

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République algérienne démocratique et populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
بلحاج بوشعيب جامعة عين تموشنت  
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 tomate en  
conservé commercialisé dans la région d'Ain Temouchent**

**Présenté Par :**

- 1) Melle. ACHROUF Nadjia
- 2) Melle. BOUDELLAL Wahiba
- 3) Melle. BELHADRI Naima

**Devant le jury composé de :**

Dr. CHERIF Nadjib	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. CHIBANI Hiba	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent )	Examinateur
Dr. ZIANE Mohammaed	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent )	Encadrant

*Année Universitaire 2020/2021*

## ***Remerciements***

*Avant tout, nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant qui nous a tracé le chemin de nos vies et accordé la volonté et de nous avoir donné la force, le courage et la persistance durant nos longues années d'études et surtout de nous avoir permis de finaliser ce mémoire.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre encadreur Mr. ZIANE Mohammed, Maître de conférences A, au département de SNV, Université de Ain Témouchent, pour nous avoir encadré et dirigé ce travail ainsi que pour sa disponibilité, ses conseils et pour son soutien et sa patience.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury. Merci au M. CHERIF Nadjib, Maître de conférences B, Université de Ain Témouchent d'avoir fait l'honneur de présidé le jury et Mlle CHIBANI HB, Maître de conférences B, Université de Ain Témouchent, pour avoir accepté d'examiné et apporter leur avis sur notre étude.*

*Nous tenons aussi à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants du département de SNV (Université d'Ain Témouchent) et à tous les ingénieurs de laboratoire de Microbiologie. Et un remerciement spécial aux membres de nos familles qui nous ont toujours aidé, soutenue et encouragé, surtout dans les moments difficiles : « Recevez ici nos remerciements et gratitudes infinis ».*

*Enfin, nous souhaitons adresser nos remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et soutien.*

*NAIMA, WAHIBA, NADJIA*

## *Dédicace*

*Je dédie cet événement marquant de ma vie à :*

*A mon très cher père : BELHADRI Said*

*Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, Je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa.*

*A ma très chère mère : BELKNADIL Mokhtaria*

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études.*

*En ce jour mémorable, pour moi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Je t'aime Maman.*

*J'implore le tout puissant vous donner, mes parents, la santé, et longue vie plein de bonheur.*

*A mon frère Yassine.*

*A mes meilleures amies Wahiba, Nadjia. Merci pour les inoubliables moments partagés dans la vie.*

*A tous mes collègues du travail pour vos encouragements Dr. KHENAFOU, Mme AMARI,  
Mme HASSANI...*

*A tous les membres des familles : BELHADRI et BELKNADIL ; et à tous mes proches.*

***BELHADRI Naima***

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire :*

*A ma mère,*

*Ta présence à mes côtés m'a toujours donné l'impression d'être proche de toute la famille. Sans Toi ma vie ne serait que simple. Je voudrais t'exprimer à travers ces quelques lignes tout l'amour et toute l'affection que j'ai pour toi. Merci pour votre amour inestimable, votre sacrifice, votre confiance et votre soutien et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.*

*A mon très cher père "Belkacem",*

*Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleux, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi Papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité, Je voudrais te remercier ta générosité ta compréhension, ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours, Aucune dédicace ne saurait exprimer L'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime mes parents et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.*

*A mes sœurs Noura, fauzia et Souâd et mes frères Ahmed, Abderrafia et Samir pour leur tendresse, leur complicité et leur présence, Je ne peux manquer d'exprimer mes remerciements à mon frère de cœur "GADRA Senouci" pour son soutien moral, ses encouragements et surtout sa grande patience, je te remercie d'avoir toujours été à mes côtés.*

*A mes sœurs de cœur (Naima et Nadjia) je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter, en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous souhaite à vous une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A tous les membres des familles BOUDELAL et DAHRI et tous ceux qui j'aime.*

**BOUDELAL Wahiba**

## *Dédicace*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père **KHELIFA**.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ;  
maman que j'adore **AGGOUN Aldjia**.*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est grâce à vous **MES CHERS PARENTS** que je le dois, je vous aime trop.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à mon frère **Toufik** et toutes mes sœurs **Dalila, Kahina, Malika, Salha, Hasni et Zahia**, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.*

*A tous mes **cousins**, et **cousines***

*A tous mes **tantes** et **oncles***

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, tous mes enseignants, collègues d'étude, et sœurs de cœur, vous **Naima et Wahiba**.*

*J'adresse une spéciale dédicace à une personne que j'aime trop, ma chère amie et sœur **Zineb TALEB**.*

***Nadjia ACHROUF***

# Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

## Partie I

### SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. Généralité sur la tomate en conserve.....	3
I.1.1. Définition de tomate en conserve.....	3
I.1.2. Compositions physico-chimiques de tomate en conserve.....	3
I.1.2.1. Matière première.....	3
I.1.2.2. Ingrédients.....	3
I.1.2.3.Eau de préparation.....	3
I.1.3. Caractères variétaux de la tomate destinée à la transformation.....	4
I. 1. 3. 1. Avant transformation.....	4
I. 1. 3. 2. Après transformation.....	5
I. 1. 4. Caractéristiques du concentré de tomate.....	5
I. 1. 4. 1. Caractères organoleptiques.....	5
I. 1. 4. 2. Caractères physico-chimiques.....	5
I. 1. 5. Processus de fabrication du Tomate en conserve.....	6
I. 1. 5.1. Réception et déchargement de la tomate fraîche.....	6
I. 1. 5.2. Stockage des matières premières.....	7
I. 1. 5.3. Nettoyage et Lavage.....	7
I. 1. 5.4. Triage.....	8
I. 1. 5. 5. Broyage et Extraction de jus.....	8
I. 1. 5.6. Préchauffage.....	9
I. 1. 5.7. Tamisage et raffinage.....	10
I. 1. 5.8. Concentration.....	11
I. 1. 5.9. Pasteurisation.....	11
I. 1. 5.10. Remplissage et sertissage.....	12
I. 1. 5.11. Stérilisation.....	13
I. 1. 5.12. Refroidissement.....	13
I. 1. 5.13 Conditionnement et emballage.....	13

I. 1. 5. 14. Stockage.....	14
I. 1. 5. 15. Vérifications finales.....	14
I. 1. 6. Contrôle industrielle au sein de fabrication.....	16
I. 1. 6.1. Contrôle de la matière première.....	16
I. 1. 6.2. Contrôle de fabrication.....	16
I. 1. 6.3. Contrôle sur le produit fini.....	16
I. 1. 6.4. Contrôle de sertissage.....	16
I. 1. 6.5. Contrôle de la stabilité.....	16
I. 1. 7. Valeur nutritionnelle.....	17
I. 1. 8. La recherche des micro-organismes d'altération de tomate en conserve.....	17
I. 1. 9. Modification des caractères organoleptiques.....	18
I.2. Généralité sur les moisissures.....	18
I.2.1.Définition.....	18
I.2. 2. Caractéristiques des moisissures.....	19
I.2. 3. Classification des moisissures.....	19
I.2. 3.1. Oomycètes.....	20
I.2. 3.2. Zygomycètes.....	20
I.2.3.3.Ascomycètes.....	20
I.2. 3.4. Deutéromycètes.....	20
I. 2. 4. Mode de reproduction.....	21
I. 2. 4.1. Reproduction sexuée.....	21
I. 2. 4. 2. Reproduction asexuée.....	21
I.2. 5. Conditions de croissance et mode de développement.....	21
I.2. 5. 1. Source de carbone.....	21
I.2. 5.2. Source d'azote.....	22
I.2. 5.3. Source d'éléments minéraux et vitamines.....	22
I.2. 5.4. Facteurs physico-chimiques.....	22
I.2. 5.4.1. Température.....	22
I.2. 5.4.1.2. Humidité.....	23
I.2. 5. 4. 1. 3. pH.....	23
I.2. 5. 4. 1. 4. Oxygène.....	23
I.2. 6. Moisissures d'altération de Tomate en conserve.....	23
I.2. 6. Moisissures et mycotoxines dans les denrées alimentaires.....	24
I.2. 6.1.Définition d'un mycotoxine.....	24
I.2.6.2. Les facteurs de production des mycotoxines dans les aliments.....	25
I.2.6.2.1. Activité de l'eau.....	25

I.2.6.2.2. Température (T°) et pH.....	27
I.2.6.2.3. Nature du substrat.....	27
I.2.6.2.4. Oxygène.....	28
I.2.6.2.5. Facteurs biologiques.....	28
I. 2. 6. 3. Effets des mycotoxines sur la santé du consommateur.....	28

## Partie II

### PARTIE EXPERIMENTALE

#### MATERIEL ET METHODES

II. 1. 1. Échantillonnage et méthode de prélèvement.....	31
II. 1. 2. Étude de la qualité physico-chimique de la tomate en conserve.....	32
II. 1. 2. 1. Détermination du pH.....	32
II. 1. 2. 2. Détermination de l'acidité.....	33
II. 1. 2. 3. Détermination du taux de matière sèche et l'humidité.....	33
II. 1. 3. Étude de la qualité mycologique de la tomate en conserve.....	35
II. 1. 3. 1. Isolements et dénombrement de la flore fongique .....	35
II. 1. 3. 2. Purification des isolats.....	35
II. 1. 3. 3. Identification de genres des isolats fongiques.....	35
II. 1. 3. 3.1. Identification macroscopique.....	35
II. 1. 3. 3. 2. Identification microscopique.....	36
II. 1. 4. Étude de la croissance de moisissures.....	36
II. 1. 4. 1. In vitro.....	36
II. 1. 4. 2. Modélisation primaire.....	37
II. 1. 5. Analyses mycotoxicologiques.....	37
II. 1. 5. 1. Détection visuelle des souches productrices de mycotoxine.....	37
II. 1. 5. 2. Détection des mycotoxines par la chromatographie sur couche mince (CCM)..	37

#### RESULTATS ET DISCUSSION

II. 2. 1. Résultats des analyses physico-chimiques de concentré de tomate en conserve....	40
II.2.1.1. Détermination du pH.....	40
II.2.1.2. Détermination d'acidité (g/kg).....	40
II.2.1.3. Détermination de taux de matière sèche et de l'humidité.....	40
II.2.2. Isolement et dénombrement de la flore fongique.....	41

II.2.3. Identification des genres fongiques.....	42
II.2.4. Résultats et discussion des analyses mycotoxicologiques.....	46
II.2.4.1. Détection visuelle des souches productrices de mycotoxine.....	46
II.2.4.2. Détection des mycotoxines par la chromatographie sur couche mince (CCM).....	47
II.2.5. Caractérisation de la croissance des isolats de moisissures.....	48

## CONCLUSION

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### Références Bibliographiques

Annexe I

Annexe II

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> :Réception de la matière première.....	7
<b>Figure 02</b> :Lavage de la tomate.....	7
<b>Figure 03</b> :Triage de la tomate.....	8
<b>Figure 04</b> :Broyage de la tomate.....	9
<b>Figure 05</b> :Préchauffage.....	10
<b>Figure 06</b> : Concentration.....	11
<b>Figure 07</b> : Pasteurisation.....	12
<b>Figure 08</b> : Remplissage de la tomate.....	12
<b>Figure 09</b> : Sertisseuse.....	12
<b>Figure 10</b> : Mise en carton.....	14
<b>Figure 11</b> :Diagramme de fabrication du Concentré de Tomates (TC).....	15
<b>Figure 12</b> :Structure de l'hyphe chez les moisissures; (a) thalle siphonné , (b) thalle septè .....	19
<b>Figure 13</b> :Cycle sexué/asexué des moisissures.....	21
<b>Figure 14</b> : Localisation géographique des sites d'échantillonnage.....	31
<b>Figure 15</b> :Mesure de pH de tomate en conserve.....	33
<b>Figure 16</b> : (a) Creuset + Aliquote, (b) Étuve à 105°C.....	34
<b>Figure 17</b> :Méthode d'identification microscopique des moisissures.....	36
<b>Figure 18</b> :Secteur du taux de contamination des échantillons en fonction des marques analysées.....	42
<b>Figure 19</b> : Taux de contamination de tomate en conserve par les genres <i>Aspergillus spp</i> , et <i>Penicillium spp</i> , <i>Alternaria spp</i> , et <i>Cladosporium spp</i> .....	45
<b>Figure 20</b> : Fréquence du genre <i>Aspergillus spp</i> , et <i>Penicillium spp</i> , <i>Alternaria spp</i> , et <i>Cladosporium spp</i> , dans les marque de tomate en conserve au niveau de la wilaya de Ain Temouchente.....	46
<b>Figure 21</b> : Détection sous UV des souches productrices de mycotoxines sur milieu CEA.....	47
<b>Figure 22</b> : Image sous UV 365 nm montrant la fluorescence bleu et vert de la production des Aflatoxines B1 et Ochratoxines A par les isolats sur CCM.....	48
<b>Figure 23</b> : Cinétiques de croissance de six isolas sur milieu PDA .....	49

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 01</b> : Caractéristiques organoleptiques de tomates.....	5
<b>Tableau 02</b> :Teneur en résidus sec (%) du concentré de tomate.....	6
<b>Tableau 03</b> : Caractéristiques de broyeur.....	8
<b>Tableau 04</b> : La durée de stérilisation en fonction du volume.....	13
<b>Tableau 05</b> : Les valeurs nutritionnelles moyennes pour 100 g des concentrés de tomate..	17
<b>Tableau 06</b> : Classification des moisissures (Des exemples).....	20
<b>Tableau 07</b> : Principaux genres de moisissures et leurs mycotoxines associées.....	25
<b>Tableau 08</b> : Activité de l'eau ( $a_w$ ) nécessaire pour le développement de quelques moisissures .....	26
<b>Tableau 09</b> : Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés expérimentalement.....	30
<b>Tableau 10</b> : Origine et date de prélèvement des échantillons de concentré de tomates .....	32
<b>Tableau 11</b> : Résultats de pH obtenus des différents échantillons.....	41
<b>Tableau 12</b> : le nombre des boîtes (+) et (-) dans chaque marques.....	42
<b>Tableau 13</b> : Caractères cultureux et ainsi l'aspect microscopique des souches fongiques sélectionnées.....	43
<b>Tableau 14</b> : Caractères cultureux et l'aspect microscopique des souches fongiques sélectionnées.....	44
<b>Tableau 15</b> : Paramètres de croissances estimés.....	49

## Liste des abréviations

**ml:** Millilitre

**g:** gramme

**µg:** microgramme

**mg:** Milligramme

**Kg:** Kilogramme

**µl:** Microlitre

**MS:** Matière sèche

**HP:** Haute pression

**Min:** Minute

**nm:** Nanomètre

**mm:** Millimètre

**°C:** Degrés Celsius

**ADN:** Acide désoxyribonucléique

**ATP :** Adénosine triphosphate

**Aw :** Activité de l'eau (water activity)

**DON:** Déoxynivalénol

**FAO :** Food and Agriculture Organisation

**OMS :** Organisation Mondiale de la santé

**pH :** Potentiel hydrogène

**OTA :** Ochratoxine A

**AFs :** Aflatoxines

**% :** Pourcentage

**UV:** Ultra-violet

**CCM :** Chromatographie couche mince

# **Introduction**

### Introduction

Le concentré de tomate est un composant essentiel dans la cuisine algérienne en particulier, maghrébine et méditerranéenne de façon plus large. La tomate s'est révélée riche en antioxydants, et plus particulièrement, en caroténoïdes. D'après certaines études, une consommation de tomates ou de ses dérivés réduirait les risques de cancers, des maladies cardiovasculaires, de diabète et d'ostéoporose. Ces fruits sont caractérisés par un pH généralement acide qui comprit entre 4.3 et 4.5 (**Codex TAN 57-1981**). À ces pH seulement les moisissures qui sont capable de se développer, d'une part. D'autre part, le développement de ce type de micro-organisme est favorisé également par le changement climatique survenu ces dernières années, surtout aux champs et durant le récolte de tomates.

En fait, les moisissures sont des champignons filamenteux microscopiques qui tolèrent des  $a_w$  faible et pH acide. Parmi ces moisissures, plusieurs chercheurs ont pu isolé les souches mycotoxinogènes à savoir notamment *Aspergillus niger* et *A. flavus* (**Anwer et al., 2013 ; Ijato., 2011 ; Zakawa et al., 2019**) et *Penicillium spp* (**Sajad et al., 2017 ; Onuorah et Orji., 2005**). Ces espèces peut produire de mycotoxines comme Aflatoxine, Trichothecenes, Ochratoxine, Citrinin ...etc. (**Ciegler., 1978**).

