

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

Isolement, Identification morphologique et caractérisation de croissance de moisissures isolées à partir de la farine à base de blé tendre commercialisée dans la région d'Ain Témouchent

Présenté Par :

- 1) Melle AISSAOUI Fatima Zahra
- 2) Melle BEDJLOUD Fatima Zahra
- 3) M^{me} MELLAH Mansouria

Devant le jury composé de :

| | | | |
|----------------------|-----|--------------------------|-------------|
| Dr. BOUAMRA Mohammed | MCA | UAT.B.B (Ain Temouchent) | Président |
| Dr. MAHMOUDI Fatima | MCA | UAT.B.B (Ain Temouchent) | Examinateur |
| Dr. ZIANE Mohammed | MCA | UAT.B.B (Ain Temouchent) | Encadrant |

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Nous tenons cordialement à exprimer nos profonds et respectueuses reconnaissances au Docteur ZIANE Mohammed, pour la confiance de nous avoir encadré et en acceptant de diriger ce travail de fin d'études ainsi pour les précieux conseils qui nous ont permis de nous orienter vers les bonnes voies de recherche.

Nous exprimons aussi notre profonde reconnaissance et nos remerciements aux membres du jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail, nous espérons qu'il puisse leur donner satisfaction, Dr BOUAMRA ET DR MAHMOUDI, MCA, Université de Ain Témouchent.

Nos salutations s'adressent aussi à tous nos enseignants pour leurs contributions à notre formation durant nos études.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

*À l'éternel **Dieu** tout puissant, sans qui je ne serais parvenu à la réalisation de ce travail.*

À l'âme de ma grande mère qui vient de nous quitter ,pour ses précieux conseils, son immense amour, son affection intarissable et son soutien indéfectible. Que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

*À mes Cher parents , Mon papa **Abdekader** qui je dois ma vie et mon respect.*

*À ma mère **Fatiha** qui m'a soutenue tout au long de mes années d'études*

Que ce travail soit l'accomplissement de ces vœux tant allégués, et le fruit de son soutien et amour infaillible.

*À ma sœur d'amour **Djihane** qui a partagé avec moi tout les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.*

*À toute la famille **Aissaoui** et **Reteri** que je tiens à cœur*

À mes amis pour leur vivacité , et à qui je souhaite tout le succès.

À tout ceux que j'aime merci d'être toujours là pour moi.

AISSAOUI Fatima Zahra

Dédicaces

Arrivé au terme de mes études par la grâce de dieu.

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents que dieu les garde et les protège pour leur soutien moral et financier, pour leur amour et encouragement et les sacrifices qu'ils ont endurés ;

Tous mes sentiments de reconnaissance pour vous.

A mes grands-parents que dieu bénit leurs âmes.

A ma cher grand-mère ma deuxième maman et mes tentes que dieu les garde.

Mes sœurs Rim, Sarra, Ines et Ghézlène.

Mes frères Toufik, Youcef, Housem, Habib et Karim.

Aux fleurs de la maison, mes très chers petits : Manel, Anes et Akram.

Tout la famille BEDJELOUD et ZERROUKI.

A tous mes ami(e) s pour les moments agréables que nous avons passé ensemble.

A tous mes enseignants durant tous mon cursus.

BEDJELOUD Fatima Zahra

Dédicaces

Grace à ALLAH, je suis arrivée à la fin de mes études.

Je dédie ce travail

A mes chers parents

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler
pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

A mon cher mari Amine

Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

A ma chère sœur Fatiha

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.

A mes chers frères, Salah Eddine, Mohammed et Ibrahim.

*A mon défunt oncle qui nous a quitté récemment, qui apprécié le savoir et ceux qui se donnent
à fond pour réaliser leur rêve.*

A ma grand-mère Dieu la garde, mes tantes et mes oncles en signe de leur amour et gratitude.

A tous mes collègues de la promotion "Microbiologie appliquée"

MELLAH Mansouria

Sommaire

| | |
|---|----|
| Liste d'abréviation | |
| Liste des figures | |
| Liste des photographies | |
| Liste des tableaux | |
| INTRODUCTION | 1 |
| SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| I Farine de blé | |
| I. 1.1. Définition | 2 |
| I. 1.2. Composition de la farine de blé | 2 |
| I. 1.2.1. Amidon | 2 |
| I.1.2.2. Matières minérales | 2 |
| I.1.2.3.. Les protéines | 2 |
| I.1.2.4. Les lipides | 3 |
| I.1.2.5. Les vitamines | 3 |
| I.1.2.6. L'eau | 3 |
| I.1.2.7. Les enzymes | 4 |
| I.1.3. Caractéristiques de la farine | 4 |
| I.1.3.1. Caractéristiques organoleptiques | 4 |
| I.1.3.1.1. L'essai au touché | 4 |
| I.1.3.1.2. L'odeur | 4 |
| I.1.3.1.3. La saveur | 4 |
| I.1.3.1.4. La couleur | 4 |
| I.1.3.2. Caractéristiques physico – chimiques | 4 |
| I.1.3.2.1. Teneur en eau | 4 |
| I.1.3.2.2 Teneur en cendre | 4 |
| I.1.3.2.3. Dosage du gluten | 5 |
| I.1.3.3. Qualité réglementaire de la farine de blé | 6 |
| I.1.3.3.1. Les contaminants | 6 |
| I.1.3.3.1.1. Métaux lourds | 6 |
| I.1.3.3.1.2. Résidus de pesticides | 6 |
| I.1.3.3.1.3. Mycotoxines | 6 |
| I.1.3.3.2. Hygiène | 6 |
| I. 2. Généralités sur les moisissures | 7 |
| I.2.1. Définition | 7 |
| I. 2. 2. Classification | 7 |
| I.2.2.1. Les Zygomycètes | 7 |
| I.2.2.2. Les Ascomycètes | 8 |
| I.2.2.3. Les Basidiomycètes | 8 |
| I.2.2.4. Les Deutéromycètes | 8 |
| I.2.3. Ecologie des moisissures | 8 |
| I.2.4. Principaux genres | 9 |
| I.2.4.1. <i>Aspergillus</i> | 09 |
| I.2.4.2. <i>Penicillium</i> | 10 |
| I.2.4.3. <i>Mucor</i> | 11 |
| I.2.5. Morphologie et structure | 13 |
| I.2.6. Facteurs physicochimiques | 14 |
| I.2.6.1. Température | 14 |
| I.2.6.2. Humidité | 14 |
| I.2.6.3. pH | 14 |

| | | |
|--|-----------------|----|
| I.2.6.4. Oxygène | <i>Sommaire</i> | 15 |
| I.2.6.5. Lumière | | 15 |
| I.2.7. Mode de vie | | 15 |
| I.2.7.1. Les saprophytismes | | 15 |
| I.2.7.2. Parasites | | 15 |
| I.2.7.3. Symbiotiques | | 15 |
| I.2.8. Cycle de vie | | 15 |
| I.2.9. Reproduction | | 16 |
| I.2.9.1. Le cycle sexué | | 16 |
| I.2.9.2. Le cycle asexué | | 17 |
| I.2.10. Mycotoxines | | 17 |
| I.2.10.1. Définition | | 17 |
| I.2.10.2. Les facteurs influençant la production des mycotoxines | | 18 |
| I.2.10.2.1. l'eau | | 18 |
| I.2.10.2.2. Le pH | | 18 |
| I.2.10.2.3. Présence d'oxygène | | 18 |
| I.2.10.2.4. Température | | 18 |
| I.2.10.2.5. Composition du substrat | | 18 |
| I.2.10.3. Les effets des mycotoxines | | 19 |

PARTIE EXPERIMENTALE

| | | |
|---|--|----|
| II.1. Matériels et méthodes | | 20 |
| II.1.1. Echantillonnage | | 20 |
| II.1.2. Analyses physico-chimiques | | 21 |
| II.1.2.1. Mesure de pH | | 21 |
| II.1.2.2. Détermination de l'humidité | | 21 |
| II.1.3. Analyses mycologiques | | 21 |
| II.1.3.1. Préparation des échantillons | | 22 |
| II.1.3.2. Dénombrement des colonies | | 22 |
| II.1.3.3. Identification des isolats fongiques | | 22 |
| II.1.3.4. Observation macroscopique | | 23 |
| II.1.3.5. Identification microscopiques | | 23 |
| II.1.3.6. Purification des moisissures | | 23 |
| II.1.3.7. Étude de la production des mycotoxines | | 23 |
| II.1.3.7.1. Détection visuelle de la production de mycotoxine | | 23 |
| II.1.3.7.2. Détection de mycotoxine par la CCM | | 23 |
| II.1.3.8. Caractérisation du croissnace de isolats de moisissures | | 24 |
| II.2. Résultats et discussions | | 26 |
| II.2.1. Les analyses physico-chimiques | | 26 |
| II.2.1.1. Mesures de pH | | 26 |
| II.2.1.2. Taux d'humidité | | 26 |
| II.2.2. Les analyses fongiques | | 27 |
| II.2.2.1. Identification des souches fongiques | | 27 |
| II.2.2.1.1. Genre <i>Aspergillus sp</i> | | 27 |
| II.2.2.1.2. Genre <i>Penicillium sp</i> | | 27 |
| II.2.2.1.3. Genre <i>Mucor sp</i> | | 27 |
| II.2.2.2. La réparation des niveaux de contaminations de farine | | 29 |
| II.2.2.3. Prévalence de contamination en fonction de genre | | 30 |
| II.2.2.4. Distribution de la concentration des moisissures | | 31 |

Sommaire

| | |
|--|-----------|
| II.2.2.5. Révélation mycotoxicologique | 31 |
| II.2.2.5.1. Révélation des souches productrices de mycotoxines par milieu CEA | 31 |
| II.2.2.5.2. Révélation des souches productrices de mycotoxines par CCM | 32 |
| II.2.2.6. Caractérisation de la croissance des moisissures | 32 |

| | |
|------------------------------------|-----------|
| Conclusion | 34 |
| Références bibliographiques | 35 |
| Glossaire | 39 |
| Annexes | 40 |
| Résumé | |

Liste d'abréviation

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

μL : Microlitre

aw : Activity Water

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CO₂ : Dioxyde de carbone

g : Gramme

h : Heure

JO : Journal Officiel

min : minute

ml : Millilitre

NH₃ : ammoniac

pH : potentiel Hydrogène

U.V : Ultraviolet

UFC : Unité Formant Colonie

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 01 : Farine de blé tendre | 2 |
| Figure 02 : Classification des champignons | 8 |
| Figure 03 : Morphologie d'un <i>Aspergillus</i> | 9 |
| Figure 04 : Morphologie d'un <i>Penicillium</i> | 10 |
| Figure 05 : Morphologie d'un <i>Mucor</i> | 12 |
| Figure 06 : Reproduction sexuée | 17 |
| Figure 07 : Reproduction asexuée | 17 |
| Figure 08 : Régions de prélèvement de la farine (maps le 14/05/2021) | 20 |
| Figure 09 : Répartition des taux de contamination de farine | 29 |
| Figure 10 : Abondance des espèces fongiques | 30 |
| Figure 11 : détection sous UV des souches productrices des mycotoxines sur milieu CEA | 32 |
| Figure 12 : détection des souches productrices de mycotoxines par CCM | 32 |
| Figure 13 : Cinétique de croissance des moisissures | 33 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 01 : Composition biochimique de farine | 3 |
| Tableau 02 : Spécification microbiologiques de la farine de blé tendre | 6 |
| Tableau 03 : Classification du genre <i>Aspergillus</i> | 9 |
| Tableau 04 : Classification du genre <i>Penicillium</i> | 11 |
| Tableau 05 : Classification du genre <i>Mucor</i> | 12 |
| Tableau 06 : Différents types de mycotoxines | 19 |
| Tableau 07 : Echantillons de farine collectés | 21 |
| Tableau 08 : Valeurs de pH et d'humidité des différentes marques de farine. | 26 |
| Tableau 09 : Observation macroscopique et microscopique des colonies | 28 |
| Tableau 10 : Récapitulatif de contamination fongique et caractéristique de l'échantillon | 31 |
| Tableau 11 : variabilités des genres isolés | 33 |
| Tableau 12 : Paramètres de croissance des moisissures | 34 |

INTRODUCTION

Introduction

Les céréales constituent la base de l'alimentation humaine et animale dans la plupart de pays du monde possédant un pouvoir nutritionnel important. En effet, les céréales fournissent 57% de produits consommés contre 23% apportés par les tubercules et les légumineuses ainsi que 20% par les produits d'origine animal (Godon. 1982). En Algérie, les céréales et en particulier le blé tendre est le premier produit importé utilisé surtout pour la préparation du pain qui est la denrée alimentaire le plus consommé, selon l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture(FAO) les Algériens consomment près de 49 millions de baguettes par jour. La farine utilisé pour la panification est un produit déshydraté qui se caractérise par une activité d'eau plus faible d'ordre <0.16 (Feillet, 2000). Dans ces conditions seulement les moisissures qui peuvent se développer comme étaient montré par (Davet, 1996). Le caractère ubiquitaire des moisissures surtout dans le sol et les végétaux, leur propagation et dissémination rapide dans l'air en contamination les champs, le changement climatique et la durée de stockage s'est avéré longue durant l'approvisionnement en blé tendre, d'une part et d'autre part la production des céréales est assurée par une seule récolte dans l'année sont des critères essentiels qui favorisant la présence et le développement des moisissures. Parmi ces moisissures, plusieurs auteurs ont pu isoler *Aspergillus*, *Penicillium* à partir des produits céréaliers selon OMS-2018.Certains de ces espèces à savoir *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium expansum*, *Penicillium crustosum* sont connus par leur pouvoir producteur de mycotoxines (AFSSA, 2006).

