sélectionner six isolats présumés être des bactéries. Ce faible nombre d'isolats retenus et leurs caractéristiques culturelles et cellulaires sont en accord avec ceux des travaux de **Kowser et al. (2015)**. Les tests biochimiques ont permis de conclure que les isolats se rapprocheraient de la famille des *Acetobacteraceae*, qui est constituée de manière générale de quatre principaux genres à savoir *Komagataeibacter*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, et *Gluconacetobacter* (**Kourouma et al., 2021**). En effet, tous nos isolats ont pu, comme les bactéries du genre *Acetobacter*, *Gluconoacetobacter* et *Komagaeteibacter*, se développer en présence d'acide acétique, d'oxyder l'éthanol en acide acétique et d'oxyder l'acide acétique en CO₂ et H₂O. Le phénomène de suroxydation ou oxydation de l'acide acétique est effectué grâce au cycle de KREBS lorsque l'éthanol se fait rare dans le milieu et qu'il y'a une présence importante d'oxygène dissout (**Sharafi et al., 2010**). Les souches de *Gluconobacter* sont incapables de suroxyder l'acide

acétique à cause d'un dysfonctionnement des enzymes α -cétoglutarate déshydrogénase et succinate déshydrogénase, ces dernières s'arrêtent donc au stade d'oxydation de l'éthanol (**Du Toit et Pretorius 2002**). Tous les isolats se rapprocheraient des genres *Acetobacter* et *Gluconoacetobacter* car ils ont eu la capacité de produire un pigment brun soluble sur le milieu GYP (**Wang et al., 2022**). Par contre l'isolat 4AG dépourvu de cette faculté pourrait être assimilable au genre *Komagaeteibacter*.

Au cours de la production du vinaigre de la pulpe de tamarin, les résultats ont montré une augmentation du pH dans les quatre vinaigres, passant de $2,16 \pm 0,01$ en début de fermentation à $4,95 \pm 0,01$ en fin de fermentation (**figure 10**). Ce résultat n'est pas en accord avec celui de (**Onuorah et al., 2016**). Ce résultat pourrait s'expliquer par la production de composés de neutralisation. En effet la fermentation acétique peut également être accompagnée de la production de composés qui peuvent avoir des propriétés tamponnâtes. Par exemple des carbamates et des phosphates peuvent être formés lors de l'oxydation de l'éthanol et leur accumulation peut contribuer à stabiliser ou même à augmenter le pH (**Vaughan et al., 2019**). Ce résultat pourrait être également due à l'équilibre chimique de l'acide acétique. A mesure que le processus de fermentation progresse et que l'acide acétique est produit, l'équilibre entre l'acide et ses ions (acétate) peut favoriser la dissociation de l'acide acétique, ce qui peut entraîner une augmentation relative du pH (**Rojas et al., 2021**).

Un faible taux de consommation en sucre de 5°B a été constaté au cours de la production des quatre vinaigres (**figure 11**). Des résultats similaires ont été rapportés au cours des travaux réalisées par **Hutchinson et al. (2019)** qui présentent une consommation lente en sucre, allant de 225g/L de sucre initiale à 175g/L de sucre en fin de fermentation. Cette similitude pourrait s'expliquer par le fait que durant notre production nous avons également adopté une stratégie de co-inoculation pour la production de notre vinaigre. En effet lorsque les levures et les AAB sont inoculés simultanément (jour 0), il y'a simultanément consommation d'alcool et formation d'acide (**Hutchinson et al., 2019**). La formation d'acide pourrait avoir inhibée une partie de la capacité de la levure à maintenir des fonctions métaboliques normales (**Yang et al., 2016**). **Sousa et al. (2011)** et **Giudici et al. (2015)** ont également rapporté que la présence d'acide acétique lors des fermentations avec des stratégies co-inoculation entraîne un effet inhibiteur sur la fermentation alcoolique, les performances et la croissance des levures.

Dans la présente étude tous les vinaigres ont présenté une évolution du degré d'acidité au cours de la fermentation (**figure 12**). Ce résultat confirme ceux de plusieurs auteurs (**Ezenekwe et al., 2021**), qui ont démontré l'augmentation de l'acidité avec la durée de la fermentation. En effet lors de la production du vinaigre il y'a conversion des alcools en acide acétique qui est le principal acide organique présent dans le vinaigre (**Ezemba et al., 2021**).

Nous avons constaté une variation du degré d'acidité dès le 30^{ème} jour jusqu'au 45^{ème} jour, ceci pourrait être dû au fait que les bactéries acétiques en plus d'oxyder l'éthanol en acide acétique, peuvent également oxyder l'acide acétique en CO₂ et H₂O (Sharafi *et al.*, 2010). D'après ces résultats, la teneur en acide acétique de tous les vinaigres est tombée en dessous de la référence standard de 5%. Ce résultat est en accord avec les travaux de Aybek et Akkemik (2022) dont les échantillons de vinaigre produits avaient des niveaux d'acidité inférieurs à 40g/L. Cette similitude pourrait être s'expliquer par le fait que le temps de fermentation ainsi que les méthodes de fermentations artisanales ne sont pas les meilleurs pour produire des vinaigres avec des quantités d'acide acétique élevés n'étaient pas optimaux (Ibrahim, 2019).

L'un des objectifs assignés à cette étude était d'évaluer l'activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin. A cet effet, la recherche et le dénombrement de la microflore pathogènes dans les tripes de bœuf après lavage et dans l'eau de lavage a été réalisés. Les résultats de cette analyse microbiologique ont montré une présence en *Salmonella sp.*, une charge moyenne en *Escherichia coli* de 5,51±0,19 Log UFC/g et *Staphylococcus aureus* de 4,16±0,03 Log UFC/g malgré le triple lavage pendant 20 minutes avec l'eau froide. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que certaines de ses bactéries sont naturellement retrouvés dans la flore intestinale de l'animal mais aussi aux conditions d'hygiène insuffisantes entraînant des contaminations croisées. En effet *Escherichia coli* est un commensal du tractus intestinal des ruminants notamment des bovins Cromwell *et al.* (1999) tandis que d'autres bactéries comme *Salmonella* peuvent y être présente sans causer de maladie chez l'animal. Cette charge peut être également due aux pratiques d'hygiéniques inadéquates dans les abattoirs ou lors de la manipulation des produits pouvant favoriser la contamination (Hurd et Kauffman, 2007).

Par la suite, l'activité antibactérienne *in vitro* a révélé que tous les vinaigres ont eu une activité antibactérienne vis-à-vis des isolats pathogènes sauvages allant de 15,83±1,03 mm à 17,50±2,16 mm contre *Escherichia coli*, de 12,80±0,70 mm à 16,07±0,66 mm contre *Staphylococcus aureus* et 14,50±1,08 mm à 23,17±1,43 mm contre *Salmonella sp.* Ces résultats bien qu'en en accord avec les travaux de Ousaaid *et al.* (2021) sont supérieurs à ceux-ci. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que l'activité antibactérienne des vinaigres peut être liée à la teneur en acide acétique. Le mécanisme d'inactivation microbienne par les acides organiques, y compris l'acide acétique, implique l'entrée d'une forme non dissociée d'acide organique (HA) à travers la membrane cellulaire en fonction du pH intracellulaire et sa dissociation en (H⁺) et (A⁻)ions. Les protons provoquent une augmentation de l'acidité et l'augmentation de l'acidité du cytoplasme entraîne des dommages cellulaires et une modification ou une dénaturation des enzymes et des protéines structurales, ainsi qu'un

obstacle à la synthèse de l'ADN/ARN, et forçant également la cellule à utiliser l'ATP pour exporter l'excès d'ion (H⁺) conduisant à un épuisement énergétique avec pour conséquence un obstacle à la croissance microbienne et à la mort cellulaire (Lopez *et al.*, 2012). De plus Bakir *et al.* (2017) a démontré que la matière fruitière de départ à un rôle déterminant sur la bio activité du vinaigre finale. En effet Abdallah et Muhammad (2018) ont démontrés que les extraits éthanoliques et aqueux de la pulpe tamarin ont une activité contre *Escherichia coli*, de *Staphylococcus aureus* par la suite Phiri *et al.* (2020) ont démontrés grâce à une analyse phytochimique de la pulpe de tamarin, qu'elle possédait des saponines, des tanins, des alcaloïdes et a attribué une activité antibactérienne à la présence de ces composés phytochimiques.