Les mycotoxines sont des molécules toxiques issues du métabolisme secondaire. Si la toxine est en quantité suffisante dans l'aliment, elle peut provoquer une intoxication chez le consommateur. Une intoxication aiguë est la conséquence d'une ingestion massive de la toxine. Elle peut aboutir à la mort après diverses manifestations (nausées, léthargie...). L'intoxication chronique, en revanche, se produit à long terme et se traduit, par des infiltrations graisseuses et est à l'origine de cancers.

La présence de moisissures productrices de mycotoxines sur les tomates ne signifie pas toujours qu'une mycotoxine est produite, mais certainement ne nie pas leur présence dans le concentré de tomate.

Dans ce contexte, l'objectif principal de ce travail est d'isoler et l'identifier morphologique les genres de moisissures omniprésentes dans les concentrés de tomates ainsi que de caractériser leur croissance. La région d'Ain Temouchent est prise comme cas d'étude.

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

- La première partie est consacré à la synthèse bibliographique en présentant des généralités sur les concentrés de tomates et les moisissures .
- Et la deuxième partie expose la méthodologie suivie et les principaux résultats obtenus.

---

**Partie I**  
**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

### I. 1. Généralité sur la tomate en conserve en Algérie

En Algérie, la production et la transformation de la tomate d'industrie destinée à la fabrication de concentré et de produits dérivés sont devenues dans les années 20 un ensemble d'activité indépendantes, stratégiques de par leurs dimensions économiques, sociales et environnementales (**Lenne et Branthome, 2006**). Selon **Boukella (1996)**, les unités de transformation de tomate en Algérie dominent l'activité de transformation de fruits et légumes.

#### I.1.1. Définition de tomate en conserve

Selon **Codex alimentaire (1995)** tomate en conserves désigne le produit préparé à partir de tomates mures et lavées, conformes aux caractéristiques du fruit *Lycopersicon esculentum* Mill, issue de variétés (cultivars) rouges ou rougeâtres propres et essentiellement saine, conditionné et soumis avant et après conditionnement dans un récipient hermétiquement clos, à un traitement thermique approprié destiné à empêcher la détérioration. Il faut éliminer les pédoncules ; les calices ; et le cœur des tomates.

#### I.1.2. Compositions physico-chimiques de tomate en conserve:

##### I.1.2.1. Matière première :

Les tomates destinées à la préparation des concentrés doivent subir une sélection rigoureuse (Fraîches, Marchandes, rouges, saines, loyales avec un état de maturité convenable (**Anonyme, 1998**).

##### I.1.2.2. Ingrédients:

Plusieurs ingrédients peuvent être ajoutés aux concentrés de tomates à savoir le sel de qualité alimentaire (chlorure de sodium), les aromates, épices naturels ou leurs extraits (**FAO/OMS, 1999**).

##### I.1.2.3. Eau de préparation :

L'eau est utilisée en grande quantité dans toutes les étapes de la transformation, donc

doit être reconnue potable. De ce fait, elle doit être exempte de :

- Micro-organismes pathogènes ;
- Produits chimiques en concentration toxique ;
- Matières ou composés pouvant modifier la coloration, le goût du produit ou ayant un effet défavorable sur la qualité (**Anonyme, 1998**).

### **I.1.3.Caractères variétaux de la tomate destinée à la transformation:**

Les tomates utilisées pour la préparation de concentré doivent répondre à certain nombre de critères de qualité. Les fruits doivent être fermes, sains, résistants à l'éclatement et l'écrasement au moment de la récolte, durant le transport et le stockage.

#### **I. 1. 3. 1.Avant transformation:**

Les variétés de tomate utilisées pour la fabrication de concentré doivent avoir aptitudes agronomique et technologique. D'après **Choux et Foury (1994)**, quatre objectifs principaux de sélection de tomates de bonne qualité destinée à la transformation industrielle sont:

- **Résistance aux maladies:** il s'agit d'un caractère mono génique dominant assurant une bonne stabilité des mécanismes de résistance ;
- **Accroissement des rendements :** on cherche à l'obtenir par la modification du nombre et de grosseur des fruits et même la croissance dans des conditions extrêmes de température basse et élevée ;
- **Adéquation à la mécanisation :** Elle porte des améliorations sur la teneur en matière sèche, la structure du fruit, la vitesse de maturation qui conditionne grandement la résistance aux manipulations et la durée possible de stockage ;
- **Amélioration de la qualité :** en termes d'industrie, on cherche à concilier les exigences technologiques et agronomiques contradictoires des industriels et producteurs afin d'améliorer l'aptitude aux conditionnements et aux transports (résistance aux chocs) et la capacité à supporter des délais de commercialisation.

D'après **Montiguad (1983)**, les meilleurs produits se récoltent à la fin de mois de juillet et au mois d'Août. Les fruits doivent être bien colorés, l'indice de réfraction est à son

plus haut niveau. La précocité est indispensable pour obtenir une production de qualité mais aussi pour avancer la date d'ouverture des usines.

### **I. 1. 3. 2. Après transformation:**

L'aptitude de la tomate pour la fabrication de concentré est dominée pour la richesse en extrait sec au moins de 5,5 en indice de réfraction total. Cependant d'autres caractères importants sont aussi à considérer, à savoir :

- Le pH du produit transformé est de 4,2 à 4,5 ;
- La couleur qui devient un facteur primordial du choix de consommateur ;
- La viscosité de jus qui ne doit pas être trop élevée sous peine de perturbation dans le procédé de concentration.

### **I. 1. 4. Caractéristiques du concentré de tomate:**

#### **I. 1. 4. 1. Caractères organoleptiques :**

Le tableau 1, montre les principales caractéristiques organoleptiques de concentré de tomates. On trouve principalement la couleur, la texture, la saveur et l'odeur.

**Tableau 01:**Caractéristiques organoleptiques de tomates (Rey et Castes, 1965).

<b>Caractère</b>	<b>Spécification</b>
Couleur	-Rouge
Texture et consistance	-Sensiblement homogène. -Pas de séparation en deux phases liquide et solide.
Saveur et arôme	-Absence de saveurs étrangères -Notamment le goût de brûlé ou de caramel.
Odeur	-Absence d'odeurs étrangères ou anormales

#### **I. 1. 4. 2. Caractères physico-chimiques:**

Les caractères physico-chimiques sont illustrés dans le tableau 2. Ils concernent principalement les teneurs en résidus secs, l'acidité, teneurs en sucres, teneur en sels alimentaires, les impuretés minérales.

**Tableau 02 : Teneur en résidus sec (%) du concentré de tomate (Anonyme., 1998).**

<b>Caractère</b>	<b>Teneur de résidus sec (%)</b>
Teneur minimum en sucres totaux (exprimés en sucre inverti) P.100 de résidu sec.	35- 45%
Acidité totale maximum (exprimé en acide citrique hydraté) P.100 de résidu sec.	10%
Teneur maximum en impuretés minérales insolubles dans l'eau P.100 de résidu sec..	0,1%
Acidité totale maximum (acide acétique).	1%
Teneur en sel alimentaire.	3 à 5%

### **I. 1. 5. Processus de fabrication du Tomate en conserve:**

Les différentes étapes de la transformation de la tomate en concentré passent par les étapes suivantes :

#### **I. 1. 5.1. Réception et déchargement de la tomate fraîche:**

Les tomates fraîches doivent être manipulées avec soin pour éviter le maximum des dommages mécaniques. Ces produits sont réceptionnés dans des bacs propres et solides, ils doivent être protégés du soleil, de la pluie de souillures. Cette opération a pour but de débarrasser le produit de la contamination et des impuretés extérieur et d'en éliminer les parties non comestibles.

La tomate peut être transportée en caisses, en camions bennes ou en vrac sur camions. Une bascule située à l'entrée permet la pesée, avant le déchargement. Dans le cas des camions le déchargement a lieu en inondant les bennes par un flux d'eau introduit par des tuyaux orientables. L'eau, en sortant transporte la tomate en un bassin et dans le cas caisses le déchargement se fait manuellement (**Kangni., 1991**).



**Figure 01** : Réception de la matière première.

#### **I. 1. 5.2. Stockage des matières premières:**

Il s'agit de stocker la tomate fraîche pendant un temps avant son entrée dans la chaîne de transformation. Ce temps doit être bien approprié car il permet le mûrissement de la tomate. Il suffit de laisser la tomate dans un local bien aéré.

#### **I. 1. 5.3. Nettoyage et Lavage:**

Le nettoyage et lavage sont pratiques afin de débarrasser les tomates :

- De la terre ou de sable.
- D'une charge microbienne élevée.
- Des résidus des produits phytosanitaires qui indépendamment de leur toxicité peuvent provoquer des altérations de la couleur, de la saveur, où même favoriser la corrosion.

Les tomates tombent dans un bac laveur qu'a pour but d'éliminer les impuretés (Goose et al., 1973).



**Figure 02** : Lavage de la tomate.

Le produit et l'eau sont séparés par une grille inclinée qui laisse rouler le produit dans un canal contenant de l'eau plus propre qui transporte le produit jusqu'à la sortie du groupe de

déchargement. Le groupe est équipé d'un système racleur pour vidanger automatiquement les pierres, la boue et les corps étrangers. La tomate est transportée par un convoyeur incliné et subit un deuxième lavage par eau plus propre en continue son chemin jusqu'aux tables disposées en forme de cercle tournant permettant une inspection attentive de la part des opérateurs. Le plant de rouleaux est incliné et le produit est séparé de l'eau et des corps étrangers. Le produit est également lavé une série de gicleurs **(Kangni., 1991)**.

**I. 1. 5.4. Triage:**

Les tomates lavées sont déversées sur un tapis roulant (trieuse) pour éliminer les matières étrangères et les tomates en mauvais état (altérées ou moisies), le but de triage consiste à enlever des éléments non comestibles **(Goose et al., 1973)**.

Le triage manuel du produit est réalisé sur un plan de rouleaux horizontal par des personnes qualifiées ou s'effectue un dernier contrôle manuel **(Kangni., 1991)**.



**Figure 03 : Triage de la tomate.**

**I. 1. 5. 5. Broyage et Extraction de jus:**

C'est la première étape de la transformation pendant laquelle la tomate est transformée en un produit broyé dans le broyeur qui permet d'obtenir un produit homogène **(Goose et al., 1973)**.

**Tableau 03 : Caractéristiques de broyeur.**

Modèle	Capacité de travail t/heure	Puissance installé HP	Tour/ mn	Dimension mm			Poids Kg
				Largeur	Langueur	Hauteur	
T 70	8	5,5	600	375	730	390	150

La pulpe, issu de la séparation des grains est constituée de tomate écrasée, le broyeur (à peigne) a pour but de l'émietter. Le type le plus répandu est constitué par un cylindre d'acier inoxydable sur lequel on applique quatre ou cinq hachoirs dans le sens de son axe. Le cylindre tourne dans une charpente à l'intérieur de laquelle sont appliquées deux hachoirs analogues et complémentaires. Le cylindre en tournant transporte et émiette la pulpe des tomates. La pulpe émiettee passe ensuite, selon le type d'installation directement dans les préchauffeurs ou dans un petit bac de recueillement duquel il sera envoyé dans le préchauffeur à l'aide d'une pompe sanitaire (**Kangni., 1991**).



**Figure 04 :** Broyage de la tomate.

### **I. 1. 5.6. Préchauffage :**

A pour fonction d'élever la température de la tomate afin de faciliter l'extraction du jus, et sert d'inactivation enzymatique. Il se fait dans un dispositif vertical appelé « cold break » il contient des faisceaux tubulaires dans lesquels circule la tomate émiettee. A l'extérieur des tubes une vapeur de 75 à 80°C est injectée par le haut (**Kangni., 1991**).

On assiste un échange de chaleur entre la tomate qui se chauffe et la vapeur qui se condense. Le condensât formé est recueilli et recyclé dans les chaudières, tandis que la tomate passe à la passoire, ce traitement thermique a pour but de diminuer la viscosité de la tomate, facilitant ainsi la filtration et de permettre une inactivation qui préserve la pectine du produit (dont le rôle est de garder la consistance de la tomate) (**Kangni., 1991**).



**Figure 5 :** Préchauffage.

### **I. 1. 5.7. Tamisage et raffinage :**

Cette opération a pour but de séparer le jus de tomate et éliminer les éléments indésirables. Après le traitement thermique et l'inactivation enzymatique, le produit chaud est raffiné dans les passoires qui séparent la partie solide (peaux et pépins) de la partie liquide (jus ou purée). Le jus est collecté dans une cuve placée au-dessous, tandis que les peaux et les pépins grâce au mouvement hélicoïdal de la série de palettes fixées sur le rotor, sont convoyés vers la partie opposée à l'entrée de produit, pour être évacués. Généralement une passoire fait 600 à 800 tours par minute. Le degré de pressurage du produit est déterminé par l'action combinée d'au moins trois composantes : la vitesse de rotation l'angle d'incidence des palettes et le diamètre des trous du tamis (**Kangni., 1991**).

- a) D'abord dans un tamis de 1,2 micromètre (Passoire) pour éliminer le grand tégument de la tomate. Dans la plupart des cas, le tamisage n'est pas une opération isolée, mais intervient-on même temps que l'extraction.
- b) Puis dans un tamis de 0,7 micromètre (Raffineuse) pour éliminer les petits téguments. Le jus extrait est mis dans des grands barils pour passer à l'étape prochaine.

Le tamisage à chaud présente plusieurs avantages :

- Accroître en générale le rendement.
- Réduire la charge microbienne.
- Protéger dans une certaine mesure contre l'oxydation en créant une atmosphère de

vapeur dans les tamis et les passoires.

### I. 1. 5.8. Concentration :

C'est l'opération qui permet de prolonger la durée de conservation de la tomate en éliminant la quantité d'eau active à l'origine du volume et des coûts de stockage (**Hayes et al., 1998**).

Le jus de tomate raffiné est concentré par évaporation sous vide partielle dans des évaporateurs à multiples effets. Ce procédé décrit par **Goose et al. (1973)** puis repris par **Hayes et al. (1998)**, a l'avantage de prévenir le brunissement et d'améliorer le transfert de chaleur. Par ailleurs, d'autres procédés tel que l'osmose inverse et la cryodessiccation sont utilisés dans la production des concentrés de tomates.



**Figure 06** : Concentration.

### I. 1. 5.9. Pasteurisation :

Après les opérations précédées, le produit concentré obtenu sera pasteurisé. Le produit passe d'abord à une température de 85 à 90°C pendant quelques secondes.

La pâte de tomate est ensuite aspirée de l'évaporateur vers la remplisseuse, qui est constituée d'un tank de réception de la pâte de tomate, d'un échangeur de chaleur tubulaire de pasteurisation et d'un tube de circulation (**Goose et al., 1973**).

Elle a pour but, d'assurer la destruction des micro-organismes et inactiver les enzymes qui pourraient altérer le produit ou le rendre impropre à la consommation. Puis il se refroidit dans des tubes contenant de l'eau froide.



**Figure 07** : Pasteurisation.

#### **I. 1. 5.10. Remplissage et sertissage :**

A la sortie du concentrateur, le produit est récolté dans une cuve tampon, il passe ensuite dans un préchauffeur à 80°C, puis remplis des boites métalliques préalablement nettoyées par le jet d'eau chaude. Ce jet d'eau chaude a pour but de laver et en même temps de chauffer la boite pour permettre une bonne stérilisation du contenu.

Les boites sitôt remplies et serties (avec une sertisseuse; Figure 09) sont retournées pour assurer la pasteurisation de l'espace libre et la partie intérieure du couvercle **Anonyme (1957)**; de cette façon aucun développement de moisissures n'est à craindre.

A la fin les boites passent vers l'imprimante pour étamper la date de fabrication, la date de péremption, le numéro du lot et l'heure. Le remplissage se fait dans des boites de (1/6kg, 1/2kg, 1kg, 5kg).



**Figure 08**: Remplissage de la tomate.



**Figure 09**: Sertisseuse.

### I. 1. 5.11. Stérilisation :

La stérilisation par la chaleur consiste à exposer les aliments à une température, généralement supérieure à 100 °C, pendant une durée suffisante. La durée et la température de traitement (barème de stérilisation) des conserves de tomates dépendent du type d'équipement et de la taille des conserves. La stérilisation a pour but d'inhiber les enzymes et toute forme de micro-organismes, même les bactéries sporulées (**Vierling., 1998**).

Les boîtes remplies de produit concentré passent par un tunnel de stérilisation (3 chambres de température décroissante, d'abord 100°C, puis 75°C et finalement 35°C). La stérilisation des boîtes est variée selon le volume (Tableau 04).