Ces derniers sont des métabolites secondaires hautement toxiques peuvent avoir des effets nocifs immédiats comme l'intoxication aigüe, ou sur long terme, comme les déficiences immunitaires ou le cancer (OMS, 2018).

Dans ce contexte, ce travail visait à rechercher les moisissures mycotoxicologique dans la farine et caractériser leur croissance.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons divisé notre travail en deux parties :

- la première partie est consacrée à une analyse bibliographique sur la farine ;
- Tandis que la deuxième partie est consacrée au matériel et méthode utilisé dans cette étude ;
- Dans la troisième partie nous avons présenté les principaux résultats et discussions et on termine avec une conclusion et perspectives.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. Farine de blé :

I. 1.1. Définition :

La dénomination « farine » désigne la farine de blé tendre *Triticum aestivum*. C'est le produit de mouture de grains de céréales préalablement nettoyé, sans autre modification que la soustraction partielle ou totale des germes et des enveloppes (JO 2000).



Figure 01 : Farine de blé tendre (Lorret 2013).

I. 1.2.. Composition de la farine de blé :

Selon (Feillet, 2000) farine est composé de :

I. 1.2. 1. Amidon

C'est une forme de réserve des glucides. Il contient dans sa structure deux polymères : l'amylose et l'amylopectine, qui forment un gel essentiel à la transformation de la farine, en absorbant l'eau sous l'effet de la chaleur. Il représente 65 à 70 % du poids total de la farine (Tableau 1).

I.1.2.2. Matières minérales :

La pureté de la farine est basée sur la détermination de sa teneur en cendres : moins il y a de cendres, plus que la farine est pure. Les teneurs en matières minérales représentent seulement 0.45 à 0.60% (Tableau 1).

I.1.2.3.. Les protéines

Elles représentent en général 11 à 13.5% (Tableau 1). Elles sont classées selon leurs solubilités en:

- Protéines hydrosolubles, principalement les albumines et les globulines (15 à 20 % des protéines totales).
- Protéines insolubles (80 à 85 %) dans l'eau dont les gliadines (45 à 50 %) et les gluténines (55 à 60 %) qui forment le gluten.

I.1.2.4. Les lipides

Les lipides de la farine de blé tendre sont constitués de 23 classes de lipides saponifiables séparés en 3 groupes (lipides neutres, glycolipides et phospholipides) selon leur localisation à l'intérieur ou à l'extérieur de l'amidon. Ils représentent 1.2 – 1.4% (Tableau 1).

I.1.2.5. Les vitamines

La farine contient les vitamines du groupe B (B1,B2,B3) et du groupe E qui peut agir comme agent antioxydant. Il se trouve en quantité faible d'ordre 0,061mg ,0.01mg,0.26mg et <0.08mg (Tableau 1).

I.1.2.6. L'eau

Pour prolonger la durée de conservation et de stockage de la farine, le taux d'humidité ne doit pas dépasser 16 % (Tableau 1).

I.1.2.7. Les enzymes

Quant aux enzymes, la farine contient différentes enzymes en petites quantités :

- Les protéases : Enzymes agissant sur la structure des protéines en inhibant la germination du grain qui n'est pas souhaitable (Lahbab et al., 2004).
- Les lipases : ils entraînent une décoloration du pain (blanche) en distribuant les caroténoïdes sous une réaction d'oxydation (Cherie. 2000).
- Les lipoxydases : agissent sur les caroténoïdes par une réaction d'oxydation et entraînent une décoloration du pain qui devient blanche (Cheriet. 2000).
- Les amylases : sont des enzymes qui contrôlent la fermentation panaire.

Tableau 01 : Composition biochimique de la farine.

| Composants | Teneurs |
|-----------------|--------------|
| Amidon | 65 – 70% |
| Matière minéral | 0.45 – 0.60% |
| Protéine | 11 – 13.5% |
| Lipide | 1.2 – 1.4% |
| Vitamines B1 | 0.061 mg |
| Vitamine B2 | 0.01 mg |
| Vitamine B3 | 0.26 mg |
| Vitamine E | <0.08 mg |
| L'eau | 12 – 16 |

I.1.3. Caractéristiques de la farine :

La farine se caractérise par des critères organoleptiques et physicochimiques Selon (Doumandji et *al.*,2003) :

I.1.3.1. Caractéristiques organoleptiques

I.1.3.1.1. L'essai au touché :

La farine de blé tendre forme une espèce de pelote après la serré dans la main une poignée de farine puis ouvrir et observer.

I.1.3.1.2. L'odeur :

L'odeur de la farine est franche, agréable, analogue à celle de la noisette. Les farines bises ont une odeur qui rappelle celle du son. Une odeur acide, rance, acre indique que la farine est ancienne. Par ailleurs, l'odeur de moisi indique que la farine est en voie d'altération. Son évaluation consiste à préparer un pâton avec de l'eau tiède et sentir.

I.1.3.1.3. La saveur :

Elle se caractérise par une saveur normale douçâtre avec arrière-goût amer. Elle ne doit pas crisser sous la dent (sable). Son altération provoque une modification de ces caractéristiques.

I.1.3.1.4. La couleur :

La couleur varie avec le taux d'extraction et avec la nature de blé tendre. La farine dont le taux d'extraction moyen (70%) est blanche. Si le taux d'extraction est élevé (80% et plus), la couleur varie du crème au marron claire. Cette couleur indique la présence de piqûres.

I.1.3.2. Caractéristiques physico – chimiques :

I.1.3.2.1. Teneur en eau :

Le taux d'humidité de la farine doit être inférieur ou égal à 15.5% (NA 11 –32 –1991). La teneur en eau est la perte de masse exprimée en pourcentage effectuée pendant 2h, dans une étuve réglée à 130 - 133°C à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids constants.

I.1.3.2.2 Teneur en cendre :

La détermination du taux de matières minérales donne une indication sur le taux d'extraction pour le meunier (0.67 %) (NA 733).

L'incinération du produit à analyser dans les conditions décrites dans la présente méthode, nous permet de déterminer le taux de cendre.

Leur détermination consiste à broyer puis chauffé dans un four à moufle à 900 °C ± 25 °C pendant 2 heures jusqu'à ce qu'il reste un résidu incombustible, une fois refroidi un aspect blanc apparaitre.

Le taux de cendres étant exprimé par rapport à la matière sèche, il faut déterminer parallèlement la teneur en eau du produit à analyser.

Le taux de cendres correspond à la proportion de cendres fournie par cent (100) parties de matière sèche.

P1 : poids de la capsule vide

P2 : poids de la capsule vide + 5 grammes de produit.

Le pourcentage de cendres par rapport à la matière humide est calculé comme suit :

$$Tc/M.h = \frac{P2 - P3}{P2 - P1} \times 100 \times \frac{100}{100 - H}$$

Alors, le pourcentage de cendres par rapport à la matière sèche est :

$$Tc/M.s = \frac{P2 - P3}{P2 - P1} \times 100$$

M : est la masse, en gramme du résidu.

H : est la teneur en eau du produit, exprimée en % de l'échantillon.

I.1.3.2.3. Dosage du gluten :

- Principe :

Le gluten sec représente la fraction insoluble d'un pâton de farine recueillie, sous un filet d'eau par malaxage essorage et séchage. Le gluten de la farine comprend les protéines insolubles, augmenté du reste des substances non azotées (grasses, minérales... etc.).

Ce dosage constitue un moyen approximatif simple d'appréciation de la quantité et de la qualité des protéines insolubles, il permet de déceler des altérations que ne révèlent pas les analyses chimiques. Bien que sur le plan quantitatif la teneur en protéines donne des résultats peut précis et plus reproductibles. La détermination du gluten reste encore utilisée en particulier pour le blé.

On utilise ces résultats pour calculer la capacité d'hydratation du gluten selon l'équation suivante :

$$\text{Capacité d'hydratation du gluten} = \frac{(\text{gluten humide} - \text{glutensec}) \times 100}{\text{gluten humide}}$$

De point de vue quantitatif, pour la farine du blé tendre le gluten sec est de l'ordre de 8 à 12%.

I.1.3.3. Qualité réglementaire de la farine de blé:

Selon *codex alimentarius* (Codex Stan, 1985), les critères régis la qualité de la farine :

I.1.3.3.1. Les contaminants :

I.1.3.3.1.1. Métaux lourds :

La farine de blé doit être exempte de métaux lourds en quantités susceptibles de présenter un risque pour la santé humaine.

I.1.3.3.1.2. Résidus de pesticides :

La farine de blé doit être conforme aux limites maximales de résidus fixées par la Commission du *Codex Alimentarius* pour ce produit.

I.1.3.3.1.3. Mycotoxines :

La farine de blé doit être conforme aux limites maximales de mycotoxines fixées par la Commission du *Codex Alimentarius* pour ce produit).

I.1.3.3.2. Hygiène :

La farine doit être exempte de matière indésirable comme les microorganismes, les parasites, les toxi-infections et les mycotoxines en quantités susceptibles de présenter un risque pour la santé de l’homme et l’animal.

Tableau 02: Spécification microbiologiques de la farine de blé tendre (JO.2017)

| Catégories des denrées alimentaires | Micro-organismes/ métabolites | Plan d'échantillonnage | | Limites microbiologiques (ufc/g) | |
|-------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|---|-------------------------------------|-----------------|
| | | n | c | m | M |
| Farines et semoules | <i>Escherichia coli</i> | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| | Staphylocoques à coagulase + | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| | <i>Bacillus cereus</i> | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| | Moisissures | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| | Anaérobies sulfite-réducteurs | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |

Pour minimiser les contaminants, la farine doit être emballée dans des récipients fabriqués avec des matériaux sans danger et convenant à l’usage auquel ils sont destinés et qui permet la préservation des qualités hygiéniques, nutritionnelles, technologiques et organoleptiques du produit.

Lorsque le produit est emballé dans des sacs, ceux-ci doivent être propres, robustes et solidement cousus.

I. 2. Généralités sur les moisissures

I.2.1. Définition

Le terme "moisissure" désigne tous les champignons microscopiques, filamenteux et ubiquitaires (Pitt et al., 2000). On peut les détecter à l'œil nu lorsque leur développement est important. Leurs principales caractéristiques sont :

- La nature chimique de leur paroi cellulaire riche en chitine.
- La reproduction par spores sexuées ou asexuées.
- La présence de glycogène comme source de réserve.
- L'absence de chlorophylle.

Ce sont des espèces saprophytes qui se nourrissent en dégradant et recyclant les matières organiques de l'environnement (Leyral et Vierling, 2007).

Certains peuvent vivre en symbiose avec les végétaux et d'autres peuvent être pathogènes pour les végétaux en provoquant certaines maladies notamment des récoltes (pourriture grise de la vigne, ergot du seigle, rouille du blé, etc.) Et les animaux causant des mycoses chez l'homme (champignons infectieux) (Riba, 2008).

Les moisissures présentent des intérêts dans les différents domaines (biotechnologie, santé, environnement, agriculture ...etc.).

I. 2. 2. Classification :

Le nombre d'espèces fongiques isolées est estimé à 1 500 000 dont environ 76 000 référencées (Kiffer et Morelet, 1997).