Enfin l'activité antibactérienne *in situ* a révélé que le vinaigre VIN12 D et le témoin positif n'ont pas réduit en unité logarithmique la charge de l'isolat d'*Escherichia coli*, de *Staphylococcus aureus* au bout 20 minutes. Ce résultat pourrait s'expliquer par le temps d'exposition qui n'était pas suffisant. En effet un trempage de seulement 20 minutes peut ne pas être suffisant pour permettre à l'acide acétique de pénétrer efficacement et détruire ces bactéries surtout si elles sont dans des conditions de protection (Pérez *et al.*, 2012). Par contre, une réduction d'une unité logarithmique de la charge de *Salmonella sp* a été observé par rapport à la charge initiale au bout de 20 minutes d'exposition au vinaigre VIN12 D et une réduction de deux unités logarithmiques au bout du même temps pour le vinaigre témoin. Cette différence pourrait s'expliquer par la différence de quantité d'acide acétique contenue dans chaque vinaigre. En effet le vinaigre témoin étant un vinaigre de cidre commercial sa quantité d'acide acétique est de 50g/L contrairement au vinaigre VIN12 D qui a une quantité d'acide acétique de 43g/L. Il a été démontré par Fangundes *et al.* (2017) qu'une concentration élevée en acide acétique favorise une désactivation bactérienne plus efficace en pénétrant plus facilement dans la membrane cellulaire provoquant une déstabilisation et une mort cellulaire plus rapide. Alors les vinaigres contenant une plus grande quantité d'acide acétique sont connus pour un avoir une plus forte activité antimicrobienne contre les bactéries (Wen-Qiao *et al.*, 2005).

Du point de vue de la qualité sanitaire des aliments, tous les échantillons analysés sont de qualité microbiologique non satisfaisante selon les critères de sécurité des denrées alimentaires et d'hygiène des procédés du Journal Officiel de l'Union Européenne (2020).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Parvenu au terme de cette étude dont l'objectif principal était d'améliorer la qualité microbiologique des tripes de bœuf crues, il en ressort que :

❖ Pour ce qui est de la production du vinaigre à base de la pulpe de tamarin, la double fermentation (alcoolique et acétique) est la cause des variations physico-chimiques observées. Les analyses physico-chimiques ont en effet montré une augmentation du pH et de l'acidité, ainsi qu'une diminution du taux de sucres fermentescibles dans les quatre échantillons de vinaigre.

❖ Quant à l'activité antibactérienne du vinaigre sur les tripes de bœuf crues, l'analyse de la qualité microbiologique a d'abord révélé une forte charge des microflores pathogènes dans les tripes de bœuf crues. Celle-ci peut s'expliquer principalement par l'emplacement de cette partie dans l'organisme des ruminants, mais aussi par des conditions d'hygiène insuffisantes. Par la suite, l'effet antibactérien des vinaigres produits sur ces différents germes pathogènes isolés *in vitro* a montré l'inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, de *Staphylococcus aureus* et de *Salmonella sp* respectivement par le vinaigre VIN12 A de (15,67±0,24 mm, 12,80±0,70 mm, 16,17±2,90 mm), VIN12 B (16,33±1,84 mm, 14,73±0,21 mm, 14,50±1,08 mm), VIN12 C (15,83±1,03 mm, 14,43±0,42 mm, 21,00±1,78 mm) et du VIN 12 D (17,50±2,16 mm, 16,07±0,66 mm et 23,17±1,43 mm) . *In situ* au bout de 20 minutes le vinaigre VIN12 D, ayant eu la plus grande activité antibactérienne *in vitro*, a réduit d'un Log la charge de *Salmonella sp*, mais aucune réduction en unité Logarithmique de la charge d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* a été observée. Toutefois, les échantillons traités au vinaigre au vinaigre sont restés de qualité microbiologique non satisfaisante selon le Journal Officiel de l'Union Européenne.

PERSPECTIVES

Pour une meilleure valorisation de ce fruit comme matière première dans l'optique d'une production du vinaigre pour la réduction des risques microbiologiques associés à la consommation des tripes de bœuf crues, il sera nécessaire de faire :

- ❖ Une identification moléculaire des isolats de bactéries acétiques ;
- ❖ D'optimiser les conditions de production du vinaigre ;
- ❖ Prolonger le temps d'exposition des tripes au contact du vinaigre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdallah M. and Muhammad A. (2018).** Antibacterial activity of leaves and fruits extract of *Tamarindus indica* against clinical isolates of *Escherichia coli* and *Shigella* Nigeria. *Journal Analytical Pharmaceutical Research*, 7: 606-609.
- Adebayo A., Adenubi E., Ogundipe O., Bankole B. and Adeyeye. (2017).** Production and quality evaluation of vinegar from mango. *Cogent Food and Agriculture*, 3(1): 187-193.
- Aderoju A. and Aworth A. (2012).** A comparative assessment of the chemical properties of fruits of wild tamarind (*Tamarindus indica* L) in Nigeria. *Food*, 6: 49-57.
- Airaodion A., Olatoyinbo P., Ogbuagu U., Ogbuagu E. and Akinmolayan J. (2019).** Comparative Assessment of Phytochemical Content and Antioxidant Potential of *Azadirachta indica* and *Parquetina nigrescens* Leaves. *Asian Plant Research Journal*, 2: 1-14.
- Al-Bulushi, I. M. (2018).** The handbook of food microbiological analytical methods. *Nova Science*, New York, p: 52.
- Almeida M., De Sousa P., Fonseca M., Magalhães C., Lopes M. and De Lemos T. (2009).** Evaluation of macro and micro-mineral content in tropical fruits cultivated in the northeast of Brazil. *Ciêñ Technol Alimentos*, 29: 581-6.
- Anandh M., Venkatachalapathy R., Radha T. and Lakshmanan V. (2014).** Quality and shelf life of cooked buffalo tripe rolls at refrigerated storage under vacuum packaging condition. *Journal of Food Science and Technology*, 51(7) :1370-1376.
- AOAC. 2000.** Official Methods of Analysis (13th ed). Association of Official Analytical Chemist: Washington.
- Arbonnier M. (2009).** Trees, shrubs and lianas of the dryzones of West Africa. *Editions Quae*.
- Attokaran M. (2017).** Tamarind. In *Natural Food Flavors and Colors*. *John Wiley & Sons Ltd*. 2^e éd, p: 346-348.
- Aybek, A. and Akkemik, E. (2022).** Comparison of traditional Zivzik pomegranate vinegar against commercial pomegranate vinegar: Antioxidant activity and chemical composition. *Turkish Journal of Nature and Science*, 11(3):178-185.
- Azad S. (2018).** Tamarin—*Tamarindus indica*. *Guide de référence des fruits exotiques*. 403-412.
- Babaria P., Mute V., Awari D. and Ghodasara J. (2011).** In vivo evaluation of antiarthritic activity of seed coat of *Tamarindus indica* Linn. *International Journal Pharmaceutical Sciences*, 3: 204–207.
- Bakir S., Devecioglu D., Kayacan S., Toydemir G., Karbancioglu F. and Capanoglu, E. (2017).** Investigating the antioxidant and antimicrobial activities of different vinegars. *European Food Research and Technology*, 62(4): 315-331.

- Bhadoriya S., Ganeshpurkar A, Narwaria J, Rai G. and Jain A. (2011).** *Tamarindus indica*: Extent of explored potential. *Pharmacognosy Reviews*, 5:73-81.
- Bhat S., Akhtar R. and Amin T. (2014).** An Overview on the Biological Production of Vinegar. *International Journal Fermented Foods*, 3: 139-151.
- Bouatenin K., Kouame G., Gueu-Kehi M., Djani. and Dje K. (2020).** Organic production of vinegar from mango and papaya. *Food Science and Nutrition*, 9(1): 190-196.
- Bourgeois C. et Larpent T. (1996).** Microbiologie alimentaire. *Aliments fermentés et fermentation alimentaire*. Tome 2, 2^{ème}Ed. *Tec et Doc Lavoisier*.
- Bourgeois J. and Barja F. (2009).** The history of vinegar and of its acetification systems. *Archives des Sciences*, 62: 147-160.
- Bourou S. (2012).** Ecophysiological study of *Tamarindus indica* L. in an arid tropical environment. Thesis presented for obtaining the degree of Doctor (Ph.D) in Bio Engineering, University of Gan, Belgium, p: 193.
- Buchholz T. and Melzig M. (2016).** Medicinal Plants Traditionally Used for Treatment of Obesity and Diabetes Mellitus - Screening for Pancreatic Lipase and α -Amylase Inhibition. *Phytotherapy Research*, 30: 260-266.
- Budak N., Aykin E., Seydim A., Greene A. and Guzel-Seydim, Z. (2014).** Functional Properties of Vinegar: Functional properties of vinegar. *Journal Food Science*, 79: 757-764.
- Cardoso R., Neto R., Dos Santos D., Dos Nascimento P., Pressete C., Azevedo L., Martino H., Cameron C., Ferreira M. and De Barros. (2020).** Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128: 782-791.
- Carr J. (1968).** Methods for identifying acetic acid bacteria. In Gibbs BM, Shapton DA, editors. Identification methods for microbiologists. London, UK: Academic Press, 1-8.
- CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie). (2013).** Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>
- Chimsah F., Nyarko G. and Abubakari A. (2020).** A review of explored uses and study of nutritional potential of tamarind (*Tamarindus indica* L.) in Northern Ghana. *African Journal of Food Science*, 14(9): 285-294.
- Cohen N., Ennaji H., Hassa M. and Karib H. (2006).** The bacterial quality of red meat and offal in Casablanca (Morocco). *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(6) : 557-562.
- Cromwell G., Fratamico P. and Phebus R. (1999).** Sources of *Escherichia coli* contamination in beef. *Journal of Food Protection*, 62(3): 340-344.