**Tableau 04:** La durée de stérilisation en fonction du volume

Volume des boîtes	Durée de stérilisation
1/6 kg	30 min
1/2 kg	50 min
1 kg	80 min
5 kg	120 min

### I. 1. 5.12. Refroidissement :

Les boîtes de pâte de tomate doivent ensuite être rapidement refroidies afin d'éviter la détérioration de la saveur et de la couleur à la suite de la rétention de la chaleur. Parmi les techniques utilisées lors du refroidissement, on peut soit pratiquer un refroidissement par l'air des boîtes empilées et rangées de façon à permettre une bonne circulation de l'air, soit pratiquer le refroidissement avec de l'eau chlorée par aspersion ou par immersion (**Gould., 1992**); Cette opération permet d'éviter la sur cuisson.

### I. 1. 5.13 Conditionnement et emballage :

Après le refroidissement des boîtes qui durent quelques secondes, on passe au conditionnement pour emballer les boîtes de tomates dans des cartons plastifiés, pour faciliter le transport sur les lieux de stockage ou les lieux de vente (marché...) (**Ziri., 2011**).

### I. 1. 5. 14. Stockage :

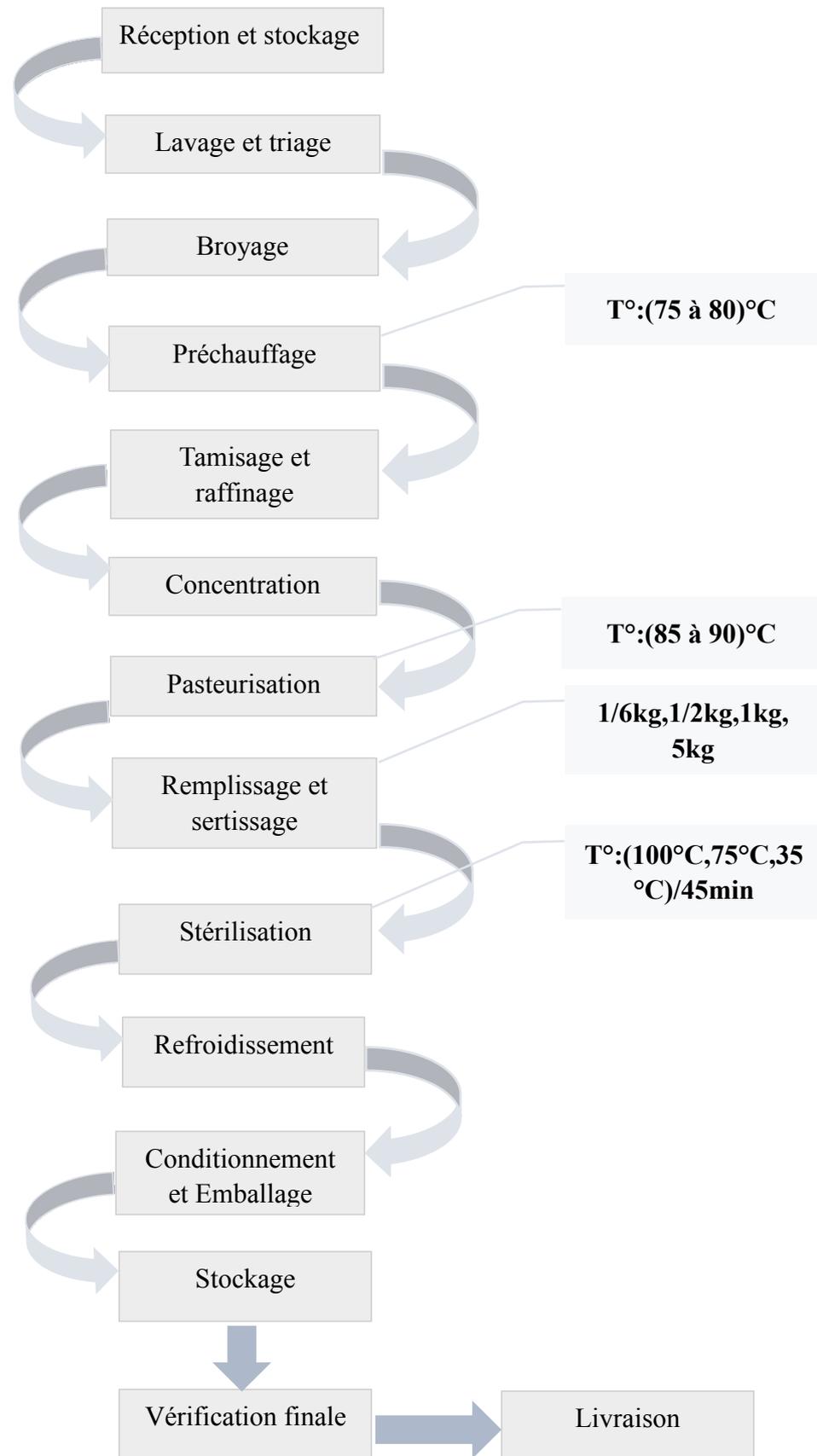
Les produits finis étiquetés seront stockés dans un endroit frais et à l'abri de la lumière dans un dépôt séparé de celui des matières premières fraîches, puis à être distribué. Le produit fini doit être mis en observation pendant 15 jours avant de sortir de l'usine, afin de s'assurer de sa capacité de conservation.



**Figure 10** : Mise en carton.

### I. 1. 5. 15. Vérifications finales :

Des contrôles importants sont enfin effectués pour garantir la qualité totale des produits avant leur mise à disposition des consommateurs. Par exemple, les boîtes sont mises en étuve, à des températures et pendant un temps déterminé par la législation, pour accélérer le vieillissement du produit et contrôler sa stabilité bactériologique à long terme (**Kangni Kidja., 1991**).



**Figure 11:**Diagramme de fabrication du Concentré de Tomates (TC).

### **I. 1. 6. Contrôle industrielle au sein de fabrication:**

#### **I. 1. 6.1. Contrôle de la matière première :**

Il commence par un choix conséquent de la matière première. A l'atelier on mesure le Brix et le pH afin de prévoir le comportement du produit à la transformation. Ce contrôle est continué après le lavage à travers l'opération tirage-parage. Il est visuel, il consistera essentiellement à éliminer les tomates non mûres, les tomates avariées, infectées par les moisissures eubactéries et si possible couper les parties en cause. La qualité du concentré dépend de celle de la tomate (Yousfi., 2018).

#### **I. 1. 6.2. Contrôle de fabrication :**

Le nombre et l'emplacement des étapes du processus de fabrication (y compris l'achat de la matière première) à contrôler seront eux aussi fonction d'une évaluation des risques que pourrait causer toute anomalie du processus à l'étape considérée. Ces points à vérifier dépendront de la nature du produit et du procédé, ainsi que des moyens disponibles (Board B,W) .

#### **I. 1. 6.3. Contrôle sur le produit fini :**

Il portera sur les caractères physiques, organoleptiques et chimiques d'une part et d'autre part sur la stabilité et la qualité du serti.

#### **I. 1. 6.4. Contrôle de sertissage :**

La pasteurisation de tomates est mal faite si la pâte de tomate sortira de la boîte, aussi pendant la trempe on peut observer le même phénomène. Sinon le serti est bien fait.

#### **I. 1. 6.5. Contrôle de la stabilité:**

Après chaque production, des échantillons sont conservés dans le laboratoire et surveillés pendant une période. On peut en conclure que le contenu est en bon état si la boîte n'est pas rouillée. Pour les contrôles des caractéristiques du concentré il faut vérifier :

- La couleur.
- La texture et la consistance.
- Le taux d'impureté.

- La saveur et l'arôme.
- La teneur en sucres, vitamines et minéraux.
- L'acidité. Il s'agira de comparer ces valeurs aux normes

**I. 1. 7. Valeur nutritionnelle :**

Les études épidémiologiques attestent l'existence d'une corrélation positive entre la consommation des produits à base de tomate riche en antioxydants et la diminution du risque de développement de certaines pathologies. Ceci fait dériver la tomate des aliments de valeurs nutritionnelles intéressantes pour la santé de l'homme (**Bou Mandjel et al., 2002**).

**Tableau 05:** Les valeurs nutritionnelles moyennes pour 100 g des concentrés de tomates  
(Anonyme., 1998).

<b>Constituants</b>	<b>Quantité</b>
Protéines	2.30 g
Lipides	0,5g
Glucides	5,55g
Acide organique	1,04g
Minéraux	1,70 g
Sodium	590 mg
Potassium	1,16g
Magnésium	32g
Calcium	60g
Fer	1g
Phosphore	34 mg
Equivalent rétinol	206.67µg
Carotènes totaux	1,24 mg
Vit B1	93 µg
Vit B2	58 µg
Vit B6	180g
Nicotinamide	1,48g

**I. 1. 8. La recherche des micro-organismes d'altération de tomate en conserve:**

Cette altération est due à une matière première de mauvaise qualité microbiologique,

arrêt accidentel des lignes avec maintien prolonge des produits à des températures qui favorisent la prolifération des micro-organismes, anomalies dans la conduite autoclave ou dans l'application des barèmes de stérilisation (**Bourgeois et al., 1996**).

Selon les études de **Léoni et Belluci (1980)**, les espèces microbiennes contaminant naturels de la tomate dans les produits acides à  $\text{pH} < 4.5$  sont les levures, moisissures, *lactobacilles* et les *entérobactéries* sont peu résistantes à la chaleur. Un traitement à une température d'environ 61-65°C est suffisant pour éliminer 90% de toute éventuelles contaminations microbiennes (**Larousse et al., 1991**).

### **I. 1. 9. Modification des caractères organoleptiques :**

L'appertisation permet de développer les qualités organoleptiques des aliments (couleur, flaveur, texture ...) en provoquant un ensemble de modifications physiques et chimiques. Le barème appliqué à un produit doit être suffisant pour atteindre la cuisson désirée, mais doit également éviter un chauffage trop important ayant pour conséquence une dégradation des qualités de l'aliment par sur cuisson (**Ameye et Boucher., 1999**). Lors du processus de fabrication, la couleur, la flaveur, la valeur nutritionnelle et les autres aspects de la qualité sont en général affectés (**Raux., 1990**).

### **I.2. Généralité sur les moisissures :**

#### **I.2.1. Définition :**

Les moisissures sont des champignons microscopiques eucaryotes, filamenteux et pluricellulaires du règne des mycètes appelés les « vrais » champignons ou Eumycètes (**Regnault., 1990; Chasseur et Nolard., 2003**). Ce sont des thallophytes hétérotrophes (dépourvus de chlorophylle) et immobiles ; qui peuvent vivre en symbiose avec les végétaux ou comme des parasites (**Leclerc et al., 1995 ; Benkakouz., 2002 ; Chasseur et Nolard., 2003**).

Les moisissures ont des actions bénéfiques et néfastes pour l'homme (**Cahagnier et al., 1998**). Aussi sont ubiquitaires et présentent des avantages économiques intéressants pour l'homme.

Elles produisent un large éventail de produits naturels souvent appelés métabolites

secondaires (Calvo et al., 2002). Les métabolites secondaires fongiques présentent un intérêt intense pour leurs propriétés pharmaceutiques (antibiotiques) et / ou toxiques (mycotoxines). Les aliments sont généralement des milieux très favorables à leur développement. Plusieurs Moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* se considèrent comme des contaminants des produits agricoles à cause de leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques (Cahagnier et al., 1998)

### I.2. 2. Caractéristiques des moisissures :

Les moisissures possèdent un appareil végétatif appelé « thalle » n'est pas constitué de véritables tissus. Ce thalle est constitué d'un réseau filamenteux appelé mycélium, dont les filaments s'appellent des hyphes, le mycélium peut différencier des organes forts variés selon les groupes spécialisés dans la multiplication et la dissémination, auxquels on accorde la dénomination globale des spores (Bourgeois., 1989). Les moisissures sont aérobies, multicellulaires en général acidophiles et mésophiles (Guiraud., 1998).



**Figure 12:** Structure de l'hyphe chez les moisissures; (a) thalle siphonné, (b) thalle septé (Botton et al., 1990).

### I.2. 3. Classification des moisissures :

La classification des champignons est essentiellement basée sur des caractères purement morphologiques (Meyer et al., 2004).

La taxonomie la plus courante est basée sur les modalités de reproduction. Elle classe les mycètes en quatre grands embranchements : les Oomycètes, les Zygomycètes, les Ascomycètes, et les Deutéromycètes.

### I.2. 3.1. Oomycètes :

Sont des moisissures au thalle peu développé, essentiellement aquatiques, parasites des végétaux (mildious, rouilles blanches, etc.) ou des animaux (Boiron., 1996). La plupart des oomycètes est formée des parasites facultatifs ou hautement spécialisés des plantes vasculaires, provoquant des maladies très graves sur certaines cultures ergonomiquement importantes et se développent de façon intracellulaire ou intercellulaire (Nasraoui., 2006).

### I.2. 3.2. Zygomycètes :

Ces moisissures possèdent un thalle mycélien non cloisonné et des organes de reproduction sexuée (Guiraud., 1998). Elles comprennent environ 200 espèces, rassemblent des moisissures saprophytes, ainsi que des moisissures parasites d'insectes, des nématodes et d'amibes, et de plantes (Boiron., 1996).

### I.2.3.3.Ascomycètes :

Les ascomycètes comprennent environ 15000 espèces, sont définis comme des moisissures à thalle mycélien cloisonné, dont le mode de reproduction est sexué avec des spores endogènes (ascospores). Cette classe regroupe de nombreux parasites des végétaux (Guiraud., 1998).

### I.2. 3.4. Deutéromycètes :

Également appelés moisissures imparfaits, les deutéromycètes sont caractérisés par un mycélium cloisonné et une reproduction végétative réalisée par des spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium (Boiron., 1996). Le groupe des deutéromycètes contient un grand nombre de contaminants de végétaux et de produits alimentaires : *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*...etc (Botton et al., 1990).

**Tableau 06:** Classification des moisissures (Des exemples). (Source : <http://www.arnobio2>).

Aspect de l'hyphe	Non cloisonnée	Cloisonnée (septomycètes)	
Groupe	Zygomycètes	Ascomycètes	Deuteromycètes
Septum	Non	Oui	Oui
Exemples	Rhizopus , Absidia	S. Cerevisiae	Aspergillus, Candida.

## I.2. 4. Mode de reproduction:

Les moisissures peuvent se multiplier selon un mode asexué ou un mode sexué (Boiron., 1996).

### I.2. 4.1. Reproduction sexuée :

La reproduction sexuée implique la production d'organes sexués et de gamètes, la fusion des gamètes ou des organes sexués suivie par la fusion nucléaire ou caryogamie et la méiose, le développement des organes de fructification (Larpen et Gourgaud., 1990).

### I.2. 4. 2. Reproduction asexuée :

Chez les moisissures, plusieurs types de spores peuvent être produites : arthrospores (issues de la septation de la paroi cellulaire), sporangiospores (formées dans un sporange à l'extrémité d'un hyphe), conidiospores (produites à la périphérie des hyphes), blastospores (formées par un bourgeonnement de surface d'une cellule végétative) (Branger et al., 2007).

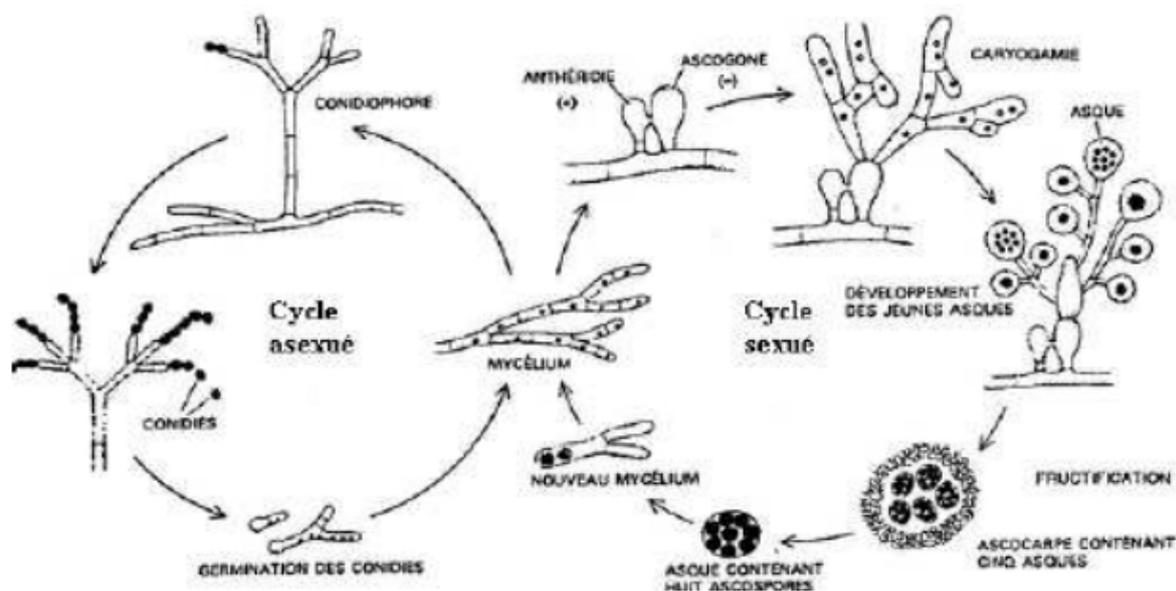


Figure 13: Cycle sexué/asexué des moisissures. Source : <http://www.arnobio2>

## I.2. 5. Conditions de croissance et mode de développement:

### I.2. 5. 1. Source de carbone:

Les mycètes utilisent des matières organiques comme source de carbone et énergie. Ils

tirent ce carbone par saprophytisme, symbiose ou parasitisme. Les mycètes utilisent la glycolyse comme métabolisme aérobie pour dégrader les hydrates de carbone. Certains peuvent utiliser des fermentations à des taux bas d'oxygène. Récemment, des mycètes anaérobies vrais ont été découverts dans le rumen du bétail. Ces mycètes présentent un métabolisme énergétique proche de certains Protozoaires parasites (**Nicklin et al., 2000**).