La taxonomie des champignons se base sur le mode de reproduction. Elle les classe en quatre grands embranchements : les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes, et les Deutéromycètes (Fungi imperfecti) (figure 02).

I.2.2.1. Les Zygomycètes, ont des hyphes non septés.

Leur reproduction asexuée est assurée par des sporocystospores ou parfois par des « conidies exogènes » se développant dans des sporanges à l'extrémité d'hyphes aériens.

Leur reproduction sexuée se fait par une fusion de gamétocystes conduisant à la formation de spores dormantes qui permettent la résistance aux conditions défavorables durant croissance.

Lors de leur germination, les zygosporos s'ouvrent et forment un sporange asexué. (Kiffer et Morelet, 1997).

I.2.2.2. Les Ascomycètes

Ils ont un thalle septé ou unicellulaire (levure). Beaucoup d'Ascomycètes se reproduisent par multiplication asexuée (conidies). Certains d'autres leur reproduction peut être sexuée, avec formation des spores méiotiques dans des asques (ascospores) (Kiffer et Morelet, 1997).

I.2.2.3. Les Basidiomycètes

Ils ont un thalle septé. Ils produisent des spores non flagellées sexuées appelés basidiospores à l'extérieur des basides. Ils ont aussi un mode de reproduction asexuée qui implique la production des conidiospores (Kiffer et Morelet, 1997).

I.2.2.4. Les Deutéromycètes

Ils regroupent les moisissures pouvant vivre et se multiplier sans phase sexuée, et la plupart des formes asexuées ou « imparfaites » (anamorphes) des Ascomycètes et des Basidiomycètes. Leur multiplication se fait généralement par production de spores mitotiques (issues d'une mitose) appelées conidies (Kiffer et Morelet, 1997).



Figure 02 : classification des champignons.

I.2.3. Ecologie des moisissures :

Dans la nature, les champignons se développent le plus souvent comme des microorganismes saprophytes en dégradant la matière organique et minérale. Ces caractéristiques confèrent aux champignons, la possibilité de coloniser et d'explorer de nouveaux habitats et ainsi, d'occuper tous les environnements possible (Dix et Webster, 1995).

Quelques espèces sont adaptées à la sécheresse, d'autres vivent au contraire dans l'eau (eaux douces, océans, ou eaux usées). Certaines supportent bien des pressions osmotiques élevées (dans les milieux très salés, ou très sucrés, par exemple) et arrivent à contaminer les salaisons, le miel, ou les confitures. Des champignons aimant la chaleur se trouvent dans les composts (à 70-75°C). Mais on trouve aussi des champignons dans les toundras arctiques ; en

haute montagne, l'hygrophore printanier se récolte à la fonte des neiges (2°C) ; et certains champignons peuvent encore pousser dans les chambres réfrigérées (*Sporotrichum carnis*) peut altérer des viandes pourtant conservées à -5°C (Locquin, 1984).

I.2.4. Principaux genres :

I.2.4.1. *Aspergillus* :

Les *Aspergillus* sont caractérisés par la présence de filaments perpendiculaires (stipes) aux hyphes végétatifs. Les stipes se terminent par une vésicule supportant les cellules de la conidiogénèse : les phialides. Celles-ci, sans collerette, sont soit portées directement par la vésicule, soit séparées par des pièces intermédiaires ou métules. L'ensemble stipe et vésicule constitue le conidiophore, et l'ensemble vésicule, phialides et conidies forme la tête aspergillaire (Morin, 2003) (figure 03).

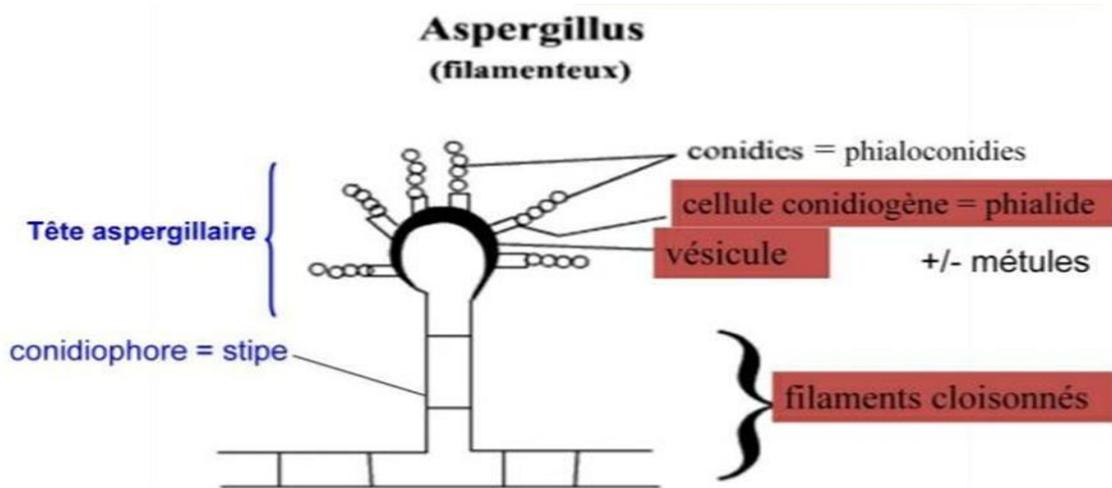


Figure 03: la morphologie d'un *Aspergillus* (Morin, 2003).

Classification : Les *Aspergillus* sont des champignons imparfaits (Deutéromycètes) qui comprennent 185 espèces. Le tableau 3, montre la classification des *Aspergillus*.

Tableau 03 : classification du genre *Aspergillus*.

| | |
|---------------|--------------------|
| Règne | Fungi |
| Division | Mycota |
| Sous division | Eumycotina |
| Classe | Ascomycetes |
| Ordre | Aspergillaceae |
| Famille | Aspergillaceae |
| Genre | <i>Aspergillus</i> |

Ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont présentes dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air.

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont aussi connues pour leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies animales et humaines (Morin, 1994). Certaines espèces d'*Aspergillus* sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie des produits biotechnologiques notamment pour la fermentation de divers substrats et la production d'enzymes ou d'acides organiques (Botton et al., 1990).

I.2.4.2. *Penicillium* :

Au point de vue morphologique les *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille.

Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores et qui peuvent être insérées directement (*Penicillium* monoverticillé) ou par l'intermédiaire d'une rangée de métules (*Penicillium* biverticillé) ; de deux rangées successives de métules (*Penicillium* triverticillé) sur les conidiophores. Les phialides, ampulliformes ou lancéolées, sont serrées les unes contre les autres donnant à l'ensemble un aspect de pinceau (Botton et al., 1990) (figure 04).

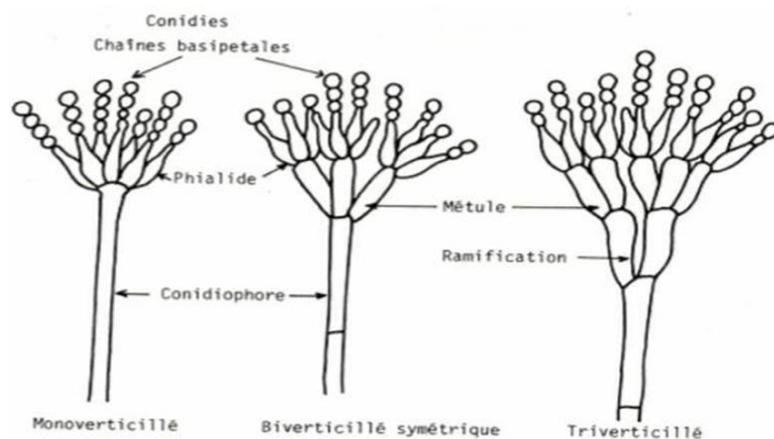


Figure 04 : morphologie d'un *Penicillium* (Botton et al., 1990).

Classification : Les *Penicillium* sont des champignons imparfaits (Deutéromycètes) qui comprennent plus de 300 espèces. Le tableau 04, montre la classification de *Penicillium*.

Tableau 04 : classification du genre *Penicillium*.

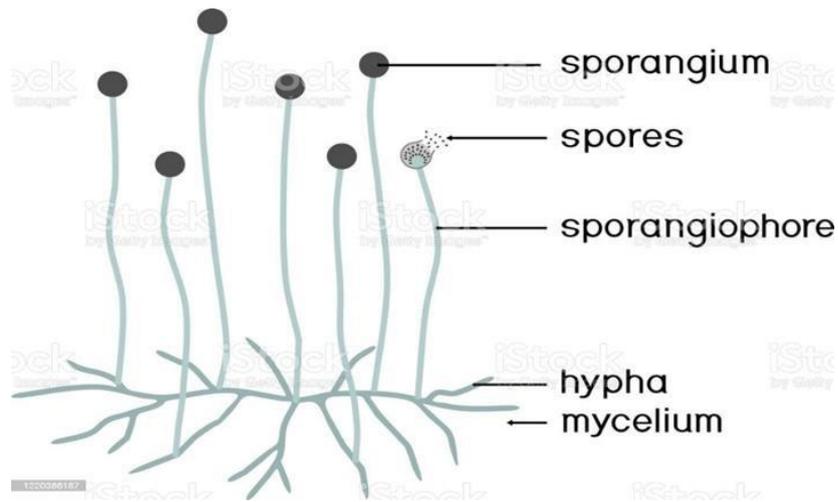
| | |
|---------------|--------------------|
| Règne | Fungi |
| Division | Ascomycota |
| Sous division | Pezizomycotina |
| Classe | Eurotiomycetes |
| Ordre | Eurotiales |
| Famille | Trichoromaceae |
| Genre | <i>Penicillium</i> |

Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières et pouvant être responsables de nombreuses dégradations organiques en décomposition, le compost, les céréales.

La majorité d'espèces du genre *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines (Pitt et *al.*, 2000). De nombreuses espèces des *Penicillium* sont utilisées au niveau industriel pour la fabrication de fromages et salaisons ou pour la production des différents métabolites d'intérêt : amélioration des qualités organoleptiques, obtention des antibiotiques ...etc. (Botton et *al.*, 1990).

I.2.4.3. *Mucor* :

Le thalle est constitué de filaments siphonnés (coenocytiques), non ou peu cloisonnés. Le champignon émet généralement des stolons qui courent à la surface du support gélosé et adhèrent au substrat par des sortes de racines appelés rhizoïdes. Des stolons partent des filaments dressés : les sporocystophores, filaments porteurs des organes de reproduction : sporocystes ou sporanges. La partie terminale de sporocystophore se dilate en une vésicule appelée columelle qui fait saillie à l'intérieur de sporocyste d'aspect globuleux ou piriforme selon les espèces. C'est dans ces sporocystes que sont produites des spores à surface lisse ou granuleuse selon les espèces sont libérées à maturité par déchirement de la paroi de sporocyste la paroi peut persister autour de l'apex de sporocystophore pour donner une collerette (figure 05).

Figure 05 : Morphologie d'un *Mucor*.

Classification : Le *Mucor* comprend 58 espèces décrites (Walther et al., 2013).le tableau 05, montre la classification du *Mucor*.

Tableau 05 : classification du genre *Mucor*

| | |
|---------------|--------------|
| Règne | Fungi |
| Division | Mycota |
| Sous division | Eumycotina |
| Classe | Zygomycetes |
| Ordre | Mucorales |
| Famille | Mucoraceae |
| Genre | <i>Mucor</i> |

Majoritairement saprophytes, ces espèces sont abondantes et fréquentes dans l'environnement (Voigt et al., 2016), certaines pouvant être associées à des habitats ou niches spécifiques.

La production des enzymes, des acides organiques, de l'éthanol, des acides gras et de caroténoïdes (Voigt et al., 2016). Malgré le potentiel pathogène opportuniste de certains *Mucor*, le seul métabolite secondaire toxique détecté chez les *Mucor* correspond à l'acide neurotoxique 3-nitropropionique, un inhibiteur irréversible de la succinate déshydrogénase menant à des apoptoses anormales (Hollmann et al., 2008).

I.2.5. Morphologie et structure

Elles sont multicellulaires mais la notion de cellule est assez floue à cause de leurs structures mycéliennes et coenocytiques. La paroi est riche en cellulose ou en chitine. Le thalle d'une moisissure est composé de deux parties : Le mycélium et les spores. Le mycélium est un ensemble de plusieurs filaments appelés hyphes. Chaque hyphe mesure 5 à 10 μm de diamètre possède un cytoplasme commun (Ait Abdelouahab, 2001). Chez la plupart des moisissures, les hyphes sont divisés par les cloisons ou septa, on les appelle alors hyphes segmentés.