- Décret Français N°88-1207 du 30 décembre (1988).** Portant application de la loi du 1^{er} 1905. Modifiée sur les fraudes et falsifications en matière de produits ou de services en ce qui concerne les vinaigres. (Journal Officiel du 31 décembre 1988 - mis à jour le 23 mars 2023)
- Devendra K., Kumari S. and Kumar A. (2021).** Microbial contamination in raw beef and its health implications: A review. *Food Safety Journal*, 15(2): 45-42.
- Devi B. and Boruah T. (2020).** Tamarind (*Tamarindus indica*). In G. A. Nayik & A. Gull (Éds.), *Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits*, 317-332.
- De Ory I., Romero L. and Cantero D. (2002).** Optimum starting-up protocol of a pilot plant scale acetifier for vinegar production. *Journal of Food Engineering*, 52: 31-37.
- Diallo OB, (2001).** Reproductive biology and evaluation of genetic diversity in a legume: *Tamarindus indica* L. (Caesalpinioideae). p.165.
- Du Toit W. and Pretorius I. (2002).** The Occurrence, control and esoteric effect of acetic Acid bacteria in winemaking. *Annals of Microbiology*, 52(2).
- El-Salam A. (2012).** 16S rRNA gene sequence detection of acetic acid bacteria isolated from tea Kombucha. *New York Science Journal*, 5: 55–61.
- Ezemba A., Osuala O., Orji M., Ezemba C. and Anaukwu C. (2021).** Production and Comparative Physicochemical Analysis of Vinegar from Locally Grown Fruits in Nigeria and Industrial Produced Vinegar. *American Journal of Microbiological Research*, 9(1): 25-33.
- Ezenekwe C., Ekwegbalu E., Orji A., Obi P., Ezemba A., Osuala O., Anakwenze V. and Ezemba C. (2021).** Production and Physicochemical evaluation of vinegar produced from pineapple and pawpaw fruits with their peels. *Asian Journal of Microbiology and Biotechnology*, 6(2): 1-10.
- Ezenekwe C., Ekwegbalu E., Uchendu A., Ezemba A., Osuala O. and Ezemba C. (2021).** Antimicrobial evaluation of vinegar produced from pineapple and pawpaw fruits with their peels. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 8(7): 5-11.
- Fangundes K., Oliveira R., Figueiredo J. and Da Silva F. (2017).** Antimicrobial properties of vinegar against foodborne pathogens. *Food Control*, 73: 1206 -1213.
- Favet R., Frikat M. et Potin J. (2011).** Valorisation du Tamarin. SupAgro Institution des régions chaudes. p:1-25.
- Ferrara L. (2019).** Nutritional and Pharmacological Properties of *Tamarindus Indica* L. *Journal of Nutrition Food and Science Forecast*, 2(2):10-12.
- Fernandes A., De Souza A., Ramos C., Pereira A., Schwan, R. and Dias D. (2019).** Sensorial, antioxidant and antimicrobial evaluation of vinegars from surpluses of

- physalis (*Physalis pubescens* L.) and red pitahaya (*Hylocereus monacanthus*). *Journal Science Food Agriculture*, 99 : 2267–2274.
- Fook J., Macedo L., Moura G., Teixeira F., Oliveira A. and Queiroz F. (2055).** serine proteinase inhibitor isolated from Tamarindus indica seeds and its effects on the release of human neutrophil elastase. *Life Sciences*, 76: 2881–2891.
- Forbez T, Gasparrini M, Afrin S, Bompadre S, Mezzetti B, Quiles JL, Giampieri F. and Battino M. (2015).** The healthy effects of strawberry polyphenols: which strategy behind antioxidant capacity?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(1) : 46-49.
- Fushimi T., Tayama K., Fukaya M., Kitakoshi K., Nakai N., Tsukamoto Y. and Sato Y. (2001).** Acetic acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats. *Journal Nutrition*, 131(7): 1973 - 1977.
- Garba A., Amani A., Douma S., Sina A. and Mahamane A. (2020).** Population structure of Tamarindus indica L. in the area South-West Niger. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(1): 126 -142.
- Gill C. (1988).** Microbiology of edible meat by-products. In A. M. Pearson, & T. R. Dutson (Eds) New York: Elsevier Applied Science. *Advances in meat research*, 5: 47–82.
- Giudici P., Lemmetti F. and Mazza S. (2015).** Balsamic vinegars: Tradition, technology, trade. *Springer*, New York : p. 540-544.
- Guiraud P. (2003).** Microbiologie alimentaire. *Ed, Dunod*, Paris, p: 25-40.
- Guiraud P. (2012).** Microbiologie alimentaire. *Ed, Dunod*, Paris, p: 267-270.
- Gomes R., Borges M., Rosa F., Castro R. and Spinosa W. (2018).** Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications. *Food Technol. Biotechnol*, 56 : 139–151.
- GRELON. (2005).** Les bienfaits du vinaigre. *Ed, vercchi*, Paris : 9(49) : 44-49.
- Grollier C., Debien C., Dornier M. and Reynes M. (1998).** Main characteristics and ways of valorizing tamarind. p: 205-216.
- Gu J. and Catchmark J. (2012).** Impact of hemicellulose and pectin on sphere-like bacterial cellulose assembly. *Carbohydrate Polymers*, 88(2): 547-557.
- Gullo M., Caggia C. De Vero L. and Giudici P. (2006).** Characterization of acetic acid bacteria in "traditional balsamic vinegar". *International Journal Food Microbiology*, 106(2): 209-212.
- Gullo M., Verzelloni E. and Canonico M. (2014).** Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: Process and biotechnological aspects. *Process Biochemistry*, 49: 1571–1579.

- Gumel A., Amoo F. and Yaro S. (2019).** Federal University Dutse, Level 200 Microbiology Laboratory practical manual. p 33-44.
- Hassan S., Altalhi A., Gherbawy Y. and El-Deeb. (2011).** Bacterial load of fresh vegetables and their resistance to the currently used antibiotics in Saudi Arabia. *Foodborne Pathogens Disease*, 8: 1011–1018.
- Hiwale S. (2015).** Tamarind (*Tamarindus indica* L.). In S. Hiwale, Sustainable Horticulture in Semiarid Dry Lands. *Springer*, India, p. 197-212.
- Hjorth P., Petersen S., Launholt V. and Nielsen C. (2020).** Effect of apple vinegar intake on metabolic parameters and constipation in patients with schizophrenia treated with clozapine: A pilot study. *Nordic Journal of Psychiatry*, 74: 1-3.
- Helou, A. (2011).** Offal: The Fifth Quarter (revised ed.). *Bath Absolute Press*. England: p162-170.
- Hemshkhar M., Kemparaju K. and Girish K. (2011).** Tamarind seeds (*Tamarindus indica*): an overview of their healing qualities. *Nuts and seeds in health and disease prevention*. 1107-1114.
- Ho C., Lazim A., Fazry S., Zaki U. and Lim S. (2017).** "Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review". *Food Chemistry*, 221: 1621-1630
- Hurd H. and Kauffman R. (2007).** The role of bacteria in Food Safety. *Food Safety and Quality*, 1: 123-150.
- Hutchinson U., Ntwampe S., Ngongang M., Chid B., Hof J. and Jolly N. (2019).** Product and Microbial Population Kinetics During Balsamic-Styled Vinegar Production. *Journal of Food Science*, 1-8.
- Ibrahim M. (2019).** Physicochemical and microbiological properties of industrial and traditional homemade vinegar. Graduate School of Natural and Applied Sciences, Kahramanmaras : Kahramanmaras Sutcu Imam University in Turkish. p:41-45.
- ISO 15214 (1998).** Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles --Technique par comptage des colonies à 30 degrés C. Version 6 (2009). **chercher pages**
- ISO 21527-1 (2008).** Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures- Partie 1: Technique par comptage des colonies dans les produits à activité d'eau supérieure à 0,95. Version 6 (2009). **chercher pages**
- ISO 4832 : 2006.** Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et dénombrement des coliformes présumés - Technique du Technique par comptage des colonies à 30° ou 37° C en milieu solide.**chercher pages**

