REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE DR. YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

MEMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Les analyses physico-chimiques et l'étude mycologique et la détection des mycotoxines au niveau de la farine et de blé tendre

Présenté par :

FAREH Zakaria FETTAK Abderraouf REMILI Ahmed

Soutenu publiquement Le : 16/ 09 / 2020 devant le jury composé de :

Président	Mr BENAFERI .N	M. A .A	U.YF- Médéa
Examinateur	Mme BOUMEDIENE .F	M. A .A	U.YF- Médéa
Examinateur	Mme HOCEINI .A	M. C. B	U.YF- Médéa
Encadreur	Mme BOUHERAMA .A	M. A .A	U.YF- Médéa

Année universitaire : 2019/ 2020

Dédicace

Avant tout mes sincères remerciements reviennent à Allah le tout puissant pour tous ses dons.

Du profond du mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers ; A ma chère mère HALFAOUI Habiba à mon cher père Louzdad Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et leurs prières tout au long de mes études et mon bien être.

A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

Et toute la famille FAREH et HALFAOUI.

A mes binômes Ahmed et Abderraouf les mots ne suffisent guerre pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A tous les enseignants qui m'ont enseigné depuis mon enfance.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

zakaria

Dédicace

Je dédie ce travail :

Tout d'abord pour mes chers parents qui n'a jamais cessé de m'encourager dans les moments les plus difficiles et Et pour leur sacrifice incomparable, qu'ils m'ont offert de m'enseigner. A tout la famille en reconnaissance de leurs encouragements.

A tous les enseignants qui m'ont enseigné depuis mon enfance.

A tous ceux qui m'aidé à atteindre cette réalisation soit professeurs même les amies.

A mes binômes Zakaria et Ahmed.

A tous mes amis pour leur sympathie leur humeur et leur solidarité envers moi.

Abderraouf

Dédicace

Au terme de ce modeste travail, je le dédie : En premier lieu, à mes très chers parents qui m'accompagnent par leurs prière que Dieu me les garde, (Aucune dédicace ne peut exprimer ma profonde reconnaissance et mon grand amour pour eux)

A mon cher frère et mes sœurs.

A tous les enseignants qui m'ont enseigné depuis mon enfance

A tous ceux qui m'aidé à atteindre cette réalisation soit professeurs même les amies

A mes binomes Zakaria et Abderraouf.

Ahmed

REMERCIEMENTS

Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant miséricordieux qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

nous tenons à remercier vivement notre encadreuse Madame BOUHERAMA Amina pour son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail, pour ses orientations, ses coneils sa patience et sa disponibilité *sa compétence et sa gentillesse qui nousont permis de bien mener ce travail.*

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury

Mr BENAFERI.N, Mme BOUMEDIENE .F et Mme HOCEINI A.

Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Classification botanique de blé tender	04
Tableau II	Composition biochimique de la farine	10
Tableau III	Les différentes types de la farine selon leur taux en cendre	10
Tableau IV	Structure chimique princépaux types des mycotoxines	23
Tableau V	La quantité de gluten dans un paton de farine humide et sèche	39
Tableau VI	Linterprétation du poids spécifique du blé	40
Tableau VII	Identification macroscopique des souches cultivé sur milieu G25N	42
Tableau IIX	Identification macroscopique des souches cultivé sur milieu CYA	45
Tableau IX	Identification macroscopique des souches cultivé sur milieu CYA	49
Tableau X	La contenu des échantillons par les différents genres des moisissures	54

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Description morphologique de la plante de blé tendre	04
Figure 2	Description morphologique (a) et anatomique (b) d'un grain de blé	05
Figure 3	Cycle de développement de blé	06
Figure 4	La production de blé tendre en algérie	08
Figure 5	Morphologie de l'épillet de différentes variétes de blé tendre d'Algérie.	09
Figure 6	Phylogénie et classification des champignons basés sur l'analyse de plusieurs genes	13
Figure 7	Cycle de vie des moisissures	15
Figure 8	Caractéristiques morphlogiques des têtes d'Aspargillus sp (a) et Penicillium sp (b) et Fusarium sp (C)	18
Figure 9	Aspects morphologiques des colonies.	18
Figure 10	Biosynthèse de quelques mycotoxines	25
Figure 11	Diagramme de prélevement et fabrication de blé en farine dans l'industrie Agrodiv- Blida	29
Figure 12	Ensemencement les grains de blé sur la surface	32
Figure 13	La défference des teneurs en eau entre les différents échantillon	37
Figure 14	La déférence entre la matière tell quel et la matière sèche de la cendre	38
Figure 15	La quantité de la refus dans la farine	39
Figure 16	Densité de la flore fongique totale de farine dénombrées sur les différents milieux (PDAac, CDA).	41
Figure 17	Le pourcentage des genre fongique isolé sur le blé et la farine	53