Dans quelques classes de mycètes, les hyphes ne contiennent pas de cloisons et ont l'aspect de longues cellules continues à noyaux multiples ; ils sont appelés cénocytes (Tortora et *al.*, 2003).

Le thalle : tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes) qui ensemble ; forment le thalle filamenteux ou le mycélium qui peut être siphonné ou septé :

- Le thalle siphonné, constitué d'éléments tubulaires peu ou pas ramifié, non cloisonné est caractéristique des Zygomycètes.
- Le thalle septé ou cloisonné, constitué de filaments divisé par des cloisons en articles uni ou pluricellulaires est caractéristique des Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes (Badillet et *al.*, 1987).

Les spores : Les spores qui sont le produit de la reproduction asexuée peuvent être endogènes ou exogènes

- Les spores endogènes (endospores) sont produites à l'intérieur d'un sac fermé (sporange), porté par un filament spécialisé (sporangiophore) ;
- Les spores exogènes (conidies), retrouvées chez les Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes, sont formées par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisée (cellule conidiogène).

I.2.6. Facteurs physicochimiques

Les facteurs physicochimiques ont une grande influence sur le développement des moisissures ainsi que sur la germination.

I.2.6.1. Température

La température joue un rôle essentiel dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores (Bourgeois et *al.*, 1989). La plupart des moisissures sont mésophiles se développent à 25 jusqu'au 35°C (Botton et *al.*, 1990).

Quelques espèces sont thermotolérantes ou thermophiles et peuvent croître à haute température (au-dessus de 50°C).

D'autres sont des psychrophiles ou psychrotolérantes se développant à basses températures (entre -5 et 10°C) et peuvent survivre même à -60°C, on les rencontre dans des entrepôts frigorifiques (Davet, 1996).

I.2.6.2. Humidité

Les moisissures ont besoin d'une faible quantité d'eau par rapport aux autres microorganismes (Davet, 1996). Par contre, l'humidité a une grande influence sur le développement des moisissures non seulement sur la croissance mycélienne et la sporulation mais plus particulièrement sur la germination des spores (Bourgeois et *al.*, 1989).

Les moisissures à mycélium non cloisonné sont les plus sensibles à la dessiccation par rapport aux moisissures à mycélium cloisonné (Davet, 1996).

I.2.6.3. pH

La grande majorité des champignons filamenteux se développent dans une zone de pH de 4.5 – 8.0 (Botton et *al.*, 1990), bien qu'ils soient capables de croître dans une large gamme de pH avec une tendance à croître dans des milieux légèrement acide. C'est le cas de *Fusarium culmorum*, *Trichoderma harzianum* et *Aspergillus oryzae*. (Urbanek et Yirdaw, 1984) (Delgado-Jarana et *al.*, 2002).

Cependant, les enzymes extracellulaires produites dans des milieux complexes peuvent avoir des optima de pH d'activité très différents (plus acides ou plus basiques) (Botton, 1990).

Le pH influe sur la croissance de ces microorganismes soit indirectement en agissant sur la disponibilité des éléments nutritifs, soit directement par action sur la membrane cellulaire.

Par ailleurs, les champignons modifient souvent le pH du milieu par absorption sélective et échange d'ions, production de CO₂ ou de NH₃ ou par production d'acides (Boiron, 1996).

I.2.6.4. Oxygène

La quantité d'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important de développement. La plupart sont aérobies, les plus exigeantes vivent dans les régions périphériques des substrats, les moins exigeants peuvent se développer en profondeur comme *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus fumigatus*. Certaines peuvent même supporter une anaérobiose très stricte comme *Neocallimastix* (Bourgeois et *al.*, 1989 ; Botton, 1990).

I.2.6.5. Lumière

Les radiations du spectre visible (380 – 720) n'ont en général pas d'action sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. La plupart des moisissures n'exigent pas de lumière pour leur croissance, ni pour la germination de leurs spores (Botton, 1990).

I.2.7. Mode de vie :

En raison de leur caractère hétérotrophe, les champignons se développent sur des milieux organiques et sont donc parasites, symbiotes ou saprophytes.

I.2.7.1. Les saprophytismes :

Dans ce cas, les champignons dégradent la matière organique morte ou en décomposition afin de prélever les éléments minéraux essentiels. Ils jouent un rôle très important dans le recyclage des matières mortes comme les débris végétaux et animaux (Poisson et *al.*, 2007).

I.2.7.2. Parasites:

Les champignons parasites se nourrissent à partir de la matière organique végétale ou animale. Ils peuvent être distingués selon l'hôte parasité en parasites biotrophes qui survient sur des organismes vivants et en nécrotrophe qui parasité l'hôte après sa mort (Sicard et Lamoureux, 2006).

I.2.7.3. Symbiotiques:

Certain champignons peuvent entrer en relation avec des organismes vivants il se forme une association bénéfique (l'exemple des lichens qui sont une association algue champignons) (Bouchet et *al.*, 1989).

I.2.8. Cycle de vie :

Le cycle de vie des champignons débute lorsqu'une spore se dépose sur une surface lui offrant les conditions nécessaires à sa croissance. En fait, la germination se déclenche par la présence

d'eau combinée ou non à certains facteurs très spécifiques comme l'intensité lumineuse, certaines températures ou types d'éléments nutritifs.

La spore germera alors et donnera naissance à un premier filament non différencié, appelé hyphe, qui s'allongera pour former un ensemble appelé mycélium.

Cet ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, constitue le thalle des champignons.

En présence de conditions favorables à la sporulation, le mycélium donnera naissance à des structures plus spécialisées, qui produiront des spores asexuées (conidies) ou, plus rarement, des spores sexuées.

Chaque champignon produit un très grand nombre de spores dont l'ensemble, appelé spore, se présente très souvent sous un aspect poudreux et coloré à la surface de la moisissure. La taille, la forme et la couleur des spores de moisissures varient grandement d'une espèce à l'autre.

Par contre, en microscopie, toutes les spores d'une même espèce sont de couleur, de dimension et de forme relativement constante ce qui, dans bien des cas, constitue un élément d'identification taxonomique (Acgih, 1999).

I.2.9. Reproduction

Il existe deux types de reproductions chez les moisissures.

I.2.9.1. Le cycle sexué

Chez les champignons ce cycle se déroule en trois étapes : plasmogamie, caryogamie et méiose (Jennigs et Lysek, 1996) (figure 06).

La plasmogamie correspond à la fusion cellulaire entre deux cellules haploïdes. La cellule résultante est appelée dicaryon car elle possède deux types de noyaux haploïdes. Les deux noyaux vont fusionner lors de la caryogamie puis la méiose va convertir une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes (Carlile et Watkinson, 1994).

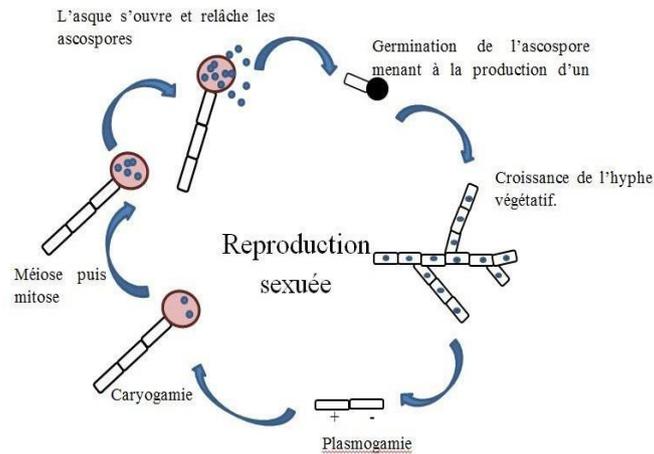


Figure 06 : Reproduction sexuée

I.2.3.1. Le cycle asexué :

La reproduction végétative des champignons résultant d'une fragmentation du thalle ou d'une sporulation représente le plus souvent la principale source de dissémination du parasite lors de la fragmentation du thalle.

Les ramifications se séparent les unes des autres à la suite de la dégénérescence de la partie basale d'hyphe dont elles dérivent.

Généralement, le contenu d'un territoire du thalle est isolé du reste de celui-ci par une cloison qui engendrera des spores en constituant un sporocyste (thalle eucarpique) (Leclerc et al., 1983) (figure 07).

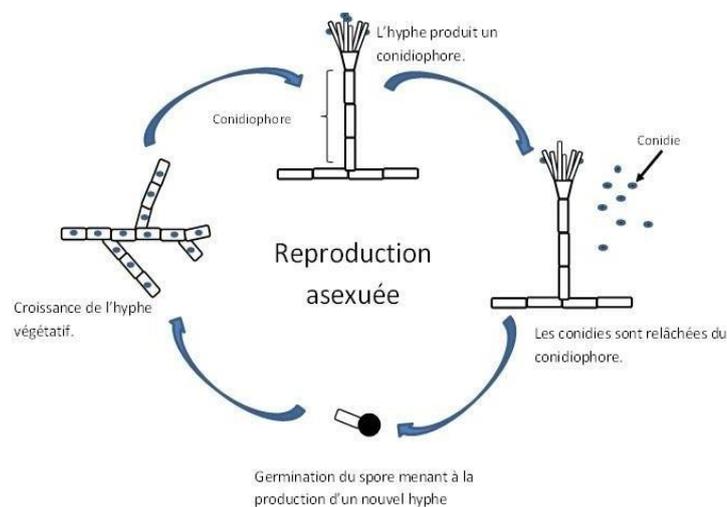


Figure 07 : Reproduction asexuée.

I.2.4. Mycotoxines :

I.2.4.1. Définition

Le terme mycotoxine dérive du grec « mycos », signifiant champignon et du latin toxicum signifiant «poison».

Les toxines fongiques sont des composés chimiques non protéiques. Leur petite taille et leur faible solubilité dans l'eau les rendent particulièrement stables en milieux acides et basiques, et résistantes aux traitements thermiques.

Ce sont des métabolites secondaires c'est-à-dire qu'ils ne sont pas indispensables au fonctionnement des champignons et sont très diversifiés (environ 300 à 400 mycotoxines). La majorité des espèces fongiques connues productrices de la plupart des mycotoxines appartient aux genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Alternaria* à cause de leur nature ubiquitaire (Sidhu, 2002).

I.2.3.1. Les facteurs influençant la production des mycotoxines :

I.2.3.1.1. L'eau :

L'activité hydrique nécessaire à la toxinogénèse est supérieure à celle permettant la croissance fongique (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

I.2.3.1.2. Le pH :

Comme pour l'AW, la gamme de pH permettant la toxinogénèse est plus restreinte que celle permettant la croissance fongique.

I.2.3.1.3. Présence d'oxygène :

Généralement, la production de mycotoxines est plus sensible à la variation de la composition de l'air que la croissance fongique. La réduction de la pression partielle en oxygène jusqu'à moins de 1% et l'accroissement des concentrations de CO₂ empêchent l'élaboration des mycotoxines (Keller et al., 1997 ; Cairns-Fuller et al., 2005).

I.2.3.1.4. Température :

La température optimale pour l'élaboration des mycotoxines est généralement proche de la température optimale de croissance, mais, le plus souvent, légèrement inférieure.

I.2.3.1.5. Composition du substrat :

La composition qualitative et quantitative des substances nutritives (surtout les glucides, principale source de carbone chez les moisissures) peut influencer la production des mycotoxines.

I.2.3.2. Les effets des mycotoxines :

Les mycotoxines sont des molécules capables, à de faibles concentrations, d'induire un effet toxique.

Les effets toxiques des mycotoxines sont variés. Certaines toxines sont nocives pour le foie, comme les Aflatoxines, quand d'autres sont immunotoxiques, hématotoxiques, néphrotoxiques ou encore neurotoxiques. D'autres se révèlent être dermo-nécrosantes (Reboux, 2006).

Parmi la centaine de mycotoxines identifiées à l'heure actuelle, une trentaine sont véritablement importantes pour la santé humaine et animale à cause de leur fréquence ou de leur toxicité (Bennett et Klich, 2003). Les toxines majeures (Tableau 06) sont produites par des souches fongiques appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (AFSSA, 2006).