- ISO 6579-1 (2017).** Microbiology of the food chain - Horizontal method of the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* - Part 1: Detection of *Salmonella spp.* **chercher pages**
- ISO 6887-1 (2017).** Microbiologie des aliments. Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique-Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales, 28 pages.
- ISO 6888-1 (2004).** "Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) " Partie 1 : technique avec confirmation des colonies **chercher pages**
- Jain A., Bhadoriya S., Ganeshpurkar A., Narwaria J. and Rai G. (2011).** *Tamarindus indica* : Extent of explored potential. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9): 73.
- Journal Officiel de l'Union Européenne, (2020).** Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires, REGLEMENT (CE) N° 2073/2005 DE LA COMMISSION du 15 Novembre 2005. 32 pages.
- Jyotsana S., Neha B. and Amar P. (2023).** Preparation, production and characteristics of sugarcane vinegar. *Journal of Biology and Medicine*, 7(1): 8-16.
- Khan M M., Khan I. and Ullah N. (2023).** Antimicrobial properties of vinegar : A review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1): 25-30.
- Komagata K., Ioni T. and Yamada Y. (2014).** «The Acetobacteraceae» in prokaryotes. *Ed Springer*, New York, p: 3-78.
- Komakech R., Kim Y., Matsabisa G. and Kang Y. (2019).** Anti-inflammatory and analgesic potential of *Tamarindus indica* Linn. (Fabaceae): A narrative review. *Integrative Medicine Research*. 8(3): 181-186.
- Kourouma M., Mbengue M., Sarr K. and Touré C. (2021).** Isolement, identification et caractérisations des souches de bactéries acétiques à partir d'un alcool de mangue fermenté. *International Journal of Advanced Research*, 9(03) : 271-281.
- Kowser M., Aziz G. and Uddin M. (2015).** Isolation and characterization of *Acetobacter aceti* from rotten papaya. *Journal Bangladesh Agricultural University*, 13(2) : 299-306.
- Laouar A., Rouissat L., Makhoulfi A., Ali A., Chibani M. et Boulal A. (2021).** Caractérisation physico-chimiques et microbiologiques de vinaigre produit à partir des dattes. *International Journal of Natural Resources and Environment*, 3(2), 22-28.
- Lefief A. (2019).** Le Grand livre des secrets du vinaigre. *LE DUC, Paris*, p : 15-23.
- Lim C., Junit S., Abdulla M. and Abdul A. (2013).** In vivo biochemical and gene expression analyses of the antioxidant activities and hypocholesterolaemic properties of *Tamarindus indica* fruit pulp extract. *Public Library of Science One*, 8 : 7058-7066.

- Li S., Li P., Feng F., Luo X. and Chang F. (2015).** Microbial diversity and their roles in the vinegar fermentation process. *Application Microbiology Biotechnology*, 99:4997-5024.
- Lopez E., García H. and Lopez A. (2012).** Organic acids antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Research Internatonal*, 45:713–721
- Mas A., Torija M., Garcia M. and Troncoso A. (2014).** Acetic acid bacteria and the production and quality of wine vinegar. *The Scientific World Journal*, 12(5): 15-21.
- Mbungu V. (2016).** Qualité microbiologique, caractéristiques biochimiques et physico-chimiques d'un vinaigre artisanal à base des mangues jetées. *Innovative Space of Scientific Research Journals*, 4(17) : 947-953.
- Meher B. and Dash D. (2013).** Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of Tamarindus indica L.: A Potential Agent for Treatment of Metabolic Syndrome. *International Journal of Pharmaceutical Innovations*, 3: 30-50.
- Menezes A., Trevisan S., Barbalho S. et Guiguer E. (2016).** *Tamarindus indica L.* Une plante aux multiples vertus médicinales. *Journal de pharmacognosie et de phytochimie*, 5(3): 50-54.
- Morton J. (1987).** Fruits of warm climates. Miami, Florida, United States: JF Morton.
- Mukherjee S., Nag M., Roy D., Paul R. and Mir S. (2018).** Extraction chemical tests on Cicer arietinum seeds from the North Bengal and West Bengal Occidental region of India. *Pharmatuteur*, 6(10) :177-182.
- Mullen A. and Álvarez C. (2016).** Offal: Types and Composition. In *Encyclopedia of Food and Health*.p :152-157).
- Muok B. et Alem S. (2011).** Tamarin (*Tamarindus indica*). Conservation et utilisation durable des ressources génétiques des espèces ligneuses alimentaires priproitaires de l'Afrique Subsaharienne. Biodiversity International (Rome, Italie).
- Nancy N. (2008).** Etude des interactions entre *Saccharomyces cerevisiae* et *Oenococcus oeni*: impact sur la réalisation de la fermentation Malo-lactique en cultures séquentielles et mixtes. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- Nayik G. and Gull A. (2020).** *Antioxidants in Fruits : Properties and Health Benefits. (2^e éd.). Springer, Singapore, p: 556-562.*
- Nwodo U., Iroegbu C., Ngene A., Chigor V. and Okoh A. (2011).** Effects of splitting and combinatorial evaluation of Tamarindus indica fractions for antibacterial activity. *Molecules*. 16(6): 4818-4827.
- Okwu D., Uchechukwu S. and Nwobodo E. (2020).** Chemical composition of Tamarindus indica: Nutritional and medicinal properties. *Journal of Medicinal Plants Reseach*, 14(5): 25-30.

- Onuorah S., Joson L. Obika I. (2016).** Production of Vinegar from Oil-palm Wine Using *Acetobacter Aceti* Isolated from Rotten Banana Fruits. *Universal Journal of Biomedical Engineering* 4(1): 1-5.
- Ousaaid D., Imtara H., Laaroussi H., Lyoussi B. and Elarabi I. (2021).** An investigation of moroccan vinegars: Their physicochemical properties and antioxidant and antibacterial activities. *Journal Food Quality*,1-8.
- Ousaaid D., Laaroussi H., Bakour M., Ennaji H., Lyoussi B. and El Arabi I. (2021).** Antifungal and Antibacterial Activities of Apple Vinegar of Different Cultivars. *International Journal of Microbiology*, 1-6.
- Pal D. and Mukherjee S. (2020).** Tamarind (*Tamarindus indica*) Seeds in Health and Nutrition. *In Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 171-182.
- Park S., Kang S. and Ha S. (2016).** Do antimicrobial effects of vinegar against norovirus and *Escherichia coli* in the traditional Korean vinegared green laver (*Enteromorpha intestinalis*) salad during refrigerated storage. *International Journal Food Microbiology*, 238: 208-214.
- Pazuch C., Siepmann F., Canan. and Colla E. (2015).** Vinegar: functional aspects. *Cientifica* 43: 302.
- Pérez R., Martinez A. and Gonzalez M. (2012).** Microbial inactivation in food systems. *Food Science and Technology International*, 18(1): 1-16.
- Phiri M., Mufwambi W., Steward M. and Banda M. (2020).** Antibacterial activity of *Tamarindus indica* fruit extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *International Journal Biomedical Investigation*, 3(1) : 1-7.
- Pinto T., Neves A., Leao M. and Jorge A. (2008).** Vinegar as an antimicrobial agent for control of *Candida* spp. in complete denture wearers. *Journal Applied Oral Science*, 16: 385-390.
- Prabhu K. and Teli M. (2011).** Eco-dyeing using *Tamarindus indica* L. seed coat tannin as a natural mordant for textiles with antibacterial activity. *Journal of Saudi Chemical Society*.18 (6): 864-872.
- Rao A., Kumar A. and Ramana M. (2015).** Tamarind seed processing and by-products. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 17(2): 200-204.
- Rasolonirina V. (2017).** Technical-financial feasibility study of the manufacture of a sauce made from tamarind (*Tamarindus Indica L.*) (End of study thesis for obtaining the Master's degree Agricultural Engineer diploma). Higher School of Agronomic Sciences, University of Antanarivo, Antanarivo Madagascar. p: 25.
- Reiner K. (2010).** Catalase test protocol. *American Society for Microbiology*, 1-6.