Liste des abréviations

AFB : Aflatoxine B.

C_2H_3N : Acétonitrile.

CDA : Czapek Dextrose Aga.

CYA : Milieu Czapek Yeast Agar.

C ° : Degrés Celsius.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

FAO : Food and agriculture organisation.

G25N : Milieu à 25% glycérol et nitrate.

g : gramme.

HCl : L'acide chlorhydrique.

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures.

Kg : kilogramme.

mg : milligramme .

ml : milliliter.

Na Cl : Chlorure de sodium.

OAIC : L'Office algérien interprofessionnel des céréales.

OTA : Ochratoxine A.

PDA : Milieu Potatoes Dextrose Agar acidifié.

pH : potentiel Hydrogène.

TE : Teneur en eau.

% : Pourcentage.

ملخص

العفن هو مجموعة من مملكة الفطريات التي بحكم وجودها يمكن أن تسبب أضرارًا في المجال الزراعي أو حتى في مجال التكنولوجيا الحيوية الزراعية.

تهدف دراستنا إلى البحث عن الفطريات في سلسلة إنتاج الدقيق من القمح الطري (*Triticum aestivum L*) ، ثم التعرف عليها وتحديد الظروف التي ينطوي عليها تكاثرها.

أظهرت التحليلات الفيزيائية والكيميائية التي أجريت الامتثال العام للمعايير الجزائرية المعمول بها. أظهر الدقيق جودة جيدة ، ولكنه وفر أيضًا بيئة مواتية لنمو الفطريات.

أظهرت نتائج البحث عن الفطريات وجود نباتات فطرية عند ثلاثة نقاط (قمح ، طحين ، منطقة تخزين). تم عزل 13 عزلة وتوزيعها بشكل غير متجانس: 5 عزلات من بذور القمح ، 5 عزلات من الدقيق و: 3 عزلات من منطقة التخزين . أظهرت الملاحظة المجهرية والميكروسكوبية أن النباتات الفطرية الكلية موزعة على 6 أجناس ، وهي أسبرجيليس, البنسيليوم, ألترناريا, تريكوديرما, الكلادوسبوريوم والموكور ، مع غلبة أجناس الرشاشيات والبنسيليوم. لاحظنا هيمنة تعتمد على نقطة التحكم ، بالنسبة للقمح ، فإن الجنس السائد هوأسبرجيليس. بينما بالنسبة للدقيق هو جنس بينيسليوم وبالنسبة لمنطقة التخزين فقد تبين أن جنس بينيسليوم هو الأكثر انتشارًا .

كلمات مفتاحية : القمح ,الدقيق ,النباتات الفطرية , تنوع ، كثافة .

Résumé

Les moisissures est un groupe de la règne des champignons qui par leur présence ou leur métabolites peuvent causés des dégâts dans le domaine agricole ou même dans le domaine de la biotechnologie agricole.

Notre étude a pour but de chercher les mycètes dans une chaine de production de farine à partir du blé tendre (*Triticum aestivum L*), puis les identifier et déterminer les conditions impliqué dans leur prolifération.

Les analyses physico-chimique effectuées ont montré dans l'ensemble un respect des normes algériennes établies. La farine, produit fini, a montré une bonne qualité organoleptique, mais aussi fournis un environnement favorable pour la croissance des mycètes.

Les résultats de la recherche des mycètes ont montré la présence d'une flore fongique au niveau des trois points de contrôle (Blé, Farine, Zone de stockage). 13 isolats ont été isolé et qui ont été réparti d'une façon hétérogène : 5 isolats à partir des graines de blé, 5 isolats à partir de la farine et : 3 isolats à partir de la zone de stockage.