Tableau 06: Différents types de mycotoxines

| Mycotoxines | Principales moisissures productrices |
|---|--|
| <i>Mycotoxines réglementées ou en cours de réglementation</i> | |
| Aflatoxines B1, B2, G1, G2 | <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i> |
| Ochratoxine A | <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> |
| Patuline | <i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> <i>Byssoschlamys nivea</i> |
| Fumonisines B1, B2, B3 | <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> |
| Trichothécènes (DON) | <i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i> |
| Zéaralène | <i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i> . |
| Alcaloïdes d'ergot (dit ergot du seigle) | <i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i> |
| <i>Autres mycotoxines</i> | |
| Citrinine | <i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. carneus</i> , <i>A. niveus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i> |
| Toxines d' <i>Alternaria</i> (alternariol, alternariol méthyl éther...) | <i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria solani</i> |
| Acide cyclopiazonique | <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamarii</i> <i>Penicillium</i> dont <i>P. camemberti</i> |
| Stérigmatocystine | <i>Aspergillus nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. flavus</i> |
| Sporidesmines | <i>Pithomyces chartarum</i> |
| Stachybotryotoxines | <i>Strachybotrys chartarum</i> |
| Toxines d'endophytes (ergovaline, lolitrème B) | <i>Neotyphodium coenophialum</i> , <i>N. lolii</i> |
| Phomopsines | <i>Phomopsis leptostromiformis</i> |
| Toxines trémorgènes | <i>Penicillium roquefortii</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. puberrelum</i> <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i> |

II. Partie expérimentale

II.1. Matériels et méthode

Lieu des analyses :

En totalité, ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire pédagogique de microbiologie (Université Belhadj Bouchaïb Ain-Temouchent).

II.1.Matériel et méthodes

II.1.1.Echantillonnage

Les prélèvements des échantillons de la farine ont été effectués auprès de foyers de différentes régions (Ain Témouchent, El Malah, Chaabat El Lahm) de la wilaya de Ain Témouchent (Figure 07). Un total de 54 échantillons de farine, répartie sur 7 marques, a été prélevé aseptiquement (Tableau 07). Elle consiste à prélever 50g de la farine dans des pots stériles à l'aide d'une cuillère stérile. A chaque échantillon, il est attribué un code désignant son origine et son degré de dilution.

Ensuite, les prélèvements ont été transférés au laboratoire dans les conditions de son utilisation.

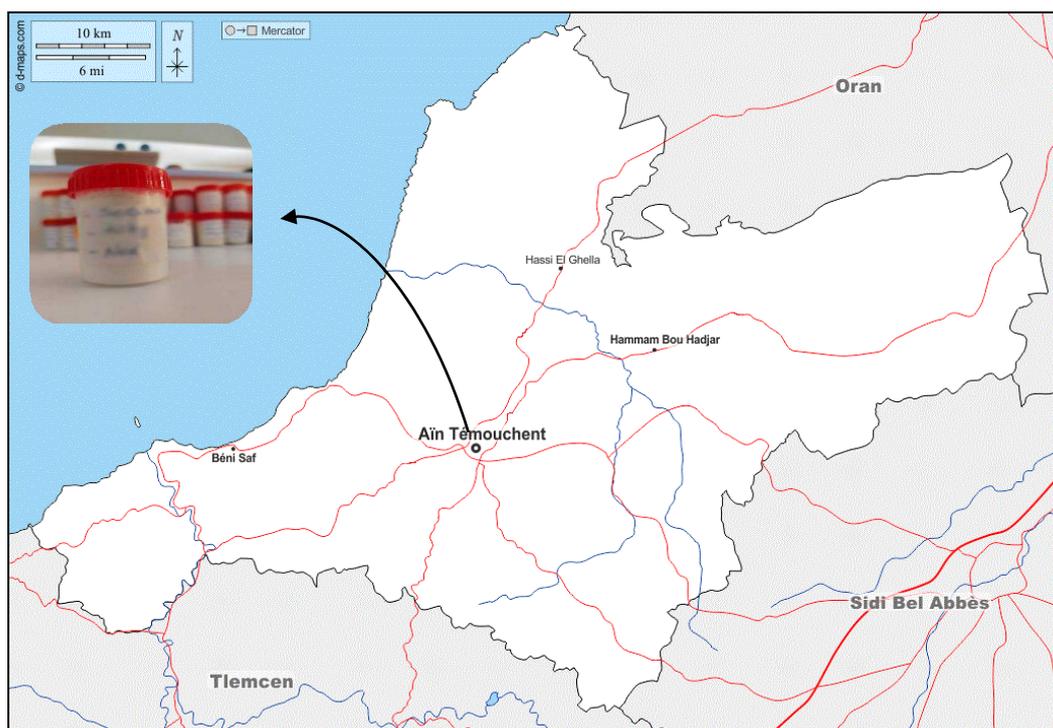


Figure 08 : Région de prélèvement de la farine (maps le 14/05/21).

Les échantillons collectés sont portés dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Information relative aux échantillons collectés

| Marques de la farine | Nombre d'échantillon | Région de prélèvement |
|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Marque A | 17 | Chaabat El Lahm, El Malah |
| Marque B | 1 | Ain Témouchent |
| Marque C | 20 | Chaabat El Lahm |
| Marque D | 12 | El Malah |
| Marque E | 1 | Ain Témouchent |
| Marque F | 1 | Ain Témouchent |
| Marque G | 2 | Ain Témouchent, El Malah |

II.1.2. Analyses physico-chimiques

Les paramètres physicochimiques de la farine a été recherche suivant la procédure de JORAD N°52. Parmi les principaux paramètres limitant la croissance de moisissures sont le pH et la teneur en eau.

II.1.2.1. Mesure de pH :

Afin d'estimer l'acidité ou l'alcalinité des échantillons de farine, une masse de 10g d'échantillon de farine, de chaque échantillon, a été additionné à 90mL d'eau distillée. Après 10 minutes d'agitation continue, pH était mesuré à l'aide de pH mètre.

II.1.2.2. Détermination de l'humidité :

La détermination de l'humidité consiste à effectuer un séchage d'une prise d'essai de chaque échantillon à une température de 130°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Ensuite, l'humidité était calculée selon la formule suivante :

$$H\% = ((m_0 - m_1) / m_0) \times 100$$

m_0 : la masse en gramme de la prise d'essai ;

m_1 : la masse en gramme de la prise d'essai après séchage.

II.1.3. Analyses mycologiques :

La recherche et dénombrement des moisissures ont été effectué selon la norme algérienne de Journal officiel n°52/2015. Elle consiste à :

II.1.3.1. Préparation des échantillons

Une masse de 1g de chaque échantillon a été diluée dans 9mL d'eau distillée stérile avec 20% de glycérol. Glycérol a été ajouté pour but de réduire le choc osmotique des moisissures xérophile et des levures Osmophiles. Ensuite, une série de dilution a été préparée. Entre chaque dilution, homogénéisation au vortex, on réalise la 2^{ème} dilution 10⁻².

II.1.3.2. Dénombrement des colonies

Afin de dénombrer les moisissures, un ensemencement en masse est réalisé. Un volume de 1mL de chaque dilution est déposé au fond d'une boîte de Pétri puis coulé par milieu Dichloran gélosé additionné d'une antibiotique tétracycline pour empêcher le développement des bactéries. Ensuite, les boîtes sont ensuite incubées cinq jours à 25°C.

Après l'incubation, on sélectionne les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 10 et 150. Le nombre de colonie est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{v(n_1 + 0,1n_2)d}$$

Où :

$\Sigma\alpha$: Somme des colonies de moisissures sur l'ensemble des boîtes retenues ;(dont le nombre compris entre 10-150 colonies)

V: Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

n_1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

n_2 : Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (la suspension mère est une dilution).

II.1.3.3. Identification des isolats fongiques :

L'identification de genre fongique a été basée sur l'observation microscopique. L'observation macroscopique s'est avéré difficile à cause de variabilité des aspects macroscopique de colonies.

II.1.3.4.Observation macroscopique

Le relief des colonies : il peut être plat ou plissé avec une consistance de colonies variable (molle, élastique ou dure).

La taille des colonies : elles peuvent être petites ou étendues, envahissantes.

La couleur des colonies est un critère majeur d'identification ; elles ont fréquemment une couleur blanche, crème, jaune, orange, rouge, violette ou bleue, verte, brune allant jusqu'au noir.

II.1.3.5.Identification microscopiques :

L'identification microscopique est basée sur les caractéristiques de thalle et des spores. La procédure consiste à prélever un fragment de la colonie à l'aide d'une anse de platine puis le déposer sur une lame dans une goutte de lactophénol bleu de coton ensuite recouvrir avec une lamelle.

II.1.3.6.Purification des moisissures :

Les moisissures développées sur le premier milieu (Gélose dichlorant) étaient repiquées individuellement sur le milieu PDA. Les cultures sont ensuite maintenues pendant cinq (5) jours à 25°C.

II.1.3.7.Étude de la production des mycotoxines

II.1.3.7.1.Détection visuelle de la production de mycotoxine

Les souches fongiques sont ensemencés par un point central (une souche par boîte) à la surface d'une boîte de Pétri contenant 20mL de milieu CEA et le desoxycholate de sodium. Les boîtes sont ensuite incubées à 25°C pendant 3-7 jours.

La détection de la production de mycotoxines sur le milieu **CEA** était réalisée par la projection des boîtes sous lumière UV, donnant une fluorescence visible.

II.1.3.7.2.Détection de mycotoxine par la CCM

Des flacons contenant 50mL de bouillon **YES** étaient préparés puis ensemencés par un fragment de colonie de moisissures identifié comme *Aspergillus* et *Pencillium*. Ces derniers sont connus par leur pouvoir mycotoxinogène. Enfin, les flacons sont incubés pendant 14 jours à 25°C.

Après incubation, la culture sur milieu YES était filtré à travers du papier filtre. Le filtrat obtenu est additionné à 100mL de chloroforme. Le mélange est agité pendant 10min puis décanté en utilisant une ampoule à décantation.

Cette opération était répétée en ajoutant successivement 50mL et 30mL de chloroforme à la phase aqueuse récupérée. A l'aide d'un rotavapeur, la phase chloroformique est concentrée par évaporation sous vide.

Les extraits précédemment obtenus sont analysés par chromatographie sur couche mince, ce qui permet une séparation efficace des mycotoxines.

- En utilisant une plaque de gel silice on dépose un spot de **20 µL** et de **40µL** de chaque extrait sur la même ligne droite (ligne de dépôt).
- On dépose ensuite la plaque verticalement dans une cuve chromatographique contenant un mélange de solvants (**toluène, acétate d'éthyle et l'acide formique**) de volume **5ml, 4ml, 1ml** respectivement.
- Le solvant migre jusqu'à ce qu'il atteigne la ligne limite du bord supérieur. La plaque est de suite retirée de la cuve et séchée pour l'observer sous UV.

II.1.3.8. Caractérisation de la croissance de isolats de moisissures

Les boites de Pétri contenant le milieu PDA ont étéensemencées par repiquage central de chaque isolat. Après l'inoculation, les cultures ont été examinées chaque jour pour une croissance visible. Dès le début de la croissance, les diamètres des colonies ont été mesurés avec une règle et une loupe binoculaire. La croissance fongique a été observée quotidiennement pendant 15 jours.

Une approche de modélisation typique en deux étapes, comprenant une modélisation primaire en fonction de la température, a été utilisée pour estimer les paramètres de croissance de chaque isolat. L'estimation du taux de croissance des champignons ($\mu_{T^{\circ}C}$) a été obtenue en traçant les rayons des colonies en fonction du temps. Pour chaque cinétique, une régression non linéaire a été appliquée pour estimer le taux de croissance maximal ($\mu_{T^{\circ}C \text{ max}}$, mm/jour), la latence avant croissance (k) et le rayon maximal de la colonie (R_{max} , mm) en ajustant les données expérimentales au modèle primaire de Baranyi et Roberts (6) (équations 1 et 2) :

$$\gamma = \gamma_0 + \mu_{\text{max}} A - \ln \left(1 + \frac{[\exp(\mu_{\text{max}} A) - 1]}{\exp(\gamma_{\text{max}} - \gamma_0)} \right)$$

$$A = t + \left(\frac{1}{\mu_{\text{max}}} \right) \ln [\exp(-\mu_{\text{max}} t) + \exp(-\mu_{\text{max}} \lambda) - \exp(-\mu_{\text{max}} t - \mu_{\text{max}} \lambda)]$$

où R_0 est le rayon de la colonie au temps 0, R_{\max} est le rayon maximal de la colonie dans les boîtes de Pétri, A est une variable intégrale allant de 0 à t en fonction de la courbure du tracé, k (jours) est le temps de latence, et t (jours) est le temps.