### **I.2. 5.2. Source d'azote:**

Les mycètes incorporent l'azote par hétérotrophisme. Ils ne peuvent assimiler l'azote gazeux mais peuvent utiliser le nitrate, l'ammonium et certains acides aminés par absorption directe à travers la membrane. Des sources complexes d'azote, comme les peptides et les protéines, ne sont utilisables par les hyphes qu'après leur dégradation par des protéases en acides aminés (**Nicklin et al., 2000**).

### **I.2. 5.3. Source d'éléments minéraux et vitamines:**

Le phosphore, le potassium, le magnésium, le calcium et le soufre constituent des sels minéraux requis par les mycètes. Les mycètes ont la possibilité d'accéder à des réserves de phosphore en sécrétant dans le milieu extracellulaire des enzymes phosphatases. Le fer est relativement insoluble et donc pas facilement assimilable ; mais les mycètes sont capables de synthétiser des sédérophores ou des acides organiques qui peuvent chélater le fer ou modifier sa solubilité. Certains mycètes peuvent avoir besoin de vitamines préformées, comme par exemple de la thiamine et de la biotine, ainsi que des stérols, de la riboflavine, de l'acide nicotinique et folique (**Nicklin et al., 2000**).

### **I.2. 5.4. Facteurs physico-chimiques:**

#### **I.2. 5.4.1. Température :**

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores (**Bourgeois., 1989**). La plupart des moisissures sont mésophiles avec d'optimale température de croissance de 25 à 35°C. Certaines espèces sont psychrophiles ou psychrotolérantes et se développent à des températures inférieures à 20 °C (**Botton et al., 1990**).

### **I.2. 5.4.1.2. Humidité:**

Les moisissures ont en général un besoin en eau faible par rapport aux autres microorganismes

(Davet., 1996). Néanmoins, 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., 1989).

### **I.2. 5. 4. 1. 3. pH:**

La grande majorité des moisissures filamenteux se développent dans une zone de pH de 4.5 – 8.0. Cependant, les enzymes extracellulaires produites dans des milieux complexes peuvent avoir optimale activité de pH très différentes (plus acides ou plus basiques) (Botton et al., 1990).

### **I.2. 5. 4. 1. 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., 1989).

### **I.2. 6. Moisissures d'altération de Tomate en conserve:**

Les moisissures sont agressives et dégradantes seulement sous leur forme mycélienne. Elles se développent quand les conditions environnementales leurs sont favorables et peuvent se disperser très largement, contaminant ainsi une grande variété de denrées alimentaires. Comme tout micro-organisme, la croissance fongique est dépendante d'un certain nombre de paramètres intrinsèques extrinsèques du milieu externe.

Plus l' $a_w$  est faible, moins il y'aura d'eau disponible pour la croissance du champignon (Cahangier et al., 1998). Les moisissures sont beaucoup plus xéro-tolérantes que les bactéries et les levures. Pour la grande majorité elles se développent correctement sur des activités en eau voisines de 0,85.

Les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement

capables se développer des  $a_w$  voisines de 0,7 à 25°C ; elles peuvent donc se développer dans les aliments pauvres en eau comme les céréales au cours de stockage, les fruits secs, le pain, les produits dont l'activité hydrique a été réduite (produits de salaison sèche, confitures... etc.) (**Gock et al., 2003**).

Au niveau de la denrée alimentaire elle-même, une espèce fongique peut se trouver confrontée à d'autres micro-organismes, comme d'autres moisissures plus ou moins compétitives : qui produisent des toxines, des acides, des arômes et autres éléments de défense.

Des bactéries, dont la vitesse de multiplication est plus rapide dans la mesure où les conditions physico-chimiques, notamment l'activité en eau, leur sont favorables. Ces bactéries vont donc occuper le terrain et empêcher le développement des moisissures, des acariens et des insectes, qui ont une forte dissémination et altèrent par leurs défenses naturelles les micro-organismes présents dans le même substrat (**Basset et Laffront., 2011**).

### **I.2. 6. Moisissures et mycotoxines dans les denrées alimentaires:**

Les moisissures sont capables de provoquer d'importantes détériorations, dans plusieurs domaines. Ainsi, leur présence indésirable donne aux aliments des odeurs moisiées et modifient leurs aspects via la production de pigments. Il y a donc une réduction quantitative et qualitative de la valeur alimentaire de la denrée, accompagnée d'une baisse du rendement des récoltes. Les métabolites produits par ces champignons lors de leur croissance sont aussi des éléments majeurs dans l'altération des denrées alimentaires dont les mycotoxines sont les plus graves en raison de risque d'intoxication (**Nguyen., 2007**). Les aliments touchés par les moisissures toxigènes peuvent être d'origine animale ou végétale.

#### **I.2. 6.1. Définition d'un mycotoxine:**

Le terme mycotoxine dérive du grec « mycos », signifiant champignon et du latin toxicum signifiant «poison». Les mycotoxines sont des molécules capables, à de faibles concentrations, d'induire un effet toxique (**Reboux et al., 2006**). Ce sont des métabolites secondaires produits après la phase de croissance du champignon. Ils se distinguent des métabolites primaires comme par exemple les produits de la glycolyse, qui sont primordiaux pour tout être vivant. les mycotoxines sont des contaminants biochimiques élaborées par

diverses espèces de champignons toxigènes dans les produits alimentaires. Leur présence dans les aliments peut engendrer des effets néfastes sur la santé humaine et animale (**Tahani et Elamrani., 2008**).

Plusieurs genres de moisissures sont connus comme étant producteurs de mycotoxines. Parmi eux, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Claviceps*. Une même espèce fongique peut produire plusieurs sortes de mycotoxines selon les conditions de culture et une même mycotoxine peut être produite par plusieurs espèces fongiques différentes. Quelques exemples de genres de moisissures et de leurs mycotoxines sont regroupés dans le tableau 07 ci-dessous.

**Tableau 07:** Principaux genres de moisissures et leurs mycotoxines associées.

<b>Espèce fongique productrice</b>	<b>Mycotoxines associées</b>
<i>Aspergillus spp.</i>	gliotoxine, fumagilline, acide helvologique, tryptacidine, fumitrémorgines, fumiquinazolines, aflatoxines, ochratoxines, stérigmatocystine
<i>Alternaria spp.</i>	alternariol, acide ténuazonique
<i>Claviceps spp.</i>	alcaloïdes (ergotamine et dérivés)
<i>Fusarium spp.</i>	trichothécènes (déoxynyvalénol, toxine T-2, diacétoxyscirpénol, nivalénol), zéaralénone, fumonisines, fusarine, moniliformine
<i>Penicillium spp.</i>	ochratoxine A, pénitrem A, acide cyclopiazonique, patuline, citrinine

## **I.2. 6.2. Facteurs de production des mycotoxines dans les aliments :**

### **I.2.6.2.1. Activité de l'eau:**

L'activité de l'eau ( $a_w$ ) joue un rôle primordial sur la croissance des moisissures en particulier sur la germination des spores et la croissance du mycélium. L'exigence et la tolérance des moisissures vis à vis de l'eau sont variables d'une souche à l'autre.

La toxigénèse est fortement liée à l'activité de l'eau ( $a_w$ ). Quand les autres facteurs ne sont pas limitant, la toxigénèse croît d'une façon exponentielle avec l' $a_w$  jusqu'à un maximum

où on observe un ralentissement de la toxinogénèse due à un défaut d'oxygénation (Suárez-Quiroz et al., 2004).

Les moisissures sont classées en trois groupes :

- **Les espèces hygrophiles** dont les spores germent à plus de 90% et leur croissance optimale se situe à 100 % d'humidité relative (*Mucor sp.*).
- **Les espèces mésophiles** dont les spores germent entre 80 et 90% et leur croissance optimale se situe entre 95 et 100% d'humidité relative (*Alternaria spp.*, *Penicillium spp.*).
- **Les espèces xérophiles** dont les spores germent à moins de 80% et leur croissance optimale se situe entre 95 et 100% d'humidité relative (*Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*).

Concernant les *Aspergillus*, l' $a_w$  optima le de leur croissance se situe entre 0,72 et 0,80 selon les espèces. Cependant la plupart des *Penicillium* pousse mieux à des  $a_w$  comprises entre 0,8 et 0,90. Les espèces du genre *Fusarium* se développent à des  $a_w$  entre 0,80 et 0,92.

Le tableau 08 résume les valeurs limites nécessaires pour le développement de quelques types de moisissures.

En effet, la formation des aflatoxines par *A. flavus* nécessite une valeur d' $a_w$  comprise entre 0,84 et 0,86, mais la croissance du micro-organisme producteur peut avoir lieu à des valeurs d' $a_w$  plus basses. Il est à noter que l' $a_w$  requise pour la production de mycotoxines est généralement plus faible que celle nécessaire pour la croissance des moisissures et la germination des spores.

**Tableau08 : Activité de l'eau ( $a_w$ ) nécessaire pour le développement de quelques moisissures (Bessy et al., 2004; Miraglia et al., 2004).**

<b>Moisissures</b>	<b>Activité d'eau (<math>a_w</math>)</b>
<i>A. ochraceus</i>	0,83-0,87
<i>A. flavus</i>	0,84-0,86
<i>A. niger</i>	0,88
<i>P. cyclopium</i>	0,87 - 0,90
<i>Fusarium spp</i>	0,80 - 0,92

### I.2.6.2.2. Température (T°) et pH :

La température optimale de toxinogénèse est généralement voisine (légèrement inférieure) de la température optimale de croissance des souches productrices (**Samson., 1991**). *Aspergillus ochraceus* est une espèce qui se développe entre 8 et 37°C, avec un optimum entre 24 et 37°C. Peu d'informations sont disponibles sur *A. carbonarius* car sa capacité à produire l'Ochratoxine A (OTA) n'a été rapportée que récemment. Des études préliminaires récentes indiquent des conditions optimales entre 32 et 35°C (**Téren et al., 1996**).

*Aspergillus niger* se développe de façon optimale à des températures hautes, avec un optimum entre 35-37°C.

*Penicillium verrucosum*, quant à lui, est capable de croître à basse température (entre 0 et 31°C, l'optimum est à 20°C). La patuline, l'acide pénicillique et l'OTA sont élaborés à des températures généralement inférieures à celles de la croissance. Les températures optimales de croissance et de production d'aflatoxines chez *A. flavus* sont proches (**Samson., 1991**). Pour d'autres toxines (trichothécène et zéaralénone), la température optimale de toxinogénèse peut être jusqu'à 10°C inférieure à celle de la croissance (**Suárez-Quiroz et al., 2004**).

Le pH du milieu est un facteur important dans la croissance des moisissures et la production des mycotoxines. La plupart des moisissures croissent dans des pH acides et peuvent tolérer des valeurs de pH très basses.

### I.2.6.2.3. Nature du substrat :

Les moisissures sont des organismes hétérotrophes, se développant exclusivement sur des substrats organiques contenus dans les produits alimentaires de base. Les glucides sont des sources de carbone les plus utilisées par les moisissures. La présence de quelques substances dans les aliments stimule la croissance des moisissures et la production des mycotoxines comme le saccharose et les acides aminés.

La contamination d'une denrée alimentaire par les moisissures dépend de la nature du substrat en particulier de la nature des glucides disponibles (**Pitt., 2009**)

### **I.2.6.2.4. Oxygène :**

La réduction de la pression partielle en oxygène a un effet inhibiteur bien plus important sur la toxino-génèse que sur la croissance du champignon. La production d'aflatoxine est fortement inhibée lorsque la concentration en oxygène est inférieure à 1 % (Lowe et Arendt., 2004).

### **I.2.6.2.5. Facteurs biologiques:**

Les facteurs biologiques sont liés à l'espèce fongique, à la spécificité et la variation de la souche et à l'instabilité des propriétés toxiques. Une même toxine peut être élaborée par différentes espèces qui peuvent être de genres différents. C'est notamment le cas de la patuline et de l'OTA qui sont produites par plusieurs espèces d'*Aspergillus spp* et de *Penicillium spp*.

Une même espèce peut également produire plusieurs toxines (production d'OTA et de citrinine par *Penicillium verrucosum* ; d'OTA et d'acide pénicillique par *Aspergillus ochraceus* ; production de citrinine et de patuline par *Penicillium claviforme* ou *Aspergillus terreus*) (Le Bars., 1982).

Au sein d'une espèce réputée toxino-gène, toutes les souches peuvent ne pas avoir cette propriété. La fréquence des souches toxino-gènes dépend de l'espèce fongique. Pour une même espèce, la production des toxines peut dépendre de la région et du substrat d'origine (Kokkonen et Rizzo., 2005).

A côté de tous ces facteurs qui sont généraux aux mycotoxines, il faut relever que chaque souche toxino-gène a une physiologie différente et par conséquent un habitat écologique différent.

### **I. 2. 6. 3. Effets des mycotoxines sur la santé du consommateur:**

L'ingestion d'aliments contaminé par les mycotoxines peut être à l'origine de toxicité aiguë ou chroniques nommées mycotoxicoses. Cependant, les intoxications aiguës sont rares, spécifiquement chez l'homme, en raison des faibles quantités pouvant être ingérés avec des aliments contaminés. Mais, l'intoxication chronique est souvent à craindre et ce, à cause de l'effet cumulatif des doses fixés sur des organes cibles, tels que le foie ou le rein (Leclerc et al., 2005).

Deux types d'effets peuvent être observés selon qu'ils soient provoqués par les moisissures ou par leur(s) métabolite(s) :

Certaines espèces fongiques sont responsables de mycoses et de réactions allergiques chez l'homme et l'animal. Les effets les mieux connus sont ceux provoqués par *A. fumigatus* qui est connue pour être responsable des aspergilloses broncho-pulmonaires, des aspergilloses allergiques et des mammites chez les animaux (**Richard et al., 1999**).

L'ingestion à long terme de faibles doses de mycotoxines présentes dans les aliments peut entraîner des effets insidieux comme la baisse des performances physiques et la prédisposition accrue à des maladies par suite d'une déficience du système immunitaire (**Galtier et al., 2006**).

Les effets chroniques (exposition répétée à de faibles voire très faibles doses) sont les plus redoutés en raison des habitudes alimentaires et du pouvoir de rémanence de ces toxines. La toxicité est variable (tableau 09). Certaines toxines exercent un pouvoir hépatotoxique (aflatoxines), d'autres se révèlent oestrogéniques (zéaralénone), immuno/hématotoxiques (patuline, trichothécènes, fumonisines), dermonécrosantes (trichothécènes), néphrotoxiques (ochratoxine A) ou neurotoxiques (toxines trémorgènes).

Certaines mycotoxines sont reconnues ou suspectées d'être cancérogènes. En outre, plusieurs mycotoxines peuvent être présentes dans le même produit ou la même ration alimentaire (**Galtier., 2006**).