Les observation macroscopique et microscopique ont montré que la flore fongique totale a été répartis sur 6 genres, il s'agit de *Aspergillus* et *Pénicillium* et *Alternaria* et *Trichoderma* et *Cladosporium* et *Mucor*, avec une dominance des genres *Aspergillus et Pénicillium* . Nous avons constaté une dominance qui dépend du point de contrôle, pour le blé, le genre dominant est *Aspergillus*, alors que pour la farine c'est le genre *Pénicillium* et pour la zone de stockage, le genre *Pénicillium* s'est montré le plus dominant.

Mots clé : Blé, Farine, Flore fongique, Diversité, Densité.

Abstract

Molds are a group of the fungi kingdom which by their presence or their metabolites can cause damage in the agricultural field or even in the field of agricultural biotechnology.

Our study aims to look for fungi in a flour production chain from common wheat (*Triticum aestivum L*), then identify them and determine the conditions involved in their proliferation.

The physico-chemical analyzes carried out showed overall compliance with established Algerian standards. The flour, the finished product, showed good organoleptic quality, but also provided a favorable environment for the growth of fungi.

The results of the search for fungi showed the presence of fungal flora at the three control points (Wheat, Flour, Storage area). 13 isolates were isolated and were distributed heterogeneously: 5 isolates from wheat seeds, 5 isolates from the flour and 3 isolates from the storage area.

Macroscopic and microscopic observation showed that the total fungal flora was distributed over 6 genera, these are *Aspergillus* and *Penicillium*, *Alternaria*, *Trichoderma*, *Cladosporium* and *Mucor*, with a dominance of the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. We observed a dominance which depends on the control point, for wheat, the dominant genus is Aspergillus, while for flour it is the genus *Penicillium* and for the storage area, the genus *Penicillium* was shown to be the most dominant .

Key words: Wheat, Flour, Fungal flora, Diversity, Density.

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

Introduction 1

I.Blé 3

1. Description morphologique 3
2. Cycle de développement 5
3. Classification 5
4. Blé en Algérié 6
   4.1. Production 6
   4.2Variétés de blé tendre 7

II. Industrie de minoterie 9

1. Farine 9
2. Fabrication 10

III. Fungi 12

1. Définition 12
2. Moisissures 13
   2.1. Caractéristiques générales 13
   2.2. Cycle de vie 14
   2.2. Classification 15
3. Utilisation 18
   3.1.Intérêt alimentaire 19

3.2. Intérêt chimique 19
3.3.Intérêt pharmaceutique 20
3.4.Intérêt médical 20
4. Effets 20
4.1. Denrées alimentaires 20
4.2. Santé humaine 21
IV. Mycotoxines 21
1. Définition 21
2. Catégories 21
2.1. Les Aflatoxines 22
2.2.Ochratoxines 22
2.3. Trichothécènes 22
2.4.Fumonisines 23
2.5. Zéaralénone 23
2.6. Patuline 23
3. Facteurs influençant la production des mycotoxines 25
3.1. Facteurs intrinsèques 25
3.2. Facteurs extrinsèques 26
I. Matériel 28
1. Échantillonnage 28
2.1. Teneur en eau 29
2.2. Détermination de taux des cendres 30
2.3. Détermination de la teneur en gluten 30
2.4. Taux d'affleurement 31
2.5. Poids spécifique 31
3. Étude de la densité de la flore mycologique 32
3.1. Isolement et dénombrement de la flore fongique totale de la farine 32
3.2. Isolement et dénombrement de la flore fongique totale des grains de blé 32
3.3. Purification et conservation 33
4. Identification des moisissures 33
4.1. Identification macroscopique 33
5. Identification des genres par la technique de micro-culture 33
6. Caractérisation biochimique 34
7. Étude mycotoxicologique 34
7.1. Fermentation 34
7.2. Extraction 35
7.3. Détection des mycotoxines par l'HPLC 35

Résultats et discussion.....37

I. Analyses physicochimiques.....36

1.Teneur en eau 36

2. Détermination de taux des cendres..... 37

3. Détermination de taux en gluten..... 38

4. Taux d'affleurement..... 39

5. Poids spécifique..... 40

II.Analyses mycologiques.....40

1. Dénombrement de la flore fongique totale..... 40

3. Identification macroscopique 41

4. Identification microscopique..... 47

Conclusion.....55

Références bibliographique

Annex

Introduction

Les céréales sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale mondiale (Slama et al., 2005). Les produits céréaliers constituent un aliment d'une haute valeur nutritive puisqu'ils fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire.