II. 2. Résultats et discussion

II.2.Résultats et discussions :

II.2.1.Les analyses physico-chimiques :

II.2.1.1. Mesures de pH :

Les résultats de pH des différents échantillons sont présentés dans le tableau (08). Ils montrent que les valeurs de pH des prélèvements analysés sont très proches et légèrement acides (6,42 à 6,62). Le pH révèle est conforme au pH recommandé par la législation algérienne Ces valeurs sont similaires à celles reportées par la norme algérienne dans la farine de blé et de maïs respectivement.

Signalons à cet égard que les moisissures se développent normalement dans les substrats dont le pH est compris entre 4 et 8 et ont une croissance optimale à des pH entre 5 et 6 (Bourgeois et *al.*, 1989).

II.2.1.2. Taux d'humidité :

Il ressort que les teneurs en eau des différentes farines analysés varient entre 1,20% et 17,20% (Tableau 08). La teneur la plus élevée (17,20%) est observée chez la marque D tandis que la plus faible (1,20%) est enregistrée chez la marque B (Tableau 08).

Les résultats obtenus, à l'exception de l'échantillon de la marque D, affirment ceux rapportés par (Fiellet, 2000) qui fixent des intervalles moins de 16% pour la farine.

L'humidité de la farine analysée varie entre 1,20% et 17,20 % permet une bonne conservation et stockage de farine.

La variabilité des teneurs en eau peut être dues aux effets de conditions de manipulation comme l'évaporation excessive de l'eau lors de la mouture, un mouillage non homogène ou une insuffisante durée de repos.

Tableau 08: Valeurs de pH et d'humidité des différentes marques de farine.

| Marque | pH | Humidité |
|--------|------|----------|
| A | 6,6 | 7,80% |
| B | 6,51 | 1,20% |
| C | 6,42 | 5,80% |
| D | 6,43 | 17,20% |
| E | 6,54 | 3,70% |
| F | 6,48 | 13% |
| G | 6,62 | 9,10% |

II.2.2. Les analyses fongiques :

II.2.2.1. Identification des souches fongiques :

L'identification des genres fongiques est réalisée selon les clefs de détermination de (Botton et *al.*, 1990). Le tableau 10 montre les résultats des observations obtenus.

II.2.2.1.1. Genre *Aspergillus spp* :

- **Identification macroscopique :**

Après 5 jours d'incubation les colonies apparues ont les caractéristiques suivantes : colonies blanches puis jaunes et enfin granuleuses noires avec une croissance rapide (2-3 jours).

- **Identification microscopique :**

Tête unisériée en colonies avec des conidiophores lisses et courts qui s'élargissent au sommet en vésicules hémisphériques. Les conidies sont globuleuses, rondes échaalées.

II.2.2.1.2. Genre *Penicillium sp* :

- **Identification macroscopique :**

Les colonies sont duveteuses, poudreuses de couleur variables le plus souvent vert, vert bleu, vert gris.

- **Identification microscopique :**

- L'observation a permis la distinction d'organisation en pinceau.
- Le thalle est formé de filaments mycéliens septés, il porte des conidiospores isolés, lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se termine par un pénicille.
- Les phialides des pénicilles sont directement branchés à l'extrémité des conidiospores avec des conidies déposées en longue chaîne globuleuse, cylindrique, lisse ou rugueuse

II.2.2.1.3. Genre *Mucor sp* :

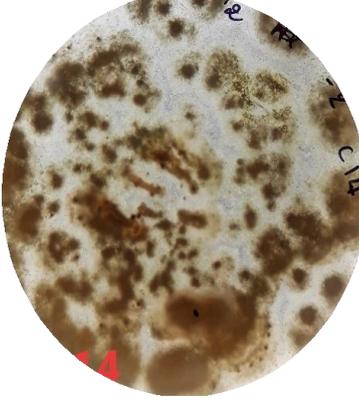
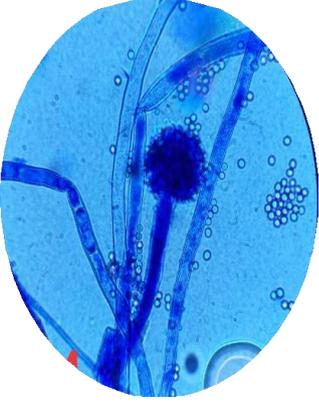
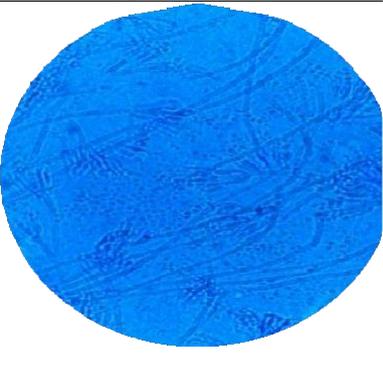
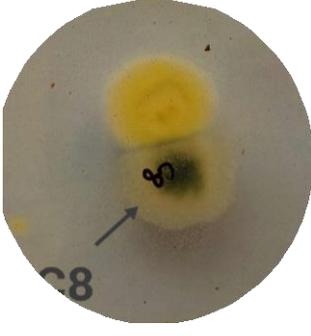
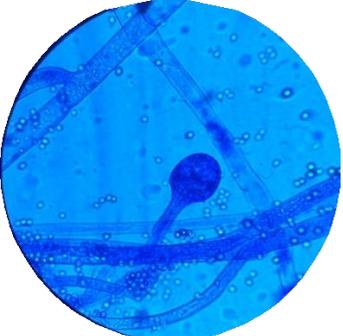
- **Identification macroscopique :**

Les colonies ont une texture floconneuse, les varient du blanc au jaune, marron ou bien gris.

- **Identification microscopique :**

Thalle siphonné (non ou peu cloisonné), les spores dans un sporange. Le sporocytophore unique (pas de bouquet) avec une partie terminale qui se dilate en columelle (entonnoir).

Tableau 09 : Observation macroscopique et microscopique des colonies

| | Aspect macroscopique | | Aspect microscopique |
|-----------------------|---|--|---|
| | Surface | Revers | Bleu de coton ×100 |
| <i>Aspergillus sp</i> |  |  |  |
| | Pousse rapide sur le milieu dichloran, leur croissance est moyenne. La colonie est d'une couleur blanche-vert, le revers est marron . | | Tête bisériée, conidiophore lisse, les conidies sont ronds et globuleux. |
| <i>Penicillium sp</i> |  |  |  |
| | Pousse doucement sur le milieu dichloran, leur croissance est moyenne avec une colonie poudreuse de couleur verte, le revers est blanc. | | Mycélium cloisonné, les conioophores isolés terminés par un pénicille. Pénicille constitué de phialides branchés directement à l'extrémité du conidiophore. |
| <i>Mucor sp</i> |  |  |  |
| | Les colonies ont une texture floconneuse, avec une couleur crème puis grise. | | Thalle est siphonné, les spores sont à l'intérieur d'un sporange. La sporocytophore unique. |

II.2.2.2. La répartition des niveaux de contamination de farine :

Les analyses mycologiques réalisées sur les différents échantillons de farine ont révélé la présence des levures et des moisissures avec une dominance de cette dernière. Sur l'ensemble des résultats de la méthode de dilution sur le milieu dichloran, les farines de marque A,B,E,F et G sont tous (100%) contaminés, suivie par la farine de marque C avec de taux moyennement élevé (35%) et pour la farine de marque D se classe en 3^{ème} rang d'une contamination la plus faible 0,82% comme il est mentionné dans(la figure 09).

La différence des taux de contamination peut être due aux plusieurs facteurs :

- Les conditions d'hygiène insuffisantes qui pourraient constituées l'une des voies de contamination.
- La formation des résidus de diverses origines dans les machines utilisées durant le processus de fabrication, stockage et la distribution du produit.

Les taux élevés de contamination pourraient être la cause d'une altération à court terme de ces farines et conduire à des intoxications alimentaires suite à une formation de mycotoxines (Ntuli et *al.*, 2013).

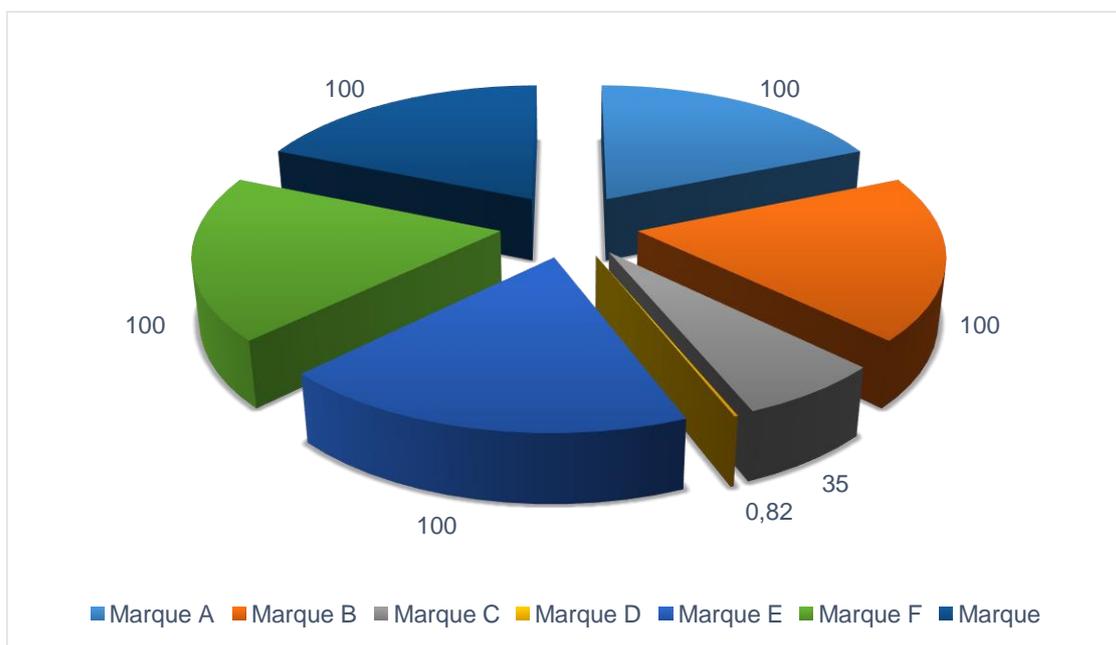


Figure 09 : Répartition des niveaux de contamination de farine.

II.2.2.3. Prévalence de contamination en fonction de genres :

Les résultats ont permis de mettre en évidence 3 différents genres de moisissures sur l'ensemble des échantillons analysés : *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. et *Mucor* spp. (Figure 10). Ces résultats sont conformes à celle décrites par Algridas et al. (2006)

Les résultats obtenus confirment le statut de flore de stockage comme décrite par ERIAD. Cependant, les mucors sont une flore intermédiaire (Potus et Suchet, 1989). Elle reflète également la différence dans la densité et/ou la prévalence de ces moisissures dans l'environnement. Labbe et Garcia (2001); Muhammad et al. (2004); Francisca et al. (2007) ont montré également la présence de ces moisissures dans plusieurs produits issus de l'agriculture notamment les céréales.

Quant à la contamination en fonction de la marque, l'*Aspergillus* contamine l'ensemble des marques avec une dominance dans la marque G (100%). Elle moins présente dans la marque F (66%). Par ailleurs, Les *Penicillium* contaminent l'ensemble des marques à l'exception de la marque E et G. cependant, les *Mucor* contaminent seulement les marques A et F. cette variabilité de contamination est du probablement (1) à la qualité de la matière première utilisé durant la fabrication, (2) conditions de stockage de la matière première et (3) manque de respect de paquets d'hygiène et bonne pratique de fabrication. Ces hypothèses sont affirmées par la présence de ces deux genres indicateurs de la qualité de stockage (*Aspergillus* et *Penicillium* ainsi que la flore intermédiaire (*Mucor*).