**Tableau 09** : Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés expérimentalement (**Galtier., 2006**).

<b>Toxines</b>	<b>Effets</b>	<b>Mécanismes d'action cellulaires et moléculaires.</b>
Aflatoxine B1 + M1	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduit à l'ADN Peroxydation lipidique Bioactivation par cytochromes P450 Conjugaison aux GS-transférases.
Ochratoxine A	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines. Inhibition de la production d'ATP Détoxification par les peptidases.
Patuline	Neurotoxicité Mutagenèse in vitro	Inhibition indirecte d'enzymes
Trichothécènes (Toxine T-2, DON, ...).	Hématotoxicité Immunomodulation Toxicité cutanée.	Induction de l'apoptose sur progéniture hématopoïétique et cellules immunitaires Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines.
Zéaralène	Fertilité et Reproduction.	Liaison aux récepteurs oestrogéniques Bioactivation par des réductases Conjugaison aux glucuronyltransférases.
Fumonisine B1	Lésion du système nerveux central Hépatotoxicité Génotoxicité Immunomodulation.	Inhibition de la synthèse de céramide Altération du rapport sphinganine/sphingosine Altération du cycle cellulaire.

---

**Partie II**  
**PARTIE EXPERIMENTALE**

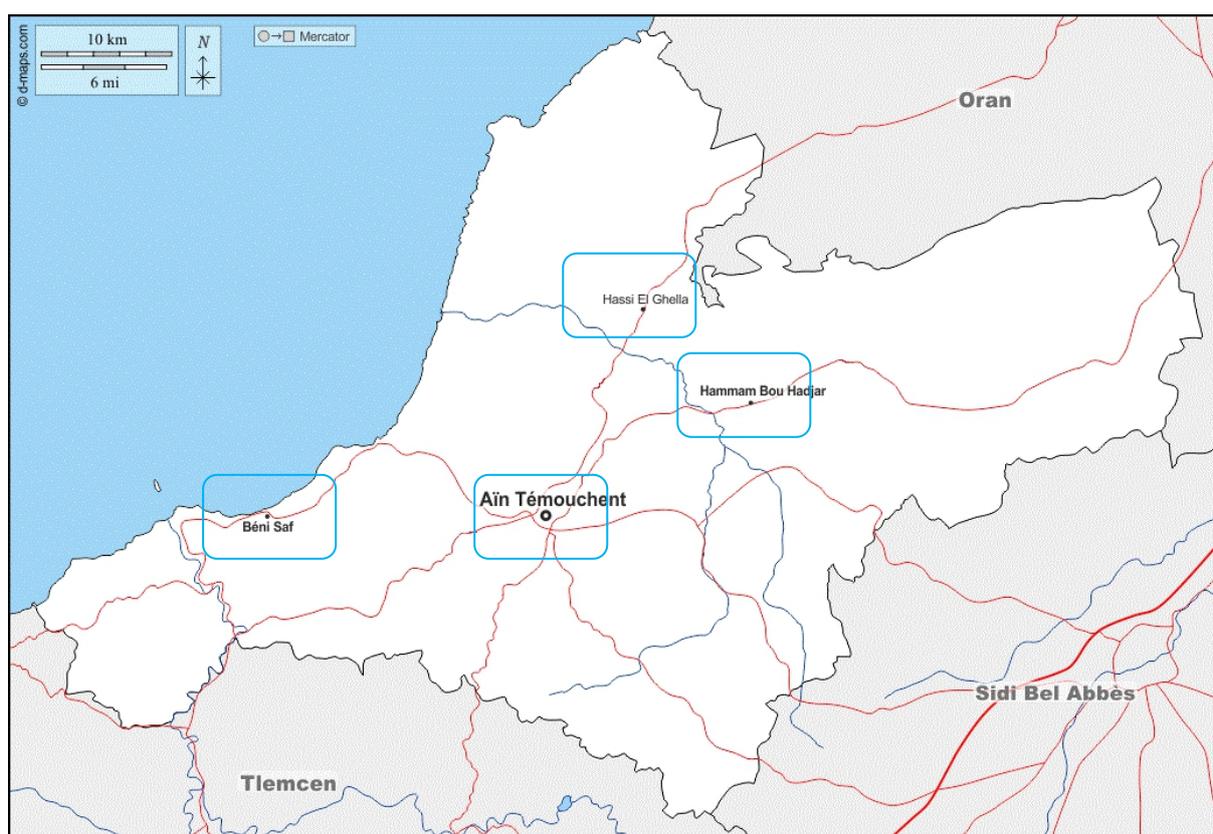
---

## **MATERIEL ET METHODES**

Ce travail a été réalisé en totalité au niveau de laboratoire pédagogique de département SNV, Université de Ain Temouchent.

### II. 1. 1. Échantillonnage et méthode de prélèvement :

Au total 46 échantillons ont été prélevés auprès de 46 foyers de différentes régions de la wilaya de Ain Temouchent pour une période d'un mois compté de 1 Avril 2021. Le tableau 10 montre l'ensemble des informations concernant les échantillons et leur lieu de prélèvement. La région de l'étude a été choisie en fonction de disponibilités des informations et de données, ainsi que la facilité de prélèvement. La figure 14 montre les différentes régions de prélèvement à savoir Hassi El Ghella, Hammam Bou Hadjar et Béni Saf et la ville d'Ain Temouchent.



**Figure 14 :** Localisation géographique des sites d'échantillonnage (Photo prise de Google maps le 20/03/2021).

Le prélèvement des échantillons consiste à la prise au hasard d'une quantité, après homogénéisation par une cuillère stérile, de chaque boîte de tomate en conserve dans des conditions d'asepsie. Ensuite, à l'aide de la même cuillère, une quantité a été prélevée puis placés dans des pots stériles étiquetés.

En fin, l'acheminement et le transport des échantillons au laboratoire de l'université d'Ain Temouchent ont été réalisés dans un glacière (4°C).

**Tableau 10.** Origine et date de prélèvement des échantillons de concentré de tomates.

Marque des échantillons	Date de prélèvement	Lieu de prélèvement	Nombre d'échantillon
V	10/05/2021	Hassi El Ghella	03
C	12/05/2021	Hammam bou Hdjar	36
S	15/05/2021	Ain Temouchent	03
A	15/05/2021	Béni saf	04

### II. 1. 2. Étude de la qualité physico-chimique de la tomate en conserve :

La détermination de paramètres de qualité physico-chimiques a été effectuée par trois paramètres limitant la croissance de micro-organismes : le pH, Acidité, Humidité et la teneur en matière sèche.

#### II. 1. 2. 1. Détermination du pH:

##### a. Principe :

Le pH ou le potentiel d'hydrogène est défini comme le logarithme de la concentration des ions  $H^+$  dans une solution. Il est basé sur la détermination en unité de différence du potentiel existant entre deux électrodes prolongée dans l'échantillon liquide.

##### b. Mode opératoire :

Une fois le pH mètre étalonné. Un volume de l'échantillon a pris pour la mesure du pH (Figure 15).

##### c. Résultat :

Lecture consiste à lire directement la valeur pH sur le pH-mètre (Figure 15).



Figure 15: Mesure de pH de tomate en conserve

### II. 1. 2. 2. Détermination de l'acidité:

#### a. Principe :

L'acidité de l'échantillon, correspond à la somme des acides organiques et minéraux libres, à savoir l'acide malique, citrique, oxalique. Pour déterminer cette acidité il faut faire un titrage à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N.

#### b. Mode opératoire :

Une masse de 10g de concentré de tomate est versée dans un erlenmeyer puis on lui ajoute 50mL d'eau distillé avec quelques gouttes de phénolphtaléine. Ensuite, le mélange a été titré par NaOH à 0.1N jusqu'à l'apparition de la couleur rose.

#### c. Résultat :

La quantité d'acide dans l'échantillon était déterminée par la formule suivante :

$$\text{Acidité (g /kg)} = V_{\text{NaOH}} * 0,64$$

V : volume de la chute de burette en mL.

0,64 : coefficient d'acide citrique.

### II. 1. 2. 3. Détermination du taux de matière sèche et l'humidité :

#### a. Principe:

Le principe de cette méthode est fait subir aux échantillons un chauffage de 100

à 105°C pendant 24h dans une étuve ventilée. La teneur en eau est exprimée en % du poids d'eau par rapport au poids de matière sèche.

### b. Mode opératoire :

Une quantité de 5g de chaque prélèvement a été pesée puis étuvée entre 100 et 105 °C pendant 24h.

### c. Résultats:

La teneur en matière sèche est déduite, par pesée après extraction de l'échantillon sec, comme suite :

$$\% \text{ MS} = (\text{masse de MS} / \text{masse de l'échantillon}) \times 100$$

MS : matière sèche en gramme.

Le calcul de la teneur en l'eau s'effectue comme suit :

$$\% \text{ Humidité} = 100 - \text{MS}\%$$



**Figure 16:** (a) Creuset + Aliquote, (b) Étuve à 105°C

### **II. 1. 3. Étude de la qualité mycologique de la tomate en conserve:**

#### **II. 1. 3. 1. Isolements et dénombrement de la flore fongique :**

Les isolements des moisissures dans les échantillons ont été réalisés selon la technique des suspension-dilutions suivant la norme algérienne (JO N°48, 2005). Elle consiste à ensemercer les dilutions sur milieu gélose Dichloran rose bengale chloramphenicol Agar (DRBC) dont la composition est donnée en annexe I. Ce milieu permet d'inhiber la croissance des champignons envahissant tel que les mucors et les *Rhizopus*, et de réduire la taille de mycélium de façon à mettre en évidence la plupart des champignons contaminant le produit analysé (Riba., 2008).

La préparation des échantillons et les dilutions étaient effectuées dans un diluant (eau physiologique) additionné de tween 80 à 0,005% concentration en masse, pour réduire l'agglutination des spores de moisissures et des conidies.

Une masse de 1g de chaque échantillon a été diluée dans un volume de 9ml de diluant puis homogénéisé pendant 15min. Ensuite, une série de dilution a été réalisée jusqu'au  $10^{-3}$ .

Deux boîtes pour chaque dilution étaient ensemençées en masse avec 0,1 mL d'inoculum sur milieu DRBC. L'incubation se fait à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 7 jours.

#### **II. 1. 3. 2. Purification des isolats:**

En vue de l'obtention d'isolats purs servant à l'identification des souches, plusieurs repiquages successifs sur milieu PDA acidifié ont été réalisés. À l'aide d'une anse de platine stérile, les isolats purs sont repris au centre des boîtes de Pétri contenant un milieu PDA (Annexe 1), puis incubée à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 7 jours. En cas de contamination par autre souche fongique, la purification des souches est effectuée par le repiquage d'un hyphes terminal au centre de boîte contenant le même milieu et dans les mêmes conditions d'incubation jusqu'à l'obtention de souches pures.

#### **II. 1. 3. 3. Identification de genres des isolats fongiques**

##### **II. 1. 3. 3.1. Identification macroscopique**

L'identification de genre fongique fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques des moisissures isolées à l'état pure (Botton et al., 1990).

Caractères culturaux (macroscopique) : ce sont les critères macroscopiques tels que la vitesse de croissance, texture et couleur du thalle, couleur du revers de la culture, odeur de l'exsudat et présence ou absence d'un pigment diffusible.

### II. 1. 3. 3. 2. Identification microscopique

L'identification microscopique est basée sur l'observation microscopique des frottis après inclusion dans la solution de montage « bleu de méthylène ». La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène (Chabasse., 2002) (Figure 17).



**Figure 17** : Méthode d'identification microscopique des moisissures (Chabasse.,2002)

Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements 40× et 100× à l'aide d'un microscope optique.

Caractères microscopiques : hyphes cloisonnés ou non, type et apparence du système sporal, caractéristiques de la spore asexuée (couleur, taille, septation)...etc. (Guiraud., 2003) (Figure 17).

### II. 1. 4. Étude de la croissance de moisissures :

#### II. 1. 4. 1. In vitro :

Un repiquage central a été réalisé sur milieu PDA puis incubé à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Au cours de

l'incubation, le diamètre des colonies fongiques a été mesuré quotidiennement dans 2 directions perpendiculaires pendant une période de deux semaines (15 jours).

#### II. 1. 4. 2. Modélisation primaire :

Les paramètres de croissance des isolats étudiés ont été estimés à l'aide de modèle primaire de Baranyi (**Baranyi et Roberts., 1994**). Le modèle utilisé est représenté par l'équation 1 et 2 :

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

$$A = t + \left( \frac{1}{\mu_{\max}} \right) \ln [\exp(-\mu_{\max} t) + \exp(-\mu_{\max} \lambda) - \exp(-\mu_{\max} t - \mu_{\max} \lambda)] \quad \text{Eq. 2}$$

$\gamma$  est le rayon de la colonie (mm).  $\gamma_0$  est le rayon initial de la colonie (mm).  $\gamma_{\max}$  est le rayon maximal de la colonie (mm).  $\mu_{\max}$  est le taux maximum de croissance radial (mm / j) de la colonie,  $\lambda$  est la phase de latence (j, temps pour rayon > 2.5mm), et t est le temps en jours (j).

#### II. 1. 5. Analyses mycotoxiques :

Pour pouvoir rechercher la capacité des isolats, identifiés, de produire les mycotoxines, deux étapes ont été entamées :

##### II. 1. 5. 1. Détection visuelle des souches productrices de mycotoxine :

L'ensemble des isolats étaient réensemencées sur des boîtes de Pétri contenant 20 mL de milieu CEA (Coconut Extract Agar) et le désoxycholate de sodium à raison de 0,8%. Les boîtes de Pétri sont incubées à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 7 jours. Des boîtes de Pétri en verre non fluorescent ont été utilisées. Les zones de diffusion d'aflatoxine et d'ochratoxine sont détectées en utilisant une lampe à UV à une longueur d'onde de 365 nm (**Lemke et al., 1989**).

##### II. 1. 5. 2. Détection des mycotoxines par la chromatographie sur couche mince (CCM) :

Comme, il est décrit par **Gacem (2012)**, les souches du genre d'*Aspergillus* sont

réensemencées séparément sur milieu YES (Yeast Extract Sucrose) ; riche en vitamines du groupe B complexes, ce milieu favorise la production de métabolites secondaires et induit les réactions anabolisantes conduisant à la production des mycotoxines. L'incubation se fait à  $27 \pm 2$  °C pendant 14 jours.

Après 14 jours d'incubation, le milieu YES a été filtré à l'aide du papier filtre type Wattman N°1 pour éliminer la biomasse formée. Les 50ml du filtrat obtenu sont additionnés à 100 ml de chloroforme, puis agitation pendant 10 min, et laissé le mélange décanter en utilisant une ampoule à décantation. Cette opération est répétée par additionnement successivement 50 et 30 ml du solvant de chloroforme à la phase aqueuse récupérée à chaque séparation.

Ensuite, la phase chloroformique obtenue est filtrée à l'aide du papier filtre type Wattman N°1 puis concentrée par évaporation sous vide à l'aide d'une rotavapor type (Heidolph laborota 4000 efficient) jusqu'à l'obtention d'un volume de 2 ml.

La réalisation de la CCM permet une séparation efficace des mycotoxines et leur identification.

La chromatographie sur couche mince constitue la méthode de base qui permet une séparation efficace des mycotoxines et leur identification avec une bonne précision. Elle se fait sur une plaque de gel de silice (gel de silice 60 F254) qui sont incubés à 105°C pendant 30 min. On dépose un spot de 20µl et un autre de 40µl de chaque extrait chloroformique concentré. La plaque est ensuite placée dans une cuve chromatographique et trempée dans un mélange de solvant d'élution constitué de toluène, l'acide formique et acétate d'éthyle de volume (5 ; 1 ; 4) respectivement (**Multon.,1982**).

Après migration du produit d'élution à sec, la plaque est examinée sous une lampe UV à une longueur d'onde de 365 nm. La présence ou l'absence des mycotoxines a été traduite par des fluorescences.

---

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

## II. 2. 1. Résultats des analyses physico-chimiques de concentré de tomate en conserve :

Le tableau 11 illustre l'ensemble de résultats de l'analyse physico-chimiques.

### II.2.1.1. Détermination du pH :

Le pH joue un rôle non négligeable dans l'appréciation de la qualité organoleptique des produits à base de tomate. Cependant, ils peuvent être également un facteur limitant de la croissance de micro-organismes.

Les résultats indiqués dans le tableau 11 montrent que les valeurs du pH s'étalent entre 4,22 et 4,42.

Ces valeurs pourraient être considérées comme satisfaisantes, car elles sont proches de la majorité des valeurs rapportées par de nombreux auteurs à savoir **Miladi (1970) et Stan 57 (1981)**. Il préconise une valeur de pH de 4,5 dans le concentré de tomate. Une légère différence de pH a été notée entre les différents échantillons, cela est lié au stade de maturation et des variétés de tomate utilisées lors de la transformation.

### II.2.1.2. Détermination d'acidité (g/kg) :

Les résultats obtenus pour les six échantillons analysés du concentré de tomate varient entre 17,64 à 20,4 g/kg. Ces résultats sont conformes aux normes Algérienne fixant l'acidité du concentré de tomate maximum à 20g/kg.