Le blé est à la fois la céréale la plus consommée dans le monde et la plus échangée sur les marchés internationaux. Il constitue ainsi un élément central du système alimentaire mondial. Dans la plupart des cas, la production de blé est assurée par une seule récolte dans l'année alors que la consommation est prolongée toute au long de l'année, d'où la nécessité du stockage.

La fabrication de blé en farine se fait par la mouture qui consiste à séparer l'amande farineuse du son et du germe, puis à réduire l'amande en farine . Comme bien souvent, il contient des impuretés de différentes natures, il va être nécessaire d'effectuer un nettoyage préalable comprenant plusieurs traitements. Le blé doit d'être aussi convenablement hydraté pour donner un rendement maximal en farine (Godon, 1991).Les graines de blé et la farine contiennent d'amidon riche donc sont très vulnérables et propices à des contaminations par des champignons toxinogènes en raison de mauvaises conditions ; météorologiques, environnementales et du stockage.

Les champignons microscopiques (ou mycètes) sont des organismes hétérotrophes et non photosynthétiques. Ils se répartissent en deux grands groupes : les levures et les moisissures (Bousseboua 2003).

Les moisissures sont des facteurs de la détérioration des aliments en raison de leur capacité à produire des métabolites secondaires hautement toxiques au cours de leur prolifération sur les céréales stockées. Elle diminuent la qualité technologique (taux du gluten) et sanitaire réduisant la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique et enfin provoquant des problèmes économiques dus aux couts de détoxification des grains ou les rejets des produits contaminés. (Gacem ,2012) . La prolifération de moisissures provoque non seulement une hydrolyse de glycolipides et de phospholipides, mais peut donner lieu aussi à la formation de mycotoxines (Cheftel et Cheftel 1977).

Dans le cadre d'une étude qui porte sur l'étude de la flore fongique des graines, nous sommes intéressés à l'étude de l'industrie des farines.

Introduction

Nous avons comme objectif principal l'isolement, la caractérisation et l'identification des isolats fongique et l'étude des métabolites secondaires afin d'améliorer la qualité organoleptique du produit final (Farine), diminuer les risques des contaminations fongiques, identifier les raisons de la profoliration de la flore fongique dans l'industrie et construire une base de donnée nationale des espèces fongiques.

I.Blé

Les premiers indices d'une agriculture du blé apparaissent il y a 11000 ans, au Moyen-Orient, dans le «croissant fertil», situé au sud de l'Anatolie et au nord du la Syrie. Les blés ont d'abord évolué en dehors de l'intervention humaine, puis sous la pression de sélection qu'ont exercée les premiers agriculteurs. (Henry et De-Buyser ,2001).

1. Description morphologique

Le blé tendre (Fig.1a) dont le nom scientifique est *Triticum aestivum* L, fait partie de la tribu des *Triticées* et la famille des *Gramineae* (Tab.1) (Bolot et *al*., 2009).

C'est une plante annuelle aux racines adventives (Fig.1b) et une tige creuse, formée d'entre-noeuds, séparées par des noeuds (Fig.1c), zones méristématiques à partir desquelles s'allongent les entre-noeuds et se différencient les feuilles. Chaque noeud est le point d'attache d'une feuille. La hauteur de la tige varie selon les variétés, et les conditions de culture, elle varie de 90 Cm à 150 Cm. (Soltner , 1990 . Pétrequin et Baudais , 1997).

Les feuilles sont des nervures parallèles et sont terminées en pointe (Jaques et Clément, 2003). Elles sont formées de deux parties, une partie inférieure entourant la tige, appellée la gaine (Fig.1d) et une partie supérieure en forme de lame, appellée le limbe (Fig.1e) qui possède à sa base deux prolongements arqués glabre, embrassant plus ou moins complètement la tige : les oreillettes ou stipules (Fig.1f) (Belaid , 1996 et Camille , 1980).