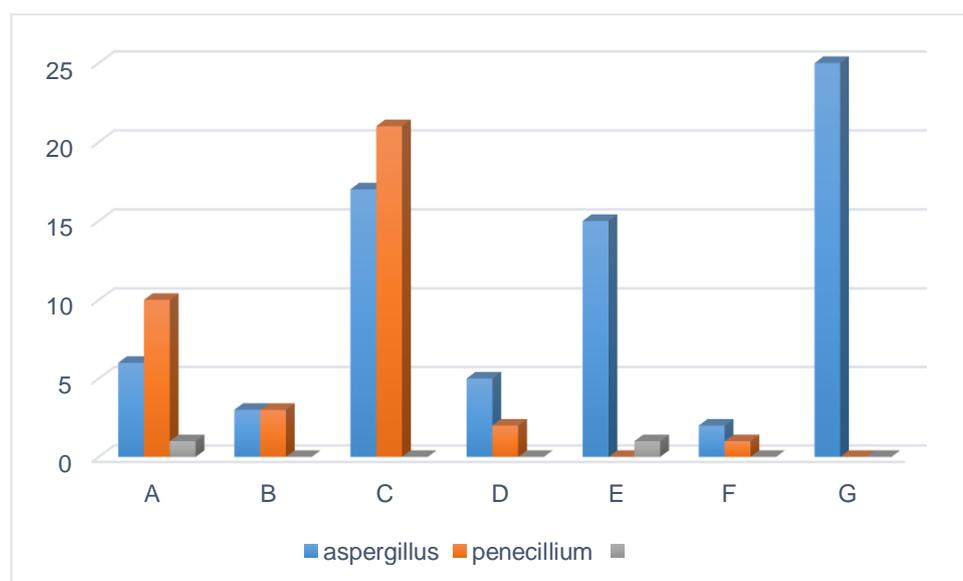


Figure 10 : Répartition des espèces fongiques de la farine.

II.2.2.4. Distribution de la concentration de moisissures

Les *Aspergillus* étaient trouvés à fortes concentrations (65%) dans l'ensemble des échantillons analysés, suivi par les *Penicillium* (33%). Cependant, les *Mucor* sont reportés en faible concentration (1,78%) (Tableau 9).

Tableau 10 : Récapitulatif de contamination fongique et caractéristique de l'échantillon.

| Marque | Nombre des Echantillons | pH | Humidité | Moyenne de contamination | écarte type |
|--------|-------------------------|------|----------|--------------------------|-------------|
| A | 17 | 6.6 | 7.82% | 2,52 | 0,43 |
| B | 1 | 6.51 | 1.20% | 1,78 | |
| C | 20 | 6.42 | 5.80% | 0,55 | 0,71 |
| D | 11 | 6.43 | 17.20% | 0,16 | 0,29 |
| E | 1 | 6.54 | 3.70% | 2,18 | |
| F | 1 | 6.48 | 13% | 1,48 | |
| G | 2 | 6.62 | 9.10% | 1,98 | 0,28 |

II.2.2.5. Révélation mycotoxicologique :

II.2.2.5.1. Révélation des souches productrices de mycotoxines par milieu CEA :

Dans cette approche, nous avons utilisé la méthode décrite par (Lemek et *al.*, 1989) afin de détecter visuellement les souches productrices de mycotoxines isolées de farine, directement sur le milieu CEA. Les colonies d'*Aspergillus* et *Penicillium* sont obtenues après incubation à 25°C pendant 3 à 7 jours sur milieu CEA. (Figure 11).

D'après (figure 11), le résultat est présenté par des colonies moyennes de 10 à 20 de diamètre. C'est la zone où on a essayé de détecter la présence des mycotoxines lors de l'examen visuel sous UV à une longueur d'onde de 365 nm.

L'apparition de la fluorescence autour des colonies d'*Aspergillus* et *Penicillium* cultivées sur milieu CEA après leur examination sous UV et les résultats obtenus par CCM sont des indicateurs positifs pour les souches fongiques productrices des mycotoxines, ce qui est en accord avec les travaux de Lemek et *al.* (1989) (figure 11).

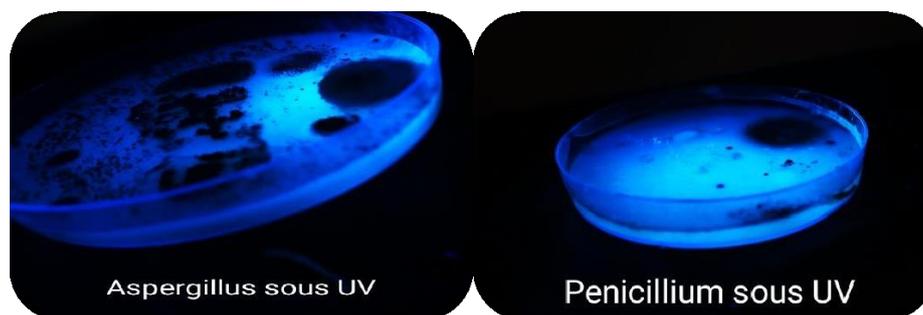


Figure 11 : Détection sous UV des souches productrices de mycotoxines sur milieu CEA.

II.2.2.5.2. Révélation des souches productrices de mycotoxines par CCM :

La séparation chromatographique sur couche mince permet de confirmer le résultat obtenu avec la technique de (Lemek et *al.*, 1989). Les mycotoxines produites par les souches isolées de farine, développent une fluorescence bleu marquée sur la chromatographie (figure 12).

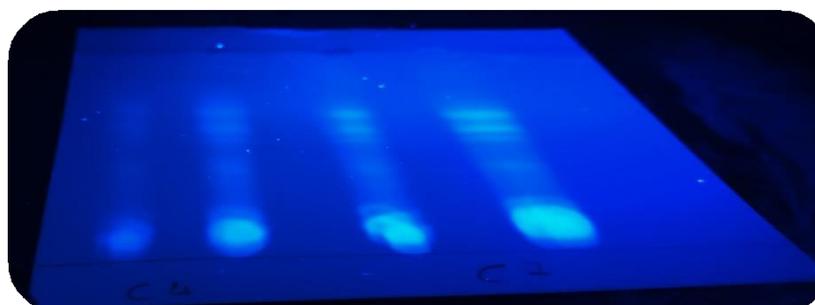


Figure 12 : Détection des souches productrices de mycotoxines par CCM.

Du point de vue mycotoxicologique, les souches d'*Aspergillus* et *Penicillium* sont potentiellement toxigènes (Lemek et *al.*, 1989).

II.2.2.6. Caractérisation de la croissance des moisissures

Les isolats testés montrent des capacités de croissance différentes renseignées par le temps de latence (jour) et taux de croissance $\mu_{T^{\circ}C}$ (jour^{-1}). En effet, les temps de latence et $\mu_{T^{\circ}C}$ s'étalent entre [0 à 2 jours] et [0.09 à 2 jours^{-1}] respectivement. Les résultats montrent que les paramètres de croissance dépendent de la souche. La colonie 11 (C11) qui est du genre *Aspergillus* présente une croissance rapide par rapport aux autres souches.

Cette variabilité est observée également par Baydaa (2017) et Pandy et al. (2018).

Tableau 11 : variabilités des genres isolés

| Code | Genre des isolats |
|------|--------------------|
| C1 | <i>Penicillium</i> |
| C2 | <i>Penicillium</i> |
| C3 | <i>Aspergillus</i> |
| C4 | <i>Penicillium</i> |
| C6 | <i>Penicillium</i> |
| C7 | <i>Aspergillus</i> |
| C8 | <i>Mucor</i> |
| C9 | <i>Penicillium</i> |
| C11 | <i>Aspergillus</i> |
| C10 | <i>Aspergillus</i> |
| C12 | <i>Aspergillus</i> |

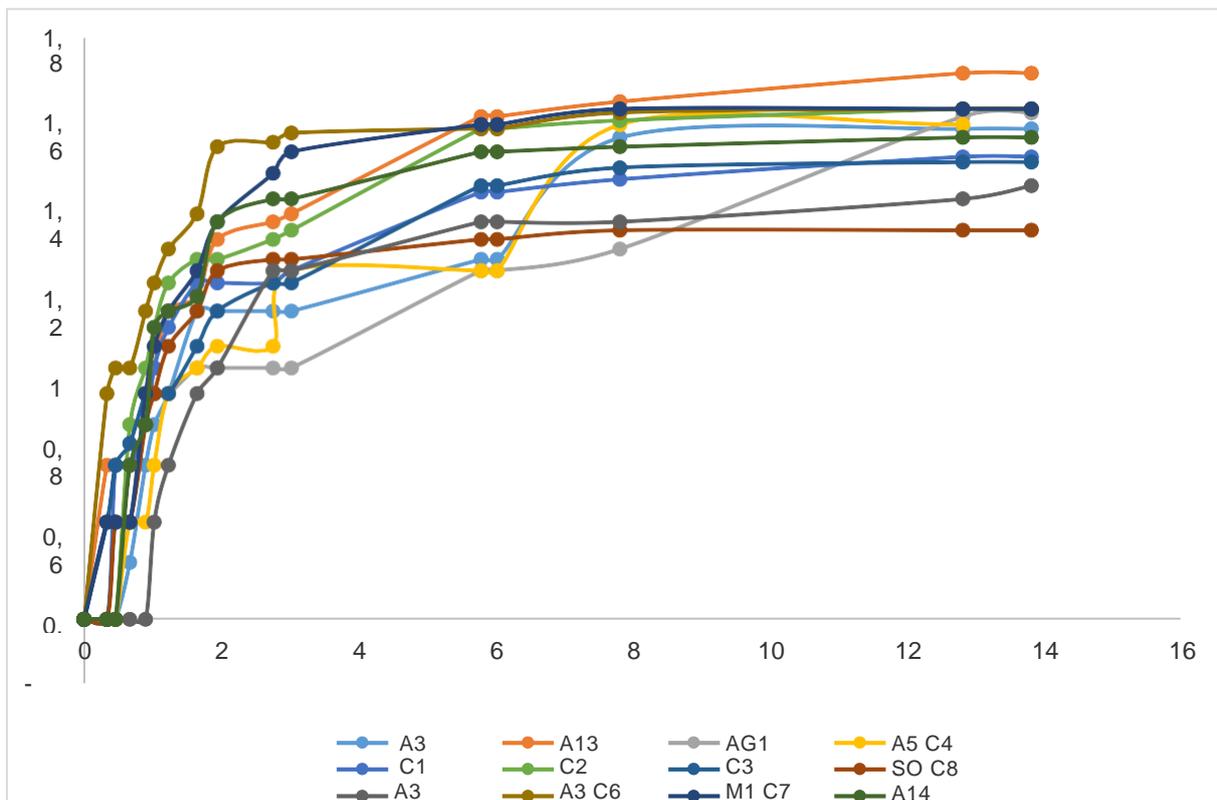


Figure 13: Cinétiques de croissance de moisissures.

Tableau 12 : paramètres de croissances de moisissures

| | Nombre | de | Minimum | maximum | moyenne | écart -type |
|-------------------|-----------|----|---------|---------|---------|-------------|
| | cinétique | | | | | |
| logR0 | | | 0,0067 | 0,1609 | 0,0635 | 0,0339 |
| logRmax | | | 0,4575 | 0,8134 | 0,6357 | 0,0637 |
| lag (λ) | 17 | | 0,0000 | 2,0788 | 0,2786 | 0,4451 |
| μ max | | | 0,0927 | 1,9480 | 0,7830 | 0,2892 |
| SCE | | | 0,0550 | 0,8088 | 0,1709 | 0,0844 |

CONCLUSION

Conclusion

Assurance qualité est actuellement très recherchée pour améliorer la production de farine. Compte tenu l'activité faible de l'eau dans la farine, les moisissures sont le plus susceptible à se développer dans ces conditions. Le développement de certains moisissures peut s'accompagner de la production de mycotoxines. Dans ce contexte, ce travail a été réalisé. En effet, les principaux résultats ont montré la présence de moisissures dans la farine consommée dans la région de Ain Témouchent dont les paramètres physico-chimiques conforme à la réglementation algérienne. Les principaux germes isolés et identifiés appartiennent au 3 genres *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Mucor spp.*. L'étude de pouvoir mycotoxinogène montre que les genres isolés de *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* sont producteur de mycotoxine sur milieu CEA et YES.