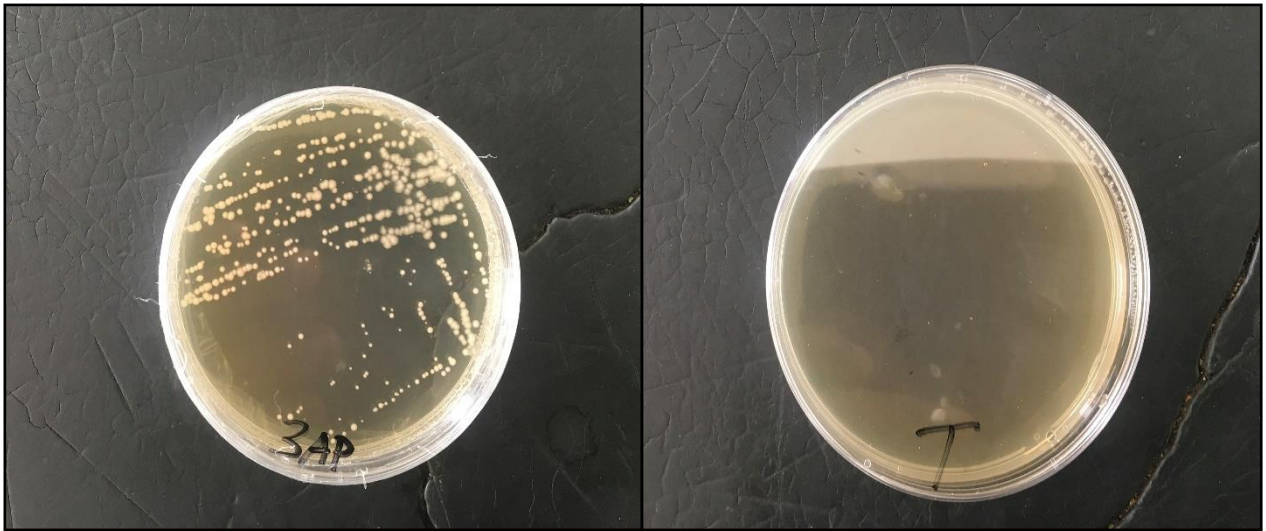
- Resny A., Indulekha V. and Raj R. (2018).** A Critical Ayurvedic Literary Review of the Plant Amleeka (*Tamarindus indica* L.). *International Ayurvedic Medical Journal*, 2: 1060-1067.
- Roda A., De Faveri D., Giacosa S., Dordoni R. and Lambri M. (2016).** Effect of pre-treatments on the saccharification of pineapple waste as a potential source for vinegar production. *Journal of Cleaner Production*, 112: 4477-4484.
- Rodriguez J., Lafourcade P., Escalona A., Perez G., Morris Q. and Keita H. (2016).** Antioxidant and hepatoprotective activity of a new tablets formulation from *Tamarindus indica* L. Evidence Based Complement Alternative Medicine Article, p: 7.
- Rodrigo J., Maria F., Morsyleide F., Castro H. and Wilma A. (2018).** Acetic acid bacteria in the Food Industry: Systematics, Characteristics and Applications. *International of Food Microbiology*, 62 (9) : 66-75.
- Rojas A., Suarez A. and Diaz M. (2021).** Fermentation of ethanol to acetic acid: A review of mechanisms and factors affecting the process. *Journal of Applied Microbiology*, 131(1): 1-14.
- Samad A., Azlan A. and Ismail A. (2016).** Therapeutic effects of vinegar: a review. *Curr. Opin. Food Science*, 8: 56–61.
- Samarou M., Atakpama W., Batawila K. and Akpagana K. (2022).** State of knowledge on the Tamarine tree (*Tamarindus indica* L.) (Fabaceae). *African Agronomy Sp.* 34(2):313-323.
- Saqib A. (2017).** Antimicrobial Activity of Apple Cider Vinegar. *Mapana Journal of Sciences*, 61(2): 11-15.
- Scottish Government. (2009).** Tripe For Human Consumption: Adding Value To The Scottish Red Meat Supply Chain . Scotland: The Scottish Government Publication.
- Sharafi S., Rasooli I. and Beheshti M. (2010).** Isolation, characterization and optimization of indigenous acetic acid bacteria and evaluation of their preservation methods. *Iranian Journal of Microbiology*, 2(1): 38-45.
- Shields P. and Cathcart L. (2010).** Oxidase test protocol. *American Society of Microbiology*, 1–10.
- Singh D., Wangchu L. and Moond S. (2007).** Processed products of tamarind. *Natural Product Radiance*, 5(4):315–321.
- Singh J., Bisht N. and Amar P. (2023).** Preparation, production and characteristics of sugarcane vinegar. *Journal of Biology and Medicine*, 7(1):8-16.

- Sivapragasam N., Neelakandan N. and Rupasinghe V. (2023).** Potential health benefits of fermented blueberry: A review of current scientific evidence. *Trends in Food Science and Technology*, 132 : 103–120.
- Soladoye P., Juarez M., Estévez M., Fu Y. and Alvarez C. (2022).** Exploring the perspectives of the fifth quarter . *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21 : 1439-1446.
- Sousa M., Ludovico., Rodrigues F., Leão C. and Corte-Real M. (2011).** Stress and cell death in yeast induced by acetic acid. In Bubuly, P. (Ed.), *IntechOpen, Cell metabolism*. p: 73.
- Sundaram M., Hemshekhar M., Santhosh M., Paul M., Sunitha K. and Thushara R. (2015).** Tamarind seed (*Tamarindus indica*) extract ameliorates adjuvant induced arthritis via regulating the mediators of cartilage/bone degeneration, inflammation and oxidative stress. *Science Representative*, 5:111-117.
- Vanderlinde P., Horchner P., Huynh L. and Jenson I. (2022).** Microbiological Quality of Red Meat Offal Produced at Australian Export Establishments. *Foods*, 11(19): 7-30.
- Vaughan R., Jones G. and Layton D. (2019).** Organic acid production and pH changes in the fermentation of vinegar. *Food Microbiology*, 78: 124-132.
- Vican P. (2008).** Vertus bienfaitantes du vinaigre saharien issu de la datte et du vinaigre traditionnel de dattes. Mémoire DUES. Université d’Ouargla.p : 45-47.
- Vidra A. and Németh Á. (2018).** Bio-produced Acetic Acid: A Review. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 62 :245–256.
- Villareal P., Quintrel P., Olivares S., Ruiz J., Nespolo R. and Cubillos F. (2022).** Identification of new ethanol-tolerant yeast strains with fermentation potential from Patagonia. *Fungal Biology*, 39:128-140.
- Vuyyala B., Kumar D. and Lakshmi T. (2020).** *Tamarindus indica* L. (Fabaceae): Extent of explored use traditional medicine. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 28-32.
- Wen-Qiao W., Xiao-Mei X., Jin-Duo L., Zhi-Qiang M., Xiu-Ying. and Xiao-Feng Z. (2015).** Fungicidal activity of bamboo vinegar against several phytopathogenic fungi. *Acta Phytopathologica Sinica*, 35(6): 99-104.
- Wang B., Rutherford-Markwick K., Zhang X. and Mutukumira A. (2022).** Isolation and characterization of dominant acetic acid bacteria and yeast isolated from Kombucha samples at point of sale in New Zealand. *Current Research in Food Science*, 5, 835-844.