L'Appareil reproducteur est une inflorescence indéfinie qui termine l'appareil végétatif. L'unité morphologique de base de l'épi est l'épillet (Fig.1g). L'ensemble des épillets est inclus dans deux bractées ou glumes (inférieure et supérieure). Le nombre de fleurs fertiles par épillet varie de 2 à 4 et peut être plus. (Gallais et Bannerot , 1992).

Le grain (Fig.2) est un fruit sec et indéhiscent avec une forme ovoïde, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments (Feuillet , 2000). Sur la face ventrale un sillon qui s'étend sur toute la longueur. Il est obtenu après le battage. A la base dorsale du grain, se trouve le germe qui est surmonté par une brosse sur la partie supérieur du grain de blé. Ce derniers entre 5 et 7 mm de long, et entre 2,5 et 3,5 mm d'épaisseur, pour un poids compris entre 20 et 50 mg (Surget et Barron , 2005).

Règne	**Végétal *Plantae***
Sous-règne	*Tracheobionta*
Embranchement	*Magnoliophyta*
Classe	*Liliopsyda*
Sous-classe	*Comelinidae*
Ordre	*Cyperales*
Famille	*Poaceae*
Sous-famille	*Pooideae*
Tribu	*Triticeae*
Genre	*Triticum*
Espèces	*Triticum aestivum*

Tableau I : Classification botanique de blé tendre (Bonneuil , 2009)

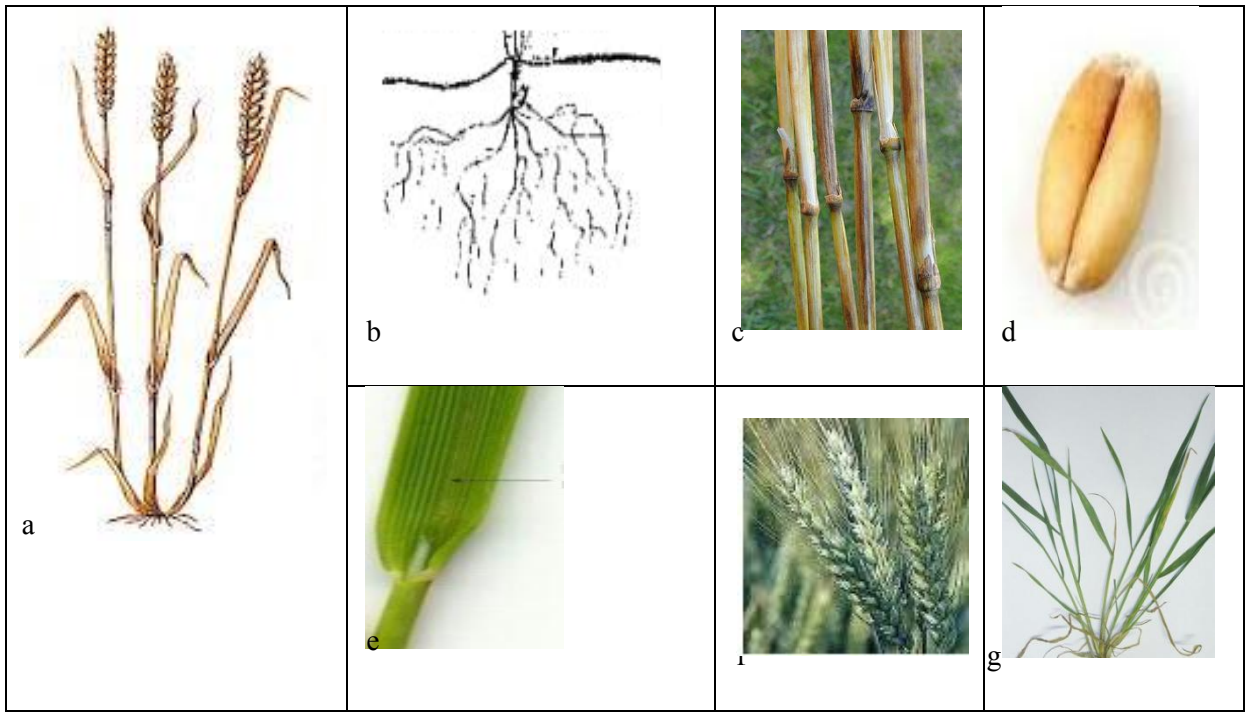