La différence de l'acidité observée entre les échantillons liés probablement au stade de maturation et des variétés de tomate utilisées lors de la transformation comme était suggérées par **Dandjinou et Okana (2000)**.

### II.2.1.3. Détermination de taux de matière sèche et de l'humidité :

Le taux de matière sèche (MS) de concentrés de tomate varie de 21,4 à 22,955%. Ces valeurs sont dans l'ordre des valeurs (20 à 22%) recommandées par (**Codex Stan 57**).

**Adesakin et Ibrahim (2020)** ont montré que la chaîne de fabrication du concentré de tomate n'affecte pas le taux de matière sèche, mais plutôt les conditions de stockage qui affecte ce taux.

Par ailleurs, le taux de l'humidité est inversement proportionnel au taux de la matière sèche.

**Tableau 11:** Résultats de pH obtenus des différents échantillons.

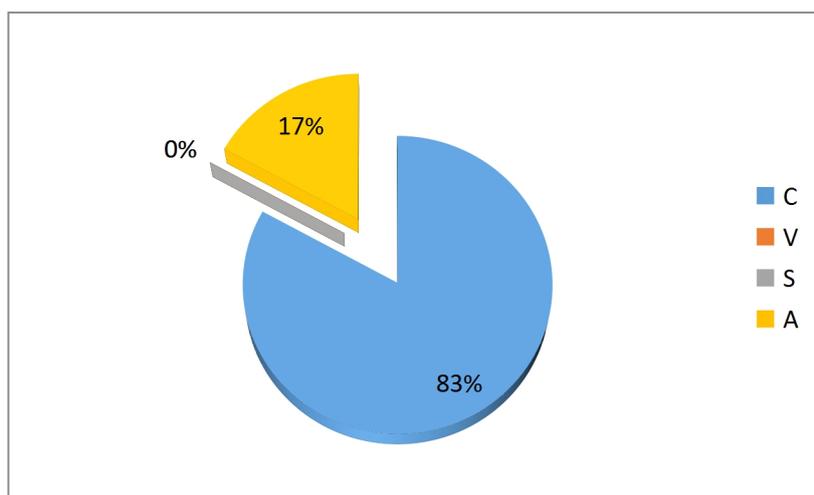
Échantillons	pH	Acidité (g/Kg)	Matière sèche %	Humidité %
Echan 01	4,34 ± 0,052	20,4 ± 2,078	21.667 ± 0,416	78.333 ± 0,416
Echan 02	4,22 ± 0,117	19,18 ± 1,712	21.733 ± 0,643	78.267 ± 0,643
Echan 03	4,37 ± 0,055	18 ,4 ± 1,797	21.467 ± 0,833	78.533 ± 0,833
Echan 04	4,35 ± 0,026	19,3 ± 1,579	22.533 ± 0,503	77.467 ± 0,503
Echan 05	4,42 ± 0,026	17,64 ± 0,55	22.933 ± 0,833	77.067 ± 0,833
Echan 06	4,40 ± 0,027	20,3 ± 2,027	22,955 ± 0,738	77.468 ± 0,533
Valeur théorique	≤ 4.5	20 g/Kg	20 à 22 %	75 à 80 %

### II.2.2. Isolement et dénombrement de la flore fongique :

Le résultat de dénombrement de la flore fongique sur le milieu DRBC montre que six échantillons sont positifs sur 46 échantillons analysé qui représente.

Globalement, malgré l'apparence saine de la variété des échantillons prélevés, et l'absence d'odeur moisie, l'analyse fongique a révélé la présence des moisissures dans cette dernière avec une prévalence de 13%. Cette prévalence est jugée inférieure à 50% et 40% celles reportées par **Kalyoncu et al., (2005)** et **Levy et Taylor., (2003)** respectivement.

Par ailleurs, les concentrations fongiques sont dépendent de l'échantillon. L'analyse fongique de tomate en conserve montre qu'un taux de contamination totale diffère d'une marque à une autre (Tableau 12 ; Figure 18).En effet, les résultats obtenus montrent le taux de contamination (83%) le plus élevé pour la marque C, tandis que le plus faible (17%) pour la marque A. Cependant, aucune contamination fongique n'a été décelée pour les marques S et V.



**Figure 18:** Secteur du taux de contamination des échantillons en fonction des marques analysées.

Quant à la concentration fongique, elle est dépendante à l'échantillon. En effet, les concentrations fongiques s'étalent entre 10 et 200 ufc/g. L'hétérogénéité de la contamination est confirmée par l'écart de moyenne de 56,8 ufc/g.

**Tableau 12:** le nombre des boites (+) et (-) dans chaque marques.

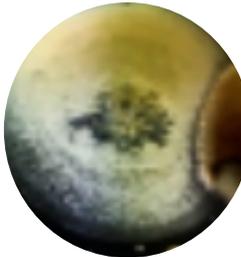
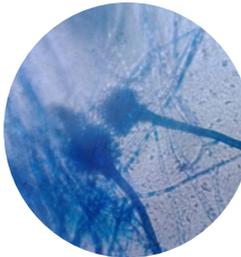
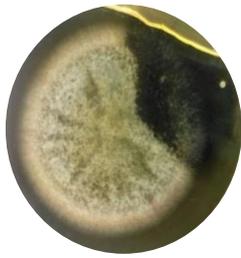
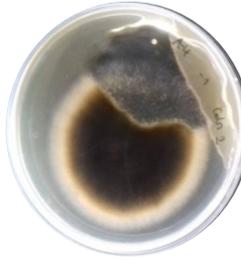
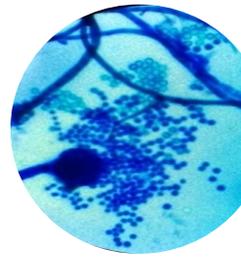
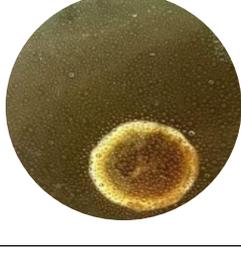
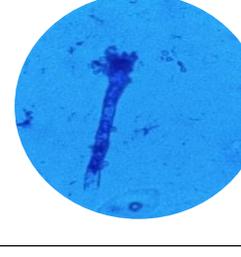
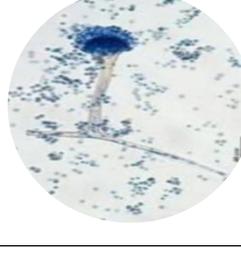
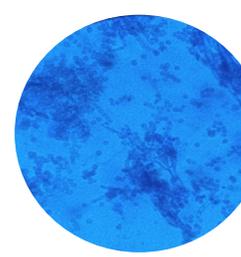
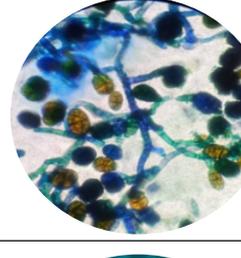
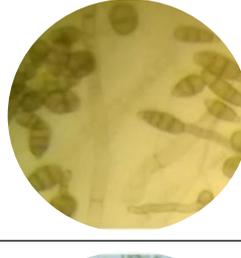
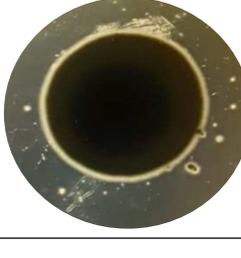
Marque	Nombre des échantillons	Prévalence (%)	Concentration fongique (UFC/g)
C	36	16	64 ± 56,8
A	4	25	10
V	3	0	0
S	3	0	0

### II.2.3. Identification des genres fongiques

L'identification macroscopique des isolats s'est avérée difficile dû à la variabilité des aspects macroscopiques (couleur, aspect de colonie et le revers des boites ...). Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques sont synthétisées sur le Tableau 13. Seulement l'observation microscopique d'un frottis (méthode de Scotch) avec solution de montage Bleu de méthylène a été réalisée pour l'identification des genres (Tableau 14).

**Tableau 13:** Caractères cultureux et ainsi l'aspect microscopique des souches fongiques sélectionnées.

Isolats	Genres	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
C <sub>34</sub>	<i>Aspergillus spp</i>	Vitesse de croissance: moyenne La couleur de mycélium blanc à jaune pâle. Colonie: simple. Reverse: Duveteux a poudreux incolore.	Présence de conidiophore dressés terminé par une vésicule (hémisphérique) supportent structure unisériée en colonne longue. La tête cotidienne avec un thalle sépté. Phialide aux semi-conidies rondes et petites.
A <sub>4</sub>	<i>Aspergillus spp</i>	Vitesse de croissance: moyenne. La couleur de mycélium: blanc puis granuleux. La reverse: jaune à brun rougeâtre.	Structure uni ou bisériée en colonne avec un thalle sépté. La visicule sphérique.conidiophore terminé par une tèteglobuleuse.
C <sub>4</sub>	<i>Aspergillus spp</i>	Vitesse de croissance : rapide. Couleur de mycélium : marron au centre, jaune au périphérique. Centre déprimé et plat poudreuse et gouttelette. Reverse: jaune a marron.	Structure unisérié en colonne courte avec un thalle sépté. La vésicule hémisphérique.les conidiophore court avec des conidies rondes.
C <sub>27</sub>	<i>Cladosporium spp</i>	Vitesse de croissance: moyenne. La couleur de mycélium: Verdâtre. Reverse: noire	Un thalle septé. les conidiophore sont formé de plusieurs cellules, les conidies de forme murale isolées ou groupées.
C <sub>31</sub>	<i>Alternaria spp</i>	Vitesse de croissance: rapide. La couleur de mycélium: vert militaire au centre jaune au périphérique. Reverse: jaune a brun.	Le mycélium est de type cloisonné associé à la présence de conidie pluricellulaire en chaîne jaune irrégulière.
C <sub>12</sub>	<i>Penicillium spp</i>	Vitesse de croissance : moyenne. Couleur de mycélium verte foncé, colonie simple plate poudreuse. Reverse: jaune marronet.	Les conidiophores isolées, des pinicilles constituent de phialide bronchés directement à l'extrémité du conidiophore.

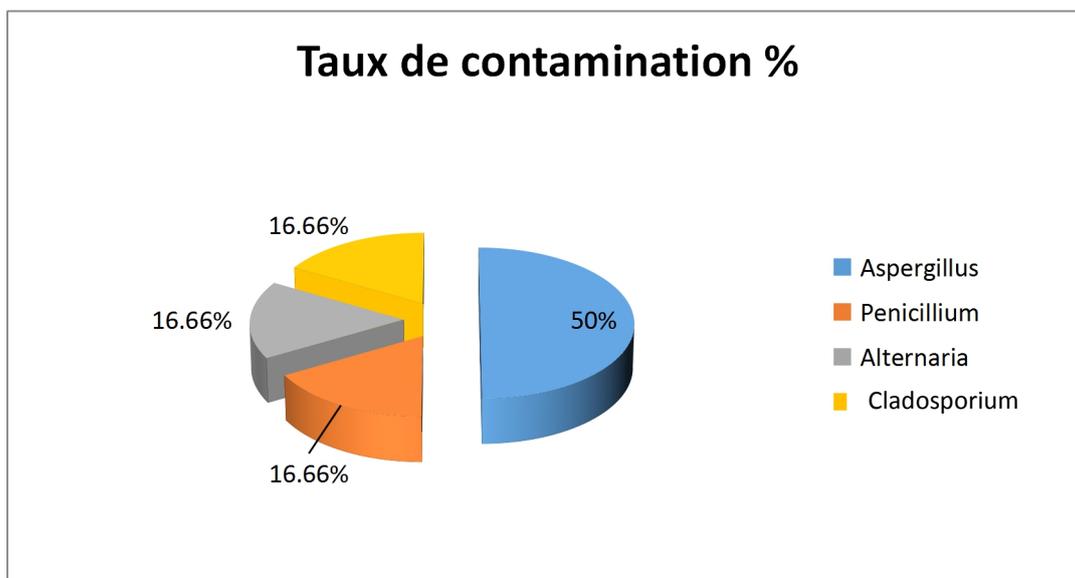
<p>A</p> <p>C<sub>34</sub></p>				
<p>A</p> <p>A<sub>4</sub></p>				
<p>A</p> <p>C<sub>4</sub></p>				
<p>B</p> <p>C<sub>27</sub></p>				
<p>C</p> <p>C<sub>31</sub></p>				
<p>D</p> <p>C<sub>12</sub></p>				

**Tableau 14:** Caractères cultureux et l'aspect microscopique des souches fongiques Sélectionnées. A) *Aspergillus*, B) *Penicillium*, C) *Alternaria*, D) *Cladosporium*.

Les résultats de l'identification fongique montrent que les genres dominants sont *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.*, et *Cladosporium spp.*. Ils ont été identifiés selon les caractères macroscopiques et microscopiques. En plus l'observation de la couleur et la texture de la colonie, sur le milieu (PDA), aide à la distinction entre ces trois genres.

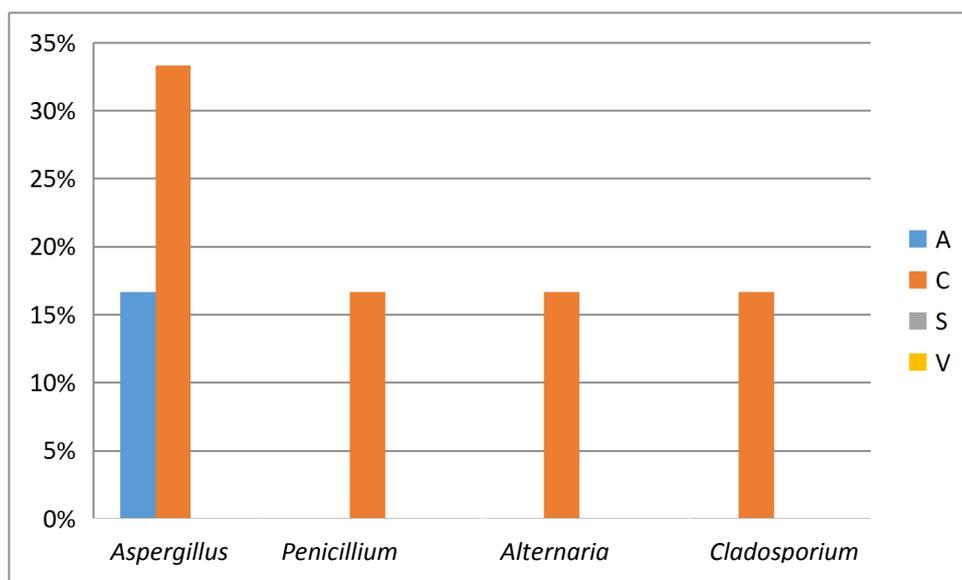
L'échantillon de tomate en conserve s'est révélé contaminé par 4 genres de moisissures, le genre *Aspergillus spp.* Domine avec 50% des échantillons contaminés. Puis viennent les genres *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.* avec des résultats similaires au taux de 16.66% de contamination des échantillons de tomate en conserve. La figure 19 montre le taux de contamination de chaque genre dans les échantillons contaminés. Ces genres ont été aussi identifiés par **Samuel et Orji (2015)**, **Saja et al., (2017)** ; **Jonathan et al., (2016)** dans le même produit. D'autre auteurs, **Ma et al., (2018)** ont pu isoler d'autres genres comme *Fusarium* par exemple.

En effet, **Samuel et Orji (2015)** ont reporté une prévalence de 47,27% d'*Aspergillus spp.*. Même auteurs ont réveillé la contamination d'une marque par rapport aux autres marques commercialisé en Awka, Negeria.



**Figure 19** : Taux de contamination de tomate en conserve par les genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*.

Comme montre la figure 20, les résultats témoignent la dominance du genre *Aspergillus* dans les marques A et C avec un taux de 17% et 33,33% respectivement. Par ailleurs, le taux de contamination par le genre *Penicillium* et *Alternaria* et *Cladosporium* est plus élevé dans la marque C (16,66%). Comme était reporté par, ces résultats confirment le statut de la flore de stockage.



**Figure 20:** Fréquence du genre *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, et *Cladosporium* dans les marque de tomate en conserve au niveau de la wilaya de Ain Temouchent.

La variabilité de ces résultats est probablement dû à la contamination de matière première « tomates », saison de récoltes comme montre par **Kalyoncu et al (2005)**.