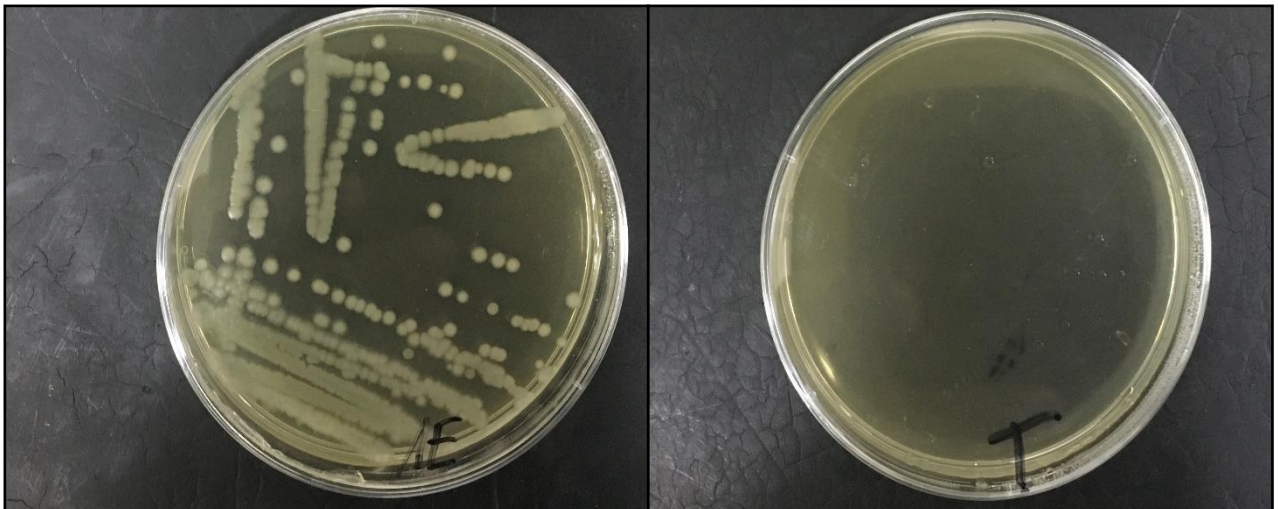
- Wu J., Ma Y., Zhang F. and Chen F. (2012).** Biodiversity of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in the fermentation of 'Shanxi aged vinegar' a traditional Chinese vinegar. *Food Microbiology*, 30 (1): 289-297.
- Xia T., Zhang B., Duan W., Zhang J. and Wang M. (2020).** Nutrients and bioactive components from vinegar: A fermented and functional food. *Journal Functional Foods*, 64: 81-10.
- Yang X., Wang K., Wang H., Zhang J., Tang L. and Mao Z. (2016).** Control of pH by acid acid and its effect on ethanol fermentation in an integrated ethanol–methane fermentation process. *Royal Society of Chemistry Advances*, 6(63):57902–57909.
- Yagnik D., Serafin V. and Shah A. (2018).** Antimicrobial activity of apple cider vinegar against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, downregulating cytokine and microbial protein expression. *Scientific Reports*, 8:1732-1746.
- Yetiman A. and Kesmen Z. (2015).** Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular techniques. *International Journal Food Microbiology*. 204: 9–16.
- Yahia E. and Salih N. (2011).** Tamarind (*Tamarindus indica* L.). *In Biology and postharvest technology of tropical and subtropical fruits*. 442-458.
- Zhu W., Liu Y., Sun Y. and Zeng G. (2019).** Reply to the letter to the editor by Dan Luo and Xiaobo Xu: Vinegar could act by gut microbiome. *EBioMedicine*, 46: 31.

ANNEXES

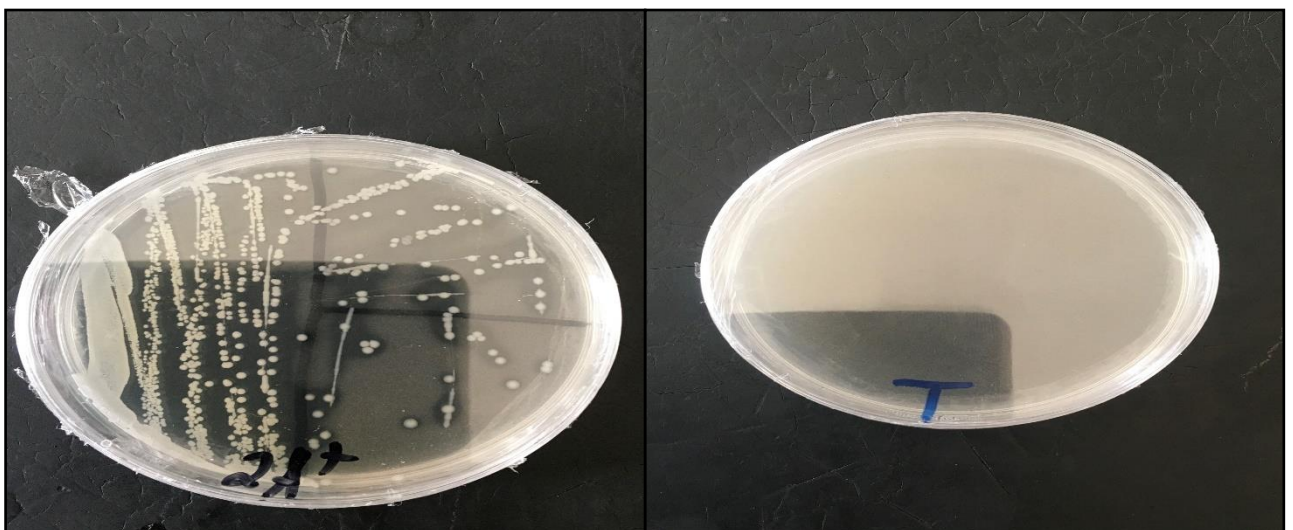
ANNEXE 1 : Tests biochimiques des bactéries acétiques