La contamination fongique est inévitable surtout avec le changement climatique survenu ces dernières années. Cependant, des recommandations peuvent être proposées pour minimiser cette contamination et la production de mycotoxines:

- Assurer les bonnes pratiques d'hygiène et bonne pratique de fabrication;
- Effectuer les analyses physico-chimiques et mycotoxicologiques de blé tendre et la farine;

Comme perspective, nous proposons de :

- Etendre l'étude sur un grand nombre d'échantillons;
- Compléter l'identification moléculaires des moisissures;
- Modéliser la cinétique de production de mycotoxine durant la croissance de moisissures;
- Estimation du risque liée à la consommation de pain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ACGIH, (1999). Bioaerosols: assessment and control, Janet Macher Editor.
- AFSSA : Saisine n°2006-SA-0215 Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
- Ait Abdelouahab N., (2001). Microbiologie alimentaire. Office des publications.
- Badillet G., De brieve C., Gheho E., (1987). Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, Atlas clinique et biologique. Ed. Varia, Paris.
- Bennett, J.W., and M. Klich. 2003. Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.* 16 : 497-516.
- Boiron P., (1996). Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris. P. 19-79.
- Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., (1990). Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris
- Bouchet P.H., Guignard J.L., Madulo L.G., Regli P., (1989). Mycologie générale et medicale Masson Paris p1- 2- 3- 4- 5
- Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J., (1989). Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. P. 216- 244.
- Cairns-Fuller V., Aldred D., Magan N., (2005). Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain, *Journal of Applied Microbiology* 99, 1215-1221.
- Carlile M.J., Watkinson S.C. (1994). *The Fungi*. (Academic Press eds).
- Cheriet G., (2000). Étude de la galette différent types recettes et mode de préparation. P. 99.
- Codex. Stan (1985). Norme Codex Pour La Farine De Blé. Codex Standard 1521985. 1985, P.
- Davet P., (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. P. 52-57.
- Delgado-Jarana J., Rincon A.M., Benitez T., (2002). Aspartyl protease from *Trichoderma harzianum* CECT 2413: cloning and characterization. *Microbiology*. 148, 1305-1315.
- Dix, N.J. Webster, J., (1995). *Fungal Ecology*, Chapman & Hall, London. ISBN 0-412- 22960-9G.L. Hennebert . Fr. Balon La Mèrulle des maisons. Louvain-La-Neuve, ARTEL, Edition CUCO, 19%.

- Doumandji A., Doumandji S., Doumandji M.B., (2003). Technologie de transformation des blés et problème dus aux insectes en stock , Ed :Office des publication universitaire, P.129.
- ERIAD, Le manuel de contrôle de qualité, document des industries alimentaires céréalières et dérivée.
- FAO. Sadek Belhoucine. Le midilibre 10-08-2010.
- Feillet (2000). Le grain de blé, composition et utilisation, Editions QUAE, P,308.
- Godon B., (1982). Valeur meunière et boulangère des blés tendres et de leurs farines conservation et stockage des grains et produit dérivé céréales, oléagineuse protéagineux aliments pour animaux, p. 1009 –1028.
- Hollmann M., Razzazi-Fazeli E., Grajewski J., Twaruzek M., Sulyok M., Böhm J., (2008). Detection of 3-nitropropionic acid and cytotoxicity in *Mucor circinelloides*. Mycotoxin Research 24, 140150.
- Jennings D.H., Lysek G., (1996). Fungal biology: understanding the fungal lifestyle. (Bios Scientific publisherseds).
- Journal Officiel., (2000), Journal Officiel N°36,1991 : Décret exécutif n°91-572 du 31 -12-1991 relatif à la farine de panification et au pain.
- Keller S.E., Sullivan T.M., Chirtel S. (1997). Factors affecting the growth for *Fusarium* Kiffer et Morelet, (1997). Les deuteromycètes : classification et clés d'identification générique.
- Lahbab A., Jib A., Yahya M., (2004). Guide pratique de la fortification de la farine.
- Leclerc H., Izard D., Husson MO., Wattré P., Jakubczak E. (1983). Microbiologie générale. p. 26-27
- LEMEK, P.A., DAVIS, N.D., CREECHGREGORY, W., (1989). Direct visual Detection of Aflatoxin Synthesis by Minicolonies of *Aspergillus* Species, applied and environmental microbiology.
- Leyral, G., Vierling, E., (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire, 4^{ème} éd,-Rueil –Malmaison : Doin ; Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, (Biosciences et techniques : sciences des aliments).
- Locquin M., (1984). Mycologie générale et structurale. Ed. Masson. p551.
- Morin O., (1994). *Aspergillus* et aspergilloses: biologie, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses 8-600-A-10

- Morin O., (2003). *Aspergillus* et aspergillose : biologie. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses. 8-600-A-10, 1- 7
- Ntuli V., Mekibib S.B., Molebatsi N., Makotoko M., Chatanga P., Asita O.A., (2013). Microbial and Physicochemical Characterization of Maize and Wheat Flour from a Milling Company, Lesotho. *Int. Journal of Food Safety*, 15, 11-19.
- Pfohl-Leszkowicz A., (2001). Définition et origines des mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed. Tec & Doc, 3-14.
- Pitt J.I., Basilico J.C., Abaraca M.L., Lopez C., (2000). Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology*, 38, 41-46.
- Poisson D.M., Da Silva N.J., Rousseau D., Esteve E. (2007). *Tinea corporis gladiatorum*: Specificity and epidemiology. *Journal De Mycologie Medicale*. 17, 177-82.
- Reboux G., (2006). Mycotoxins: health effects and relationship to other organic compounds. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 46, 208-212.
- Riba A., (2008). Recherche sur les champignons producteurs d'aflatoxine et d'ochatoxines A dans la filière blé en Algérie, thèse de doctorat.
- Sicard M., Lamoureux Y., (2006). Connaître, cueillir et cuisiner les champignons sauvages du Québec. Ed. Fids. Québec.365 p.
- Sidhu G.S., (2002). Mycotoxin genetics and genes clusters. *European Journal of Plant Pathology* 108, 705-711.
- Tantaoui, (1997). Production d'aflatoxine par des *Aspergillus* du Maroc. *Homme. Terre et Eaux* 6(24), 79-86.
- Tortora J., Funk B.F., Case Ch.I. 2003. Introduction à la microbiologie, (edn) Universitaires, 52 pages.
- Urbanek H., Yirdaw G., (1984). Hydrolytic ability of acid protease of *Fusarium culmorum* and its possible role in phytopathogenesis. *Acta Microbiol. Pol.* 33, 131.
- Voigt et al., 2016; Karimi and Zamani, 2013; Ferreira et al., 2013.
- Voigt K., Wostemeyer J. (2001). Phylogeny and origin of 82 zygomycetes from all 54 genera of the Mucorales and Mortierellales based on combined analysis of actin and translation elongation factor EF-1alpha genes. *Gene*. 270, 113-120.
- Walther, (2013). Taxonomy and epidemiology of *Mucor irregularis*, agent of chronic cutaneous mucormycosis *proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. *Industrial Microbiology, Biotechnology*. 19, 305-309..

GLOSSAIRE

Mycélium : Appareil végétatif des champignons

Hyphes : Des filaments constitutifs de mycélium des champignons.

Coenocytique : Tissus constitué d'un cytoplasme multinucléaire de certains champignons.

Conidiophore : partie de mycélium qui porte des conidies en assumant la reproduction asexuée des champignons.

Sporocystophores : filaments portant le sporocyste chez les Zygomycètes.

Gamétocystes : est une cellule germinale eucaryote qui se divise par mitose en d'autres gamétocytes ou par méiose en gamétides pendant la gamétogenèse.

ANNEXES

Milieux de culture utilisés :

Tous les milieux de culture sont stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 min.

- Gélose dichloran à 18% de glycérol.

| | |
|---|--------|
| Digestat enzymatique de caséine | 5g |
| D-Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆) | 10g |
| Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄) | 1g |
| Sulfate de magnésium (MgSO ₄ H ₂ O) | 0.5g |
| Dichloran (2,6-dichloro-4-nitro-aniline) | 0.002g |
| Glycérol anhydre | 220g |
| Gélose | 12g |
| Chloramphénicol | 0.1g |
| Eau distillée ou déionisée | 1000ml |

- Gélose PDA (Potato Dextrose Agar) (utilisé pour l'isolement)

| | |
|--------------------------------|--------|
| Pomme de terre | 200g |
| Dextrose (Glucose +saccharose) | 10g |
| Agar | 15g |
| Eau distillée | 1000ml |

- Bouillon YESA (Yeast Extract Sucrose Agar)

| | |
|---------------------------------|--------|
| Yeast Extract | 4g |
| Sucrose | 20g |
| KH ₂ PO ₄ | 1g |
| MgSO ₄ | 0.5g |
| Gélose | 15g |
| Eau distillée | 1000ml |

- Gélose CEA (Coconut Extract Agar) (favorable pour la production des mycotoxines).

| | |
|-------------------------|--------|
| Noix de coco déchiqueté | 100g |
| Eau distillée chaude | 300ml |
| Agar | 20g |
| Eau distillée | 1000ml |

Résumé :

Les moisissures sont des contaminants fréquents de nombreux substrats végétaux . Leur présence peut améliorer les qualités organoleptiques du produit ou, au contraire, l'altérer et conduire à l'accumulation de métabolites secondaires toxiques : les mycotoxines.

L'objectif de ce travail est l'isolement, la purification et l'identification des moisissures de farine de blé tendre. Un total de 54 échantillons a été collecté au niveau des foyers de la région d'Ain Témouchent pour être étudié. Des analyses physico-chimiques ont été effectuées. Les résultats obtenus montrent que la majorité des farines étudiées présentent des caractéristiques très proches concernant les tests physicochimiques : le pH des échantillons est légèrement acide ,alors que le taux d'humidité soit plus au moins élevé).

L'étude de la mycoflore des farines analysés a montré que le taux de contamination est élevé. Dix-sept (17) isolats fongiques ont été obtenus et identifiés par étude macroscopique et microscopique , ils appartiennent à 3 genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*. L'analyse des substrats des farine de blé tendre par CCM a révélé la production de mycotoxines. En plus ces isolats ont montré une capacité de croissance qui peuvent accompagné de la production de mycotoxine.

Mots clés : Farine de blé tendre , moisissures , mycotoxines, *Aspergillus* , *Penicillium* , CCM.

Abstract:

Molds are frequent contaminants of many plant substrates. Their presence can improve the organoleptic qualities of the product or, on the contrary, alter it and lead to the accumulation of toxic secondary metabolites: the mycotoxins. The objective of this work is the isolation, purification and identification of moulds from soft wheat flour. A total of 54 samples were collected from the outbreaks in the region of Ain Témouchent to be studied. Physico-chemical analyses were performed. The results obtained show that the majority of the flours studied have very similar characteristics concerning the physicochemical tests: the pH of the samples is slightly acidic, while the moisture content is more or less high). The study of the mycoflora of the analyzed flours showed that the contamination rate is high. Seventeen (17) fungal isolates were obtained and identified by macroscopic and microscopic study, they belong to 3 genera: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*. The analysis of the substrates of soft wheat flour by TLC revealed the production of mycotoxins. Indeed, this isolates showed a ability to grow that could produce a mycotoxins.

Key words : Soft wheat flour , molds , mycotoxins , *Aspergillus* , *Penicillium* , TLC.

ملخص:

العفن هو ملوث شائع في العديد من المفاصل النباتية. وقد يؤدي وجودها إلى تحسين الصفات العضوية للمنتج أو على العكس من ذلك يؤدي إلى تغييره و تراكم الأيضات الثانوية السامة (الميكوتوكسينات) الهدف من هذا العمل هو عزل وتنقية وتحديد فطريات دقيق القمح اللين لقد تم جمع ما مجموعه 54 عينة من الأسر في منطقة عين تموشنت للدراسة.

تم إجراء التحليلات الفيزيائية والكيميائية، وقد أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن غالبية دقيق المدروس له خصائص متشابهة جداً فيما يتعلق بالاختبارات الفيزيائية والكيميائية: درجة الحموضة في العينات حمضية قليلاً ، بينما تكون الرطوبة مرتفعة إلى حد ما). دراسة فطريات دقيق التي تم تحليلها أظهرت أن معدل التلوث مرتفع. تم الحصول على سبعة عشر (17) عذلة فطرية وتم التعرف عليها من خلال الدراسة المجهرية والميكروسكوبية ، وهي تنتمي لثلاثة أجناس: الرشاشيات ، البنسليوم ، المخاط. كشف تحليل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لركائز دقيق القمح اللين عن إنتاج السموم الفطرية.

الكلمات المفتاحية

دقيق القمح اللين ، الفطريات ، السموم الفطرية ، الرشاشيات ، البنسليوم .