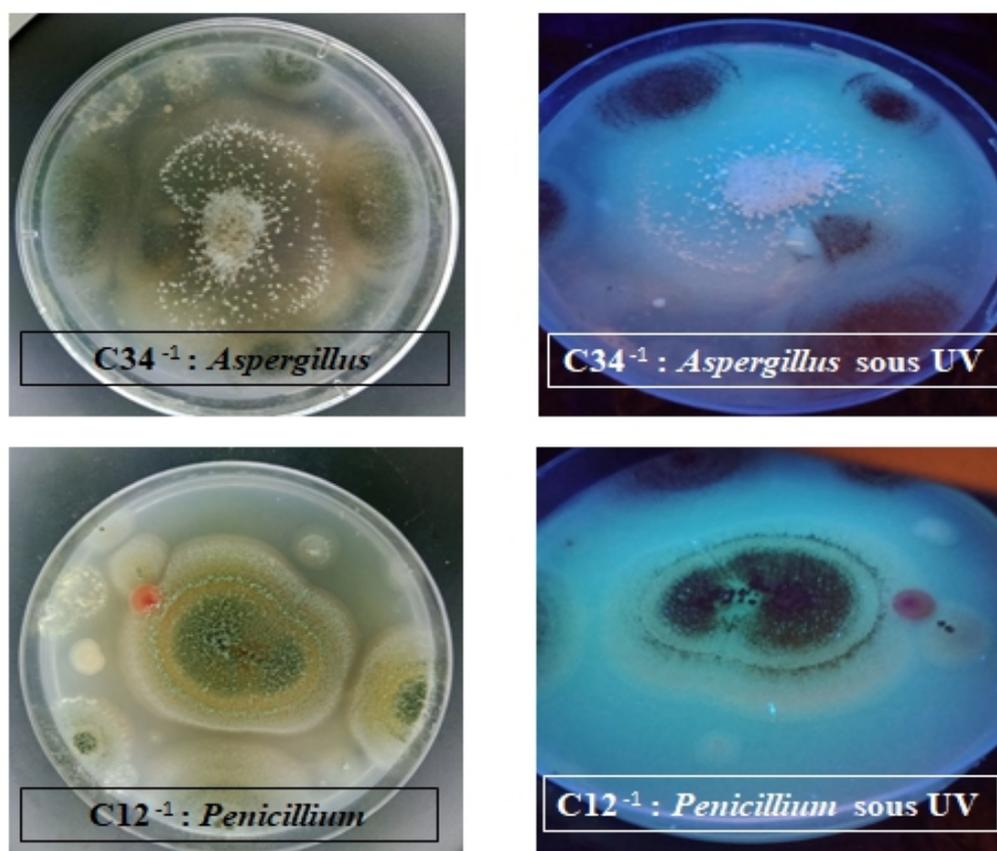
## II.2.4. Résultats et discussion des analyses mycotoxiques:

### II.2.4.1. Détection visuelle des souches productrices de mycotoxine:

Afin de détecter visuellement la production de mycotoxines, les isolats, identifiés comme *Aspergillus* et *Penicillium*, ont étéensemencés directement sur le milieu de culture (CEA).

Après incubation à 25 °C pendant 7 jours sur milieu CEA (contenant le désoxycholate de sodium à 0,8% comme retardateur de croissance), les boitesensemencées par les isolats testés étaient exposées à la lumière UV. Comme montre les figures 21. La fluorescence est apparue autours des colonies d'*Aspergillus spp* et *Penicillium spp*. Les zones fluorescentes

sont spécifiques aux mycotoxines produites par *Aspergillus spp* et *Penicillium spp*. L'apparition de la fluorescence autour des colonies d'*Aspergillus* et de *Penicillium* cultivées sur milieu CEA après leur examinations sous UV, est un indicateur positif pour les souches fongiques productrices de mycotoxines, ce qui est en accord avec les travaux de **Lemke et al., (1988)** et **Lemke et al., (1989)**.



**Figure 21:** Détection sous UV des souches productrices de mycotoxines sur milieu CEA.

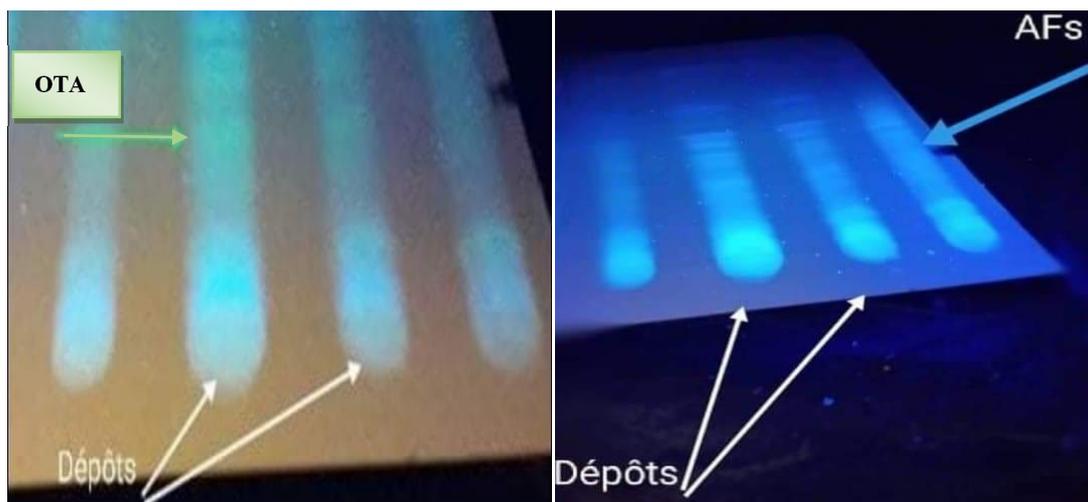
L'utilisation du milieu CEA est certainement avantageuse. Ce milieu est opaque et la blancheur de sa surface est utile en tant que toile de fond pour distinguer les différences entre les colonies. La surface du milieu CEA est également très absorbante de la lumière UV et constitue un arrière-plan efficace pour détecter les zones fluorescentes entourant les colonies correspondant probablement aux aflatoxines et aux ochratoxines.

### II.2.4.2. Détection des mycotoxines par la chromatographie sur couche mince (CCM):

La technique de séparation chromatographique sur couche mince permet de

confirmer le résultat obtenu avec la technique de **Lemke et al (1989)**. Dans le milieu YES, les mycotoxines produites par les souches isolées d'*Aspergillus spp* (C12) et *Penicillium spp* (C34), développent une fluorescence marquée sur le chromatogramme (Figure 22).

D'après la Figure 22, le genre *Aspergillus spp* isolée probablement produise une toxine (Aflatoxine) qui apparait avec une fluorescence bleue. Le genre *Penicillium spp* probablement produise (l'ochratoxine) qui dévoile une fluorescence verte sous lampe UV.



**Figure 22:** Image sous UV 365 nm montrant la fluorescence bleu et vert de la production des Aflatoxines et Ochratoxines par les isolats sur CCM.

Nos résultats mycotoxicologiques obtenus avec la chromatographie sur couche mince montre que la possibilité d'avoir des souches productrices de mycotoxines est toujours présente mais néanmoins, nos échantillons sont acceptables et ils sont prêts à la consommation.

### II.2.5. Caractérisation de la croissance des isolats de moisissures :

La figure 23, montre les différentes cinétiques de croissance de moisissures sur le milieu PDA. Les moisissures testées montrent une capacité de croissance différente remarquée par le temps de latence (jour) et taux de croissance  $\mu_{T^{\circ}C}$ . En effet, les temps de latence et  $\mu_{T^{\circ}C}$  s'étalent entre [0.9 à 4 jours] et [0.63 à 4 jours] respectivement. Les résultats montrent que les paramètres de croissance dépendant de la souche. La souche C34 présente une croissance rapide par rapport aux autres souches (tableau 15). Cette variabilité est

observée également par Baydaa (2017) et Pandy et al., (2018).

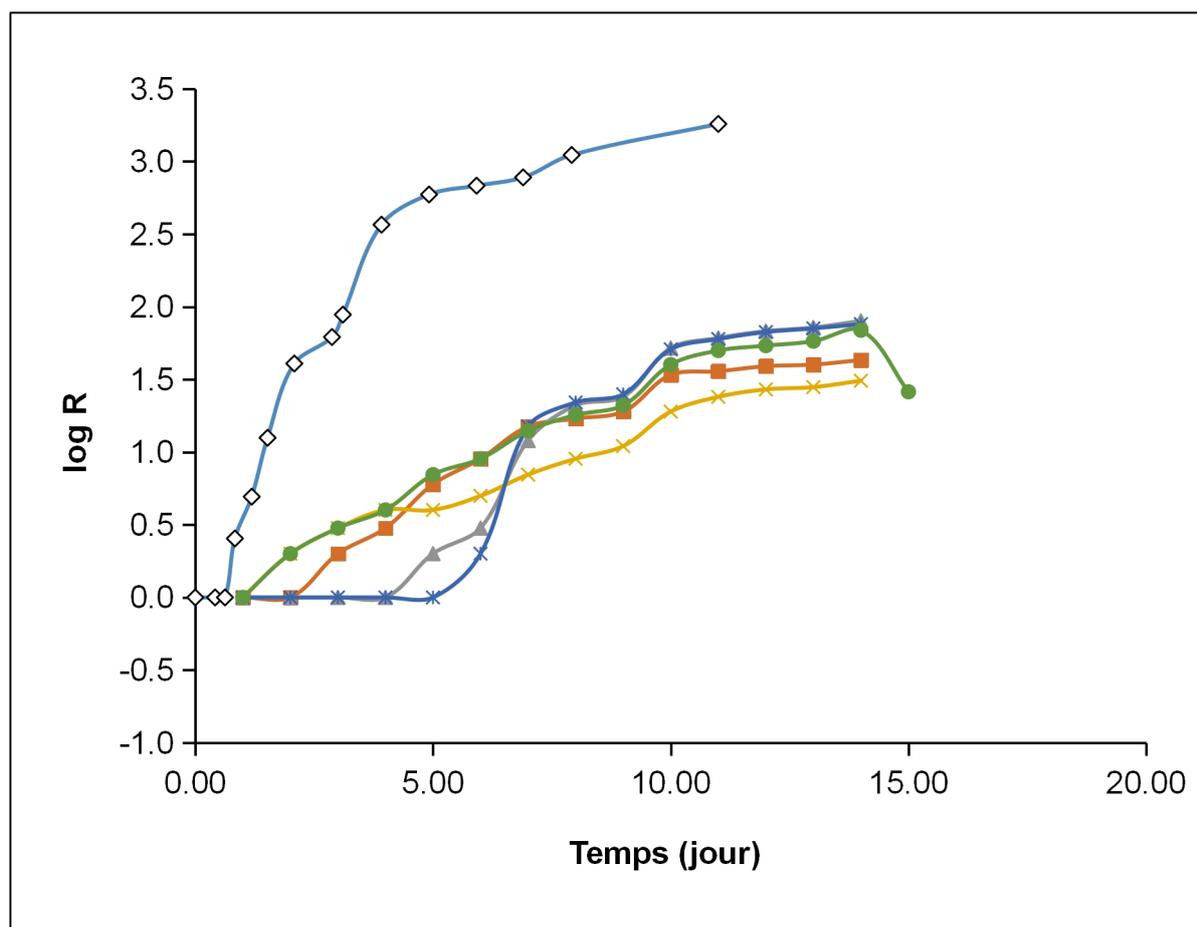


Figure 23: Cinétiques de croissance de six isolats sur milieu PDA

Tableau 15: Paramètres de croissance estimés.

Paramètres estimés	C <sub>4</sub>	C <sub>12</sub>	A <sub>4</sub>	C <sub>34</sub>	C <sub>27</sub>	C <sub>31</sub>
Diamètre initial R <sub>0</sub>	0,439	0,773	0,2654381	0,102	0,3386544	0,15
Diamètre maximal R <sub>max</sub>	1,307	1,609	1,7625877	1,472	1,5305377	1,70
Temps de latence lag ( $\lambda$ )	4,296	4,127	2,1499046	1,253	1,1874959	0,09
Taux de croissance $\mu_{max}$	3,933	3,961	2,1490009	4,006	0,6349831	0,78
SCE	1,491	2,742	1,0290289	1,000	0,2160788	0,19

---

## **CONCLUSION**

Les moisissures sont des micro-organismes ubiquistes susceptibles de contaminer de nombreux produits destinés à l'alimentation des humains et/ou des animaux. La tomate en conserve est des produits alimentaires exposés à la contamination fongiques qui peuvent aboutit à la production et l'accumulation des mycotoxines dans les tomates en conserve.

Pour ce contexte, nous nous sommes réalisés cette étude qui vise à Ain Temouchent pour la recherche et l'identification des genres de moisissures susceptibles de produire certaines mycotoxines.

Les analyses mycologiques effectuées sur les échantillons de la tomate en conserve ont permis d'isoler 6 souches appartiennent à 4 genres : *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* avec une dominance du genre *Aspergillus*. Les isolats obtenus ont été testés pour leur pouvoir de produire de mycotoxines. En effet, les genres *Aspergillus spp* et *Penicillium spp* ont montré une production visible de mycotoxines sur milieu CEA. En effet, l'analyse et la recherche de mycotoxines par CCM ont confirmé la production de mycotoxine détectable par ces isolats.

Sur le plan de la sécurité sanitaire des aliments, notre travail est une contribution à une analyse des risques liés à la consommation par les mycotoxines de tomate en conserve. Il convient de noter notre étude ne représente pas une large gamme de situations. Il serait intéressant, en perspective, d'effectuer les travaux suivants :

- Étendre l'étude sur un grand nombre d'échantillons et région ;
- Étudier d'une manière approfondie l'écologie des champignons toxigènes et l'influence des conditions de stockage (température, humidité) sur la toxigenèse;
- Application les techniques moléculaires afin d'identifier d'une manière plus précise les isolats toxigènes;
- Évaluer le dosage des mycotoxines dans les échantillons.

Enfin il est indispensable d'élargir l'étude sur d'autre matrice alimentaire et d'autre région en Algérie, et sur d'autres champignons toxigènes, afin de disposer davantage de renseignements sur ce type de contamination.

En vue d'une lutte biologique contre les moisissures toxigènes, il serait intéressant :

- ✧ D'étudier l'influence de la compétition ou de synergie entre champignons qui partagent les mêmes niches écologiques, notamment le genre *Aspergillus*, sur la

production des mycotoxines.

- ✧ Il est impératif de veiller au respect de règles d'hygiène telles que les conditions de récolte, d'emballage, de stockage et du suivie tout au long de la chaîne alimentaire.
- ✧ Recommander l'établissement d'une réglementation fixant la quantité maximale des mycotoxines tolérées dans chaque produit alimentaire locale et importé, ainsi que la sensibilisation de la population algérienne sur le danger de ces mycotoxines.

---

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**Ameye, P.Boucher, L., 1999** : Thermal sterilization of two model canned foods. Industries alimentaires et agricoles., 116, 4.P. 21-26.

**Anonyme., 1957**: Barèmes de stérilisation des conserves alimentaires en boîtes métalliques 3<sup>ème</sup> édition ; institut appert, Paris. Dans Cheftel, JC, Cheftel H, Besancon P. dans l'introduction à la biochimie et à la technologie des aliments vol 2. Technique et documentation. Lavoisier, 1977. P. 255-260.

**Anonyme., 1998** : Guide d'inspection qualité sur les concentrés de tomates, Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage (CACQE). P. 1-19.

**Basset T, et Laffont C., 2011** : Les contaminations fongiques. La Lettre de l'OCIM. Musées, Patrimoine et Culture Scientifiques et Techniques, (138), 48-54.  
<https://doi.org/10.4000/ocim.994>.

**Bessy C et al** : Alimentation, nutrition et agriculture alimentacion, nutricion y agricultura.

**Branger M, Bresler G, Vaamonde G, Degrossi C, Pinto V F., 2007** : Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoles). Revue Française des Laboratoires. P : 373.

**Boukella M., 1996** : Les industries agroalimentaires en Algérie politiques, structures et performances depuis l'indépendance. Cahiers Options Méditerranéennes, Vol 19. IAM, Montpellier, France.

**Boumandjel M, Boutebba A, Houhamdi M., 2002** : Effet des barèmes de stérilisation de antioxydants de la tomate.Synthèse 12.23-58.

**Board B W., 1987** : Le contrôle de la qualité dans l'industrie du traitement des fruits et légumes.

**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.

**Bourgeois., 1996** : Technique d'analyse et de contrôle dans les IAA : le contrôle microbiologique, Edition apria. France.

**Boiron P., 1996** : Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan. P. 13-19-69.

**Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy P H, Larpent J P, Reymond P, Sanglier J J, Vayssier Y, Veau P., 1990** : Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2<sup>ème</sup> édition. Masson. Collection Biotechnologies. P. 34-428.

**Benkakouz M., 2002** : Production de la protéase neutre par *Aspergillus oryzae* sur déchets

d'orange. Optimisation du milieu de culture, purification partielle et étude des propriétés physico-chimique de l'enzyme. Thème de magistère.