Test de croissance en présence d'acide acétique sur milieu GYA

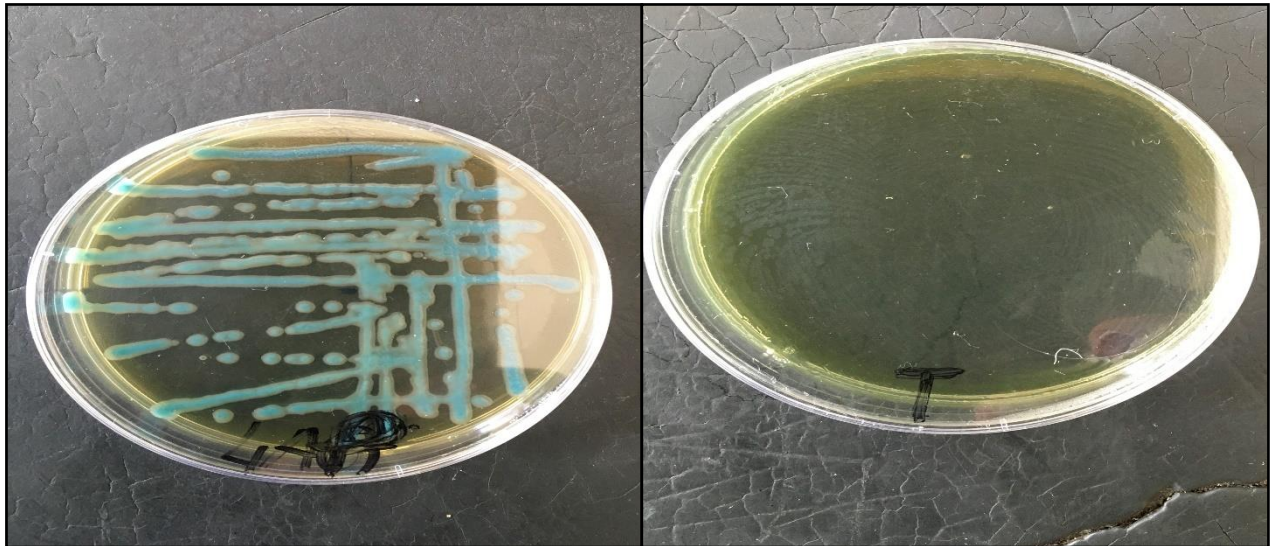


Test de production de l'acide acétique à partir de l'éthanol sur milieu GYCE

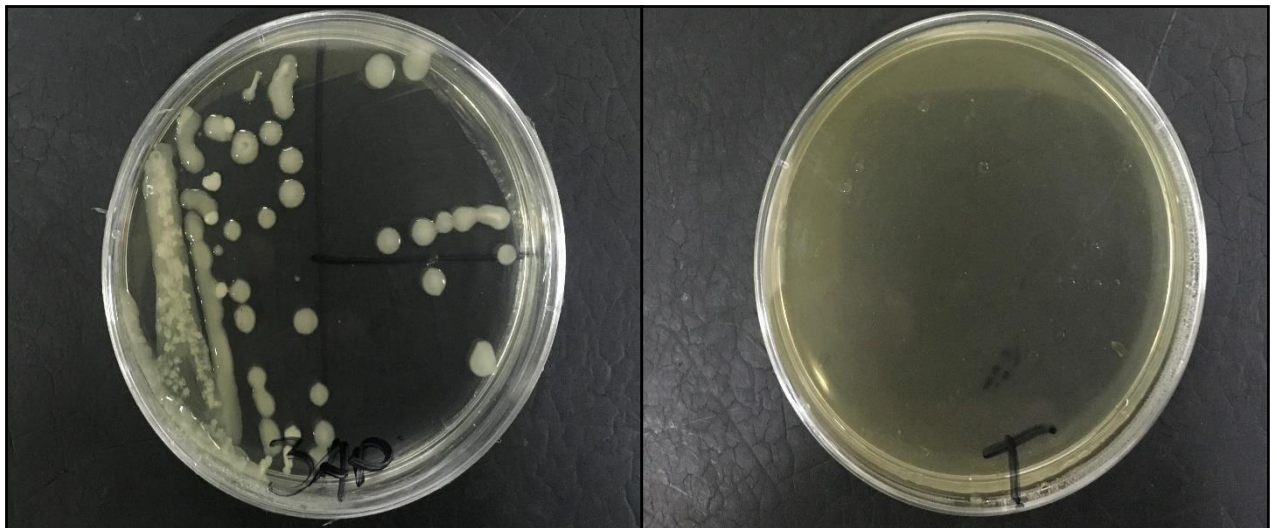


Test de production d'acide gluconique sur milieu GYC

Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin contre quelques bactéries pathogènes alimentaires sur les tripes de bœuf de crues



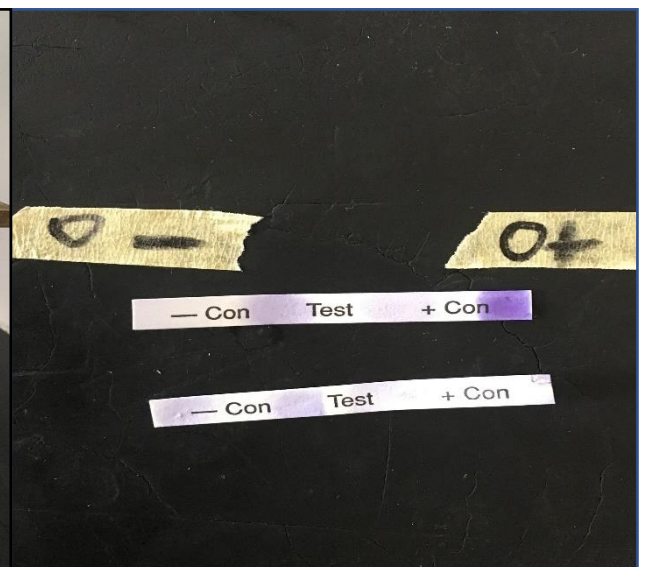
Test du pouvoir suroxydant sur milieu Carr



Test de pigmentation sur milieu GYP



Test de production de cellulose dans le bouillon GY



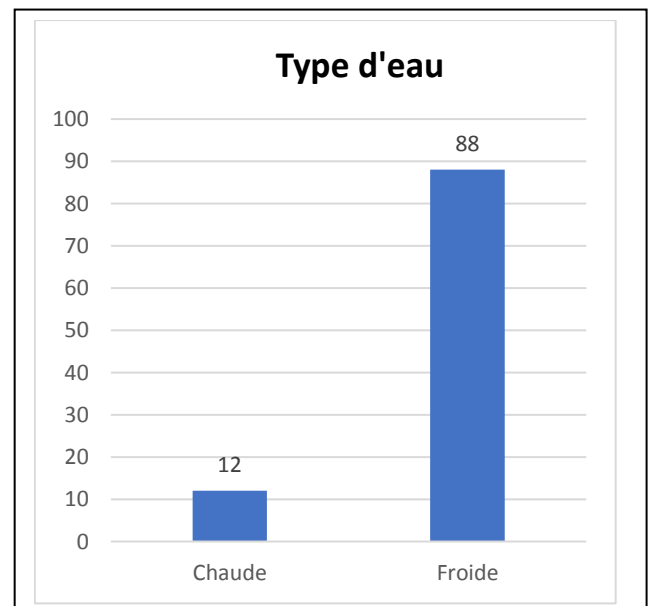
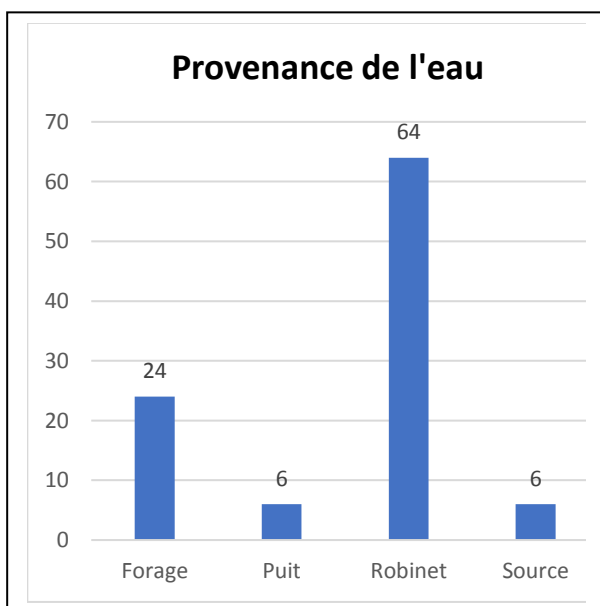
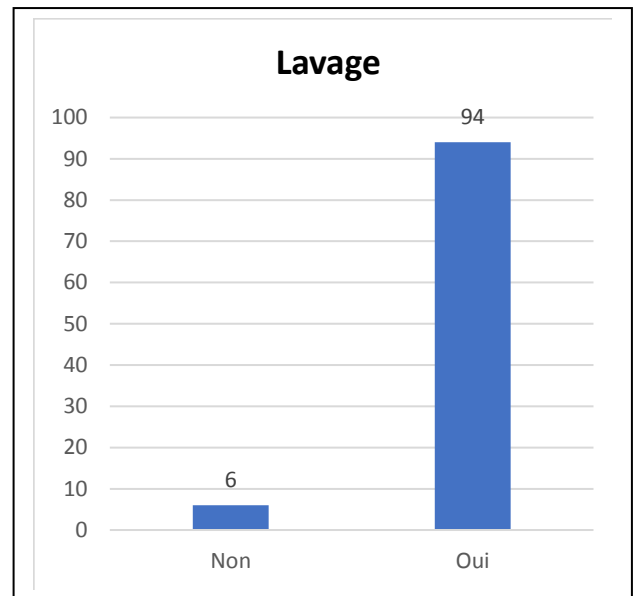
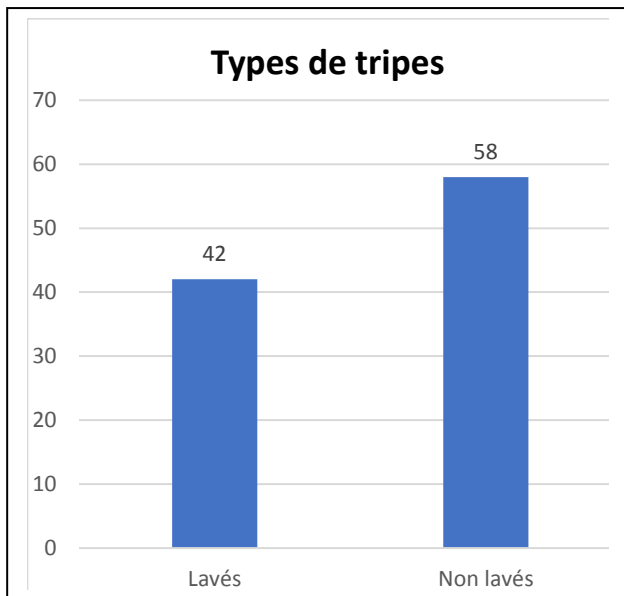
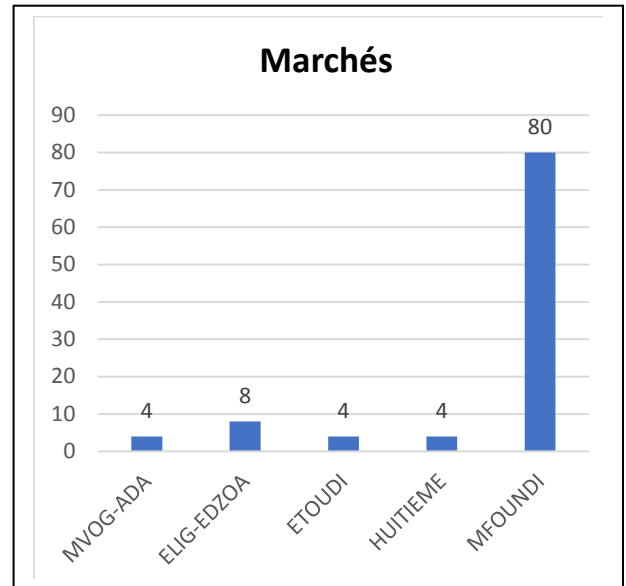
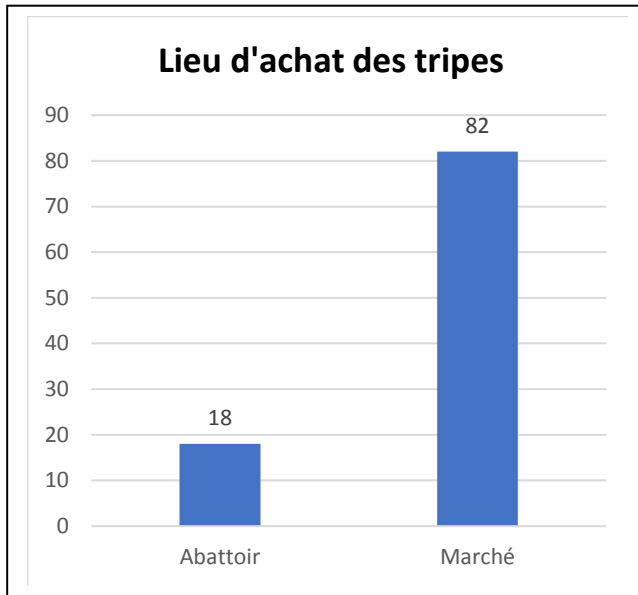
Oxydase