**Cahagnier B, Dragacc S, Frayssinet C J M, Frémy, Hennebert G L, Lesage-meessen L, Multon J L, Richard-Molard D et 104 Roquebert M F., 1998** : Moisissures des aliments peuhydratés. Edition Lavoisier Tec et Doc, 140-158.

**Calvo, A M, Wilson R A, Bock J et Keller N P., 2002** : Relationship between secondarymetabolism and fungal development. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66, 447-459.

**Codex Stan 57:** Norme Codex pour les tomates en conserve.

**Chabasse D., 2002** : Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale .P. 25-27.

**Chasseur C, Nolard N., 2003** : Les champignons de l'habitat 1ère partie : introduction a la mycologie, risques pour la sante, Expertises. P. 3,4, 7,8.

**Choux C L, et Foury C L., 1994** : Production légumières. Légumineuses potagères.Légumes fruits, tomate 3.Édition Lavoisier, Tec et Doc Paris.

**Davet P. 1996** : Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. P. 52-57.

**Davis N D, Iyer S K, et Diener U L., 1987** : Improved method of screening for aflatoxin with a cocnut agar miduim. Applied and Enviromental Microbiology.53, 1593-1595.

**Dandjinou E P, Okana G C D., 2000** : Implantation d'une unité semi artisanale de production de purée de tomate: aptitude de variétés de tomate cultivée au Bénin à la transformation en purée. Mémoire de DEAT, option production végétale. Lycée Agricole Medji de Sékou, République du Bénin, P.50.

**Dunoyer C., 1989** : Principes de la microbiologie en industries céréalière, Industries des céréales.P. 13-16.

**El-Shanawany AA, Eman Mostafa M, Barakat A., 2005** : Fungal populations andmycotoxins in silage in Assiut and Sohag governorates in Egypt, with a special reference tocharacteristic *Aspergilli* toxins. Mycopathologia. 159, 281–289.

**Espiard E., 2002** : Introduction à la transformation industrielle des fruits.Edition Tec et Doc, Lavoisier.Paris.330.

**FAO et OMS., 1999** : Programme mixte sur les normes alimentaires. Cession Codex

Alimentaires. Rome, P.12-40.

**Galtier P, Loiseau N, Oswald I P, Puel O., 2006 :** Toxicologie des mycotoxines: dangers et risques en alimentation humaine et animale. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 159, 5-13.

**Grawitz, M., 2001 :** Méthodes des sciences sociales. 11<sup>ème</sup> édition. Paris: Dalloz.

**Gock M A, Hocking A D, Pitt J I., Poulos P G., 2003 :** Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. International Journal of Food Microbiology, 81(1), 11-19.

**Goose et al., 1973 :** Tomato paste and other tomato products. Food trade press 2nd edition. London V2. 270 P.

**Gould., 1992 :** Tomato production, processing and technology. CTI publishing, Baltimore.

**Guiraud J P., 1998 :** Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. P. 7-330.

**Guiraud J P., 2003 :** Microbiologie alimentaires. (edn) Dunod. Paris. 651 P.

**Hayes et al., 1998 :** The production and quality of tomato concentrates. Cri. Review in food Sci; and Nutr. 537-564.

**Kangni Kidja., 1991 :** Conception d'une usine de conservation de la tomate. Thèse de doctorat. Ecole polytechnique. Senegal. 112 P.

**King A D, Hocking A D, Pitt J I., 1979 :** Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. Applied and Environmental Microbiology. P 37, 959-964.

**Kokkonen M M, Jestoi et A Rizzo., 2005 :** The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. International Journal of Food Microbiology. 99(2): P. 207-214.

**Lemke P A, Davis N D, Iyer S K, Creech G W et Diener U L., 1988 :** Fluorimetric analysis of iodinated aflatoxin in minicultures of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. J. Indust. Microbiol 3, 119-125.

**Lemke P A, Davis N D, Creech Gregory w., 1989:** Direct Visual Detection of Aflatoxin Synthesis by Minicolonies of *Aspergillus* Species, applied and environmental microbiology. American Society for Microbiology 55(7), 1808-1810.

**Lowe D P et E K Arendt., 2004 :** The use and effects of lactic acid bacteria in malting and brewing with their relationships to antifungal activity, mycotoxins and gushing: a review. Journal of the Institute of Brewing. 110(3): P. 163-180.

**Le Bars J., 1982** : Toxinogenese en fonction des conditions écologiques du système grain/micro-organismes. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés: Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux/coordonnateur, JL Multon; preface, E. David.

**Larpen J et Larpen Gourgaud M., 1990** : Mémento technique de microbiologie. Ed Lavoisier. P :76-89, 255-258, 327-328.

**Lenne P, et Branthome F X., 2006** : Étude de la filière « transformation de la tomate » Algérie- septembre 2006, rapport de synthèse. Euro Développement Pme Alger, Algérie.

**Leclerc F C, Papon N, Noel T, Villard J., 2005** : Moisissures et risques alimentaires (Mycotoxicooses). Revue Francophone des Laboratoires. 373 : 61-66.

**Larousse et al., 1991** : Conserve appertisée. Aspects technique et économique, Edition apria.

**Lclerc H, Meyer A, et Delanud J., 1955** : Cours de microbiologie générale (nouveau programme). Ed Doin. P: 77.

**Miraglia M, et al., 2004** : Italian National Institute of Health, Rome, Italy. Handbook of Food Analysis: Residues and other food component analysis, 2004. 138: P. 879.

**Miladi., 1970**: Introduction à la composition et la technologie de la tomate.INN Ed grand magreb, Tunisie. P. 99.

**Montigaud J C et al., 1983** : La filière tomate transformée. Problèmes techniques et économiques: série d'études et recherche n° 75de DLAA-INRA.Montpellier.133.

**Multon J L., 1982** : Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Derivés- Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique et Documentation Lavoisier, Paris. P. 576.

**Meyer A, Deiana J et Bernard A., 2004** : Cour de microbiologie générale. J.Appl. Microbiol. 66 (4).P:1523-1526.

**Nicklin J, Graeme-Cook K, Praget T et Killington R., 2000** : L'essentiel en microbiologie. Ed.Berti.P:211-217.

**Nasraoui B., 2006** : Les champignons parasites des plantes cultivées-centre de publication universitaire. Tunis, 456p. Nguyen Minh Tri M. Identification Des Aspes De Moisissures, Potentiellement Productrices De Mycotoxines Dans Le Riz Commercialise Dans Cinq Provinces De La Région Centrale Du Vietnam - Etude Des Conditions Pouvant Réduire La

Production Des Mycotoxines. Thèse De Doctorat D'université: Génie Des Procédé et de L'environnement. Toulouse : Institut National Polytechnique. France. 2007. 147P.

**Pitt J I et A D Hocking., 2009 :** Fungi and food spoilage. Vol. 519. Springer.

**Pierre Galtier S D., 2006 :** Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. AFSSA, Décembre: P. 10.

**Raper K et Fennell D J., 1965 :** The genus *Aspergillus*, Williams and Wilkins editors, Baltimore.

**Raux J., 1990 :** Le conditionnement aseptique. Edition apria, Paris, P. 28-29.

**Rey Y et Castes C., 1965 :** La physiologie de la tomate. Édition INRA Paris; P. 50-84.

**Reboux G, Mycotoxins., 2006:** health effects and relationship to other organic compounds. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique 46, 208-212.

**Richard J L, Plattner R D, May J et Liska S L., 1999 :** The occurrence of ochratoxin A in dust collected from a problem house hold. *Mycopathologia*, 146, 99–103.

**Riba A., 2008 :** Recherche sur les champignons producteurs d'aflatoxines et d'ochratoxines A dans la filière blé en algérie .Thèse de doctorat.

**Suárez-Quiroz M, González-Rios O, Barel M, Guyot B, Schorr-Galindo S et Guiraud J P., 2004 :** Study of ochratoxin A-producing strains in coffee processing. International journal of food science & technology, 39(5), 501-507.

**Samson R., 1991:** Identification of food-borne *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium* species. in ACIAR proceedings.

**Téren J et al., 1996 :** Immunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. *Mycopathologia*. 134(3): P. 171-176.

**Tahani N et Elamrani A., 2008 :** Utilisation des Produits de boulangerie rassis comme aliments pour animaux: Risques et dangers. Les Technologies de Laboratoire, 3(10), 1114-9981.

**Vierling E., 1998 :** Aliments et boissons : technologies et aspects réglementaires (dans la série : Science des aliments) éd : Doin éditeurs ISBN : 2-7040-0818-3. P : 89-91 ; 107- 108 ; 112-119.

**Vagelas I, Gougoulias N, Nedesca E D et Liviu G., 2011** :Bread contamination withfungus.

Carpathian Journal of Food Science and Technology, 3(2), 1-6.

**Yousfi M., 2017** : Développement de la technologie agro-alimentaire dans la région de Touat

Cas de la conserverie de tomate de Reggane, Université Africaine Ahmed Draia, Adrar.

**Ziri., 2011** : Contribution à la lutte intégrée contre Tuta absoluta sur tomate en plein Thèse en vue de l'obtention du diplôme de magister en science agronomiques, école nationale supérieure agronomique EL-HARRACH, P13.

---

# Annexe I

## I. Composition des milieux de cultures utilisés:

### Milieu d'isolement DRBC (Dichloran Rose Bengale Chloramphénicol Agar) :

D-Glucose.....	10g
Digestat enzymatique de tissus animaux et végétaux.....	5g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	0.5g
Rose Bengale.....	0.025g
Dichloran (2, 6 dichloro-4-nitroaniline).....	0.002g
Chloramphenicol.....	0.1g
Agar.....	15 à 20g
Eau distillée.....	1000ml
PH final 5,6±0.2	

### Milieu PDA (Potatoes Dextrose agar)

Pomme de terre (macération 500ml de filtrat).....	200 g
Dextrose(Glucose,Saccharose).....	10 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
PH final 5,6±0.2	

---

### **Coconut extract agar (CEA)**

Cent grammes de la noix de coco déchiquetée ont été homogénéisés pendant 5 minutes avec 300 ml d'eau distillée chaude. La solution est filtrée à l'aide du tissu. L'agar a été ajouté (20 g/liter).

Le mélange a été alors stérilisé à l'autoclave à 121°C/15 minutes. Le pH final est de 7,0.

### **Milieu YES (Yeast Extract Sucrose)**

Sucrose.....	40 g
Extrait de Levure.....	20 g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	0.5g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1g
Eau distillée.....	1000 ml

---

# AnnexeII

## 1. Les appareils utilisés dans cette étude sont :

- Des tubes à vis
- Portoirs
- Boîtes de pétri
- Vortex
- Les filtres milipore
- Burette
- Pipette graduée
- Lame et lamelle
- Flacons
- Pince
- Scotch
- Anse de platine
- Agitateur magnétique
- Autoclave
- Balance de précision
- Bec benzen
- Bain marin
- Contour de colonies (FUNKE GERBER)
- PH-mètre
- Distillateur
- Étuve (Memmert)
- Micro-seringue
- Micropipette (1ml, 0.1ml)+embouts
- Microscope optique (MOTIC,type 102M)
- Réfrigérateur (LG)
- UV radiation (254 nm; 365 nm)
- Ampoule à décantation
- Rotavapor type (Heidolph laborota 4000 efficient)
- Plaque de gel de silice 60 F254
- Cuve chromatographique
- Papier filtre type Wattman N°1

---

## **2. Les solvants:**

- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Phénolphtaléine
- Tween 80
- Chlorhydrate de Chlortétracycline
- Bleu de méthylène
- Désoxycholate desodium
- Vitamine du groupe B complexes
- Chloroforme
- Toluène
- Acide formique
- Acétate d'éthyle

---

## Résumé

Plusieurs genres de moisissures sont capables, en se développant sur les denrées alimentaires et de synthétiser et sécréter des mycotoxines à l'origine d'intoxication chez les consommateurs. Dans ce contexte, nous nous sommes réalisés cette étude qui vise à Ain Temouchent pour la recherche et l'identification des genres de moisissures susceptibles de produire certaines mycotoxines dans la tomate en conserve. D'abord, les analyses physico-chimiques de la tomate en conserve ont montré sa conformité à la réglementation. Ensuite, les analyses mycologiques effectuées sur les échantillons de la tomate en conserve ont permis d'isoler 6 souches appartiennent à 4 genres : *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* avec une dominance du genre *Aspergillus*. Les isolats obtenus ont été testés pour leur pouvoir de produire de mycotoxines. En effet, les genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont montré une production visible de mycotoxines sur milieu CEA. En effet, l'analyse et la recherche de mycotoxines par CCM ont confirmé la production de mycotoxine détectable par ces isolats. Les résultats de cette étude ont permis de sensibiliser, analyser et gérer le risque lié à ces dangers microbiologiques.

**Mots clé:** Tomate en conserve, Moisissure, Mycotoxines, Ain Temouchent

## ملخص

عدة أنواع من الفطريات المجهرية قادرة على النمو على المواد الغذائية كما يمكنها تصنيع وإفراز السموم الفطرية التي تسبب التسمم لدى المستهلكين. في هذا السياق، أجرينا هذه الدراسة التي تهدف للبحث والتعرف على أنواع العفن التي من المحتمل أن تنتج بعض السموم الفطرية في الطماطم المعلبة في ولاية عين تموشنت. أولاً أظهرت التحاليل الفيزيوكيميائية للطماطم المعلبة امتثالها لبعض المراجع. بعد ذلك ، أتاحت التحاليل الفطرية التي أجريت على عينات الطماطم المعلبة عزل 6 سلالات تنتمي إلى 4 أصناف ، *Aspergillus* ، *Alternaria* ، *Penicillium* ، *Cladosporium* مع هيمنة صنف *Aspergillus* . تم اختبار فاعلية هذه الأصناف في إنتاج السموم الفطرية. أظهر الصنفان *Aspergillus* و *Penicillium* إنتاجاً مرئياً للسموم الفطرية على وسط CEA. تم تأكيد هذا الأخير بواسطة تقنية CCM. أتاحت نتائج هذه الدراسة ضرورة زيادة الوعي والتحليل وإدارة المخاطر الميكروبيولوجية.

**الكلمات المفتاحية :** طماطم معلبة ، الفطريات المجهرية ، سموم فطرية ، عين تموشنت.

---

## Abstract

Several kinds of molds are capable, by growing on foodstuffs, of synthesizing and secreting mycotoxins which cause intoxication in consumers. In this context, we carried out this study which aims at Ain Temouchent for the research and identification of the kinds of molds likely to produce certain mycotoxins in the canned tomato. First, the physicochemical analyzes of the canned tomato showed its compliance with the regulations. Then, the mycological analyzes carried out on the samples of the canned tomato made it possible to isolate 6 strains belonging to 4 genera: *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* with a dominance of the genus *Aspergillus*. The isolates obtained were tested for their potency to produce mycotoxins. Effectively, the genera *Aspergillus* and *Penicillium* have shown a visible production of mycotoxins on CEA medium. The CCM methode , confirmed the production of mycotoxin detectable by these isolates. The results of this study made it possible to raise awareness, analyze and manage the risk associated with these microbiological hazards.

**Keywords:** Canned tomato, Mold, Mycotoxins , Ain Temouchent

---

## Agzul

Atas n lesnaf n tyemmalt ur yezmir ara wemdan ad iwali s tit, i yettfulletin yef tgelliwin yemgaraden id yettay umdan deg welzuz. Tiymnal agi zeddint ttaganted i yemdanen sem zemren ad rehjen ney ad nyen amdan. Deg wayen yerzan asentel yef nettmeslay nega-d lazrant agi id-yellan di Ain Temouchent, i unodi d usbodi n lesnaf –agi n teryewla, izemren ad sefrurint inamdanen di tumatic n tbewwat. Deg tazwara, ad yili usesled n ufares n tumatic n tbewwat ma yedda d uslugen neyala .Sakin, neddem-d ut ut deg yal ssenf n tumatic nufa-d seddie 6 n tesnaf : *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*. Maca tugar-itent sseuf n *Aspergillus*. Cetlat i d-yeffeyn deg ufares tessefrurux-d inamdanen s watas, Ssenf *Aspergillus* d *Penicillium*, sefruruxen s watas dag yidyan CEA. Afares d tezrawt yef yinamdanen syur CCM. Sleknen-d afares n yinamdanen banen-d dey cetla n treyla i d-nebder yakan. Igmad uyur nessawed dag tezrawat. Agi fkan-d afud i uselfu d tesledt i usebe ed n yimihan ara d-yekken seg treyla- agi.

**Awaleb igejdanen :** Tumatic n Tbewwat, Tyemmalt, Inamdanen, Ain Temouchent.