ANNEXE 2 : Fiche d'enquête

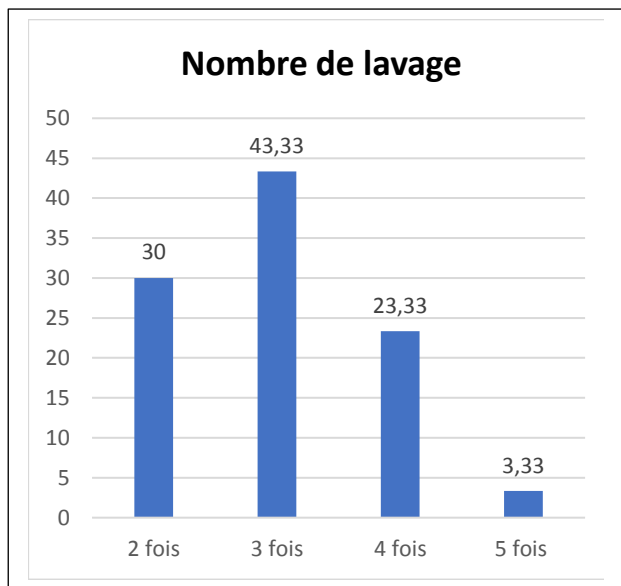
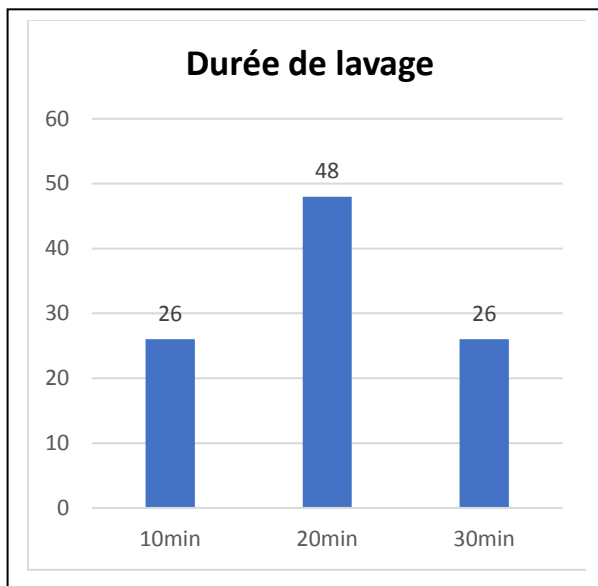
<u>Localisation</u>
Quartier :
<u>Participant</u>
Nom et prénoms :
Age :..... Sexe : Masculin <input type="checkbox"/> Féminin <input type="checkbox"/>

1. Où achetez-vous vos tripes ?
Abattoir Marché Autres
2. Quel type de tripes achetez-vous ?
Lavés Non lavés
3. Dans quel contenant transportez-vous les tripes après achat ?
Sac artisanal Papier plastique Air libre Autres.....
4. Quel moyen de transport utilisez-vous après achat des tripes ?
Moto Voiture Autres.....
5. Lavez-vous à nouveau les tripes après achats ?
Oui Non
6. D'où provient l'eau de lavage ?
Robinet Puit Forage Autres.....
7. Quel type d'eau utilisez-vous pour le lavage ?
Chaude Tiède Froide
8. Combien de temps lavez-vous les tripes ?
9. 0 à 10min 0 à 20min 0 à 30min 0 à 1h Autres.....
10. Combien de fois lavez-vous les tripes ?
1fois 2fois 3fois 4fois 5fois Autres.....

ANNEXE 3 : Résultats des enquêtes



Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin contre quelques bactéries pathogènes alimentaires sur les tripes de bœuf de crues



ANNEXE 4 : Composition des milieux de culture

Sabouraud	
Ingrédients	Quantité (g/L)
Peptomycol	100
Glucose	40
Chloramphénicol	0,5
Agar	15

Man, Rogosa et Sharpe	
Ingrédients	Quantité (g/L)
Peptone de protéase	10
Extrait de boeuf	10
Extrait de levure	4
Glucose	20
Citrate d'ammonium	20
Acétate de sodium	5
Sulfate de magnésium	0,2
Sulfate de manganèse	0,5
Phosphate di-potassique	2
Agar	15

Mac Conkey	
Ingrédient	Quantité (g/L)
Peptone	3
Lactose	10
Sels biliaires	1,5
NaCl	5
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,001
Agar	13,5

Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin contre quelques bactéries pathogènes alimentaires sur les tripes de bœuf de crues

Mueller Hinton Agar	
Ingrédients	Quantité (g/L) / ml
Infusion de viande	2
Peptone de caséine	17,5
Amidon de maïs	1,5
Agar	20

Salmonelle-Shigella	
Ingrédients	Quantité (g/L)
Peptone	4
Lactose	10
Extrait de viande	4
Sels biliaires	8,5
Vert brillant	0,33
Na ₂ S ₂ O ₃	8
Citrate de Sodium	1
Citrate de fer	1
Rouge neutre	0,025
Agar	11,5

Mannitol Salt	
Ingrédients	Quantité (g/L)
Extrait de viande	1
Peptone	75
Mannitol	10
Rouge phénol	0,025
Agar	15

Rappaport Vassiliadis	
Phosphate dipotassique	0,18
Peptone papaïnique de soja	4,50
Chlorure de sodium	7,20
Phosphate monopotassique	1,26
Vert malachite (oxalate)	0,036
Chlorure de magnésium anhydre	13,40

Glycérol Agar	
Ingrédients	Quantité (g/L) / ml
Extrait de levure	5
Glycérol	30
Polypeptone	10
Agar	15

GYCE / Frater	
Ingrédients	Quantité (g/L) / ml
Extrait de levure	10
CaCO ₃	20
Ethanol	20
Agar	15

GYC	
Ingrédients	Quantité (g/L) / ml
Extrait de levure	10
Glucose	50
CaCO ₃	3
Agar	20

Activité antibactérienne du vinaigre de la pulpe de tamarin contre quelques bactéries pathogènes alimentaires sur les tripes de bœuf de crues

GYP	
Ingrédients	Quantité (g/L) / ml
Glucose	20
Peptone	10
Agar	15

Carr	
Ingrédients	Quantité (g/L) / ml
Extrait de levure	20
Ethanol	10
Vert de bromocrésol	0,022
Agar	20

GYA	
Ingrédients	Quantité (g/L) / ml
Extrait de levure	10
Glucose	10
CaCO ₃	20
Acide acétique pur	3,5
Agar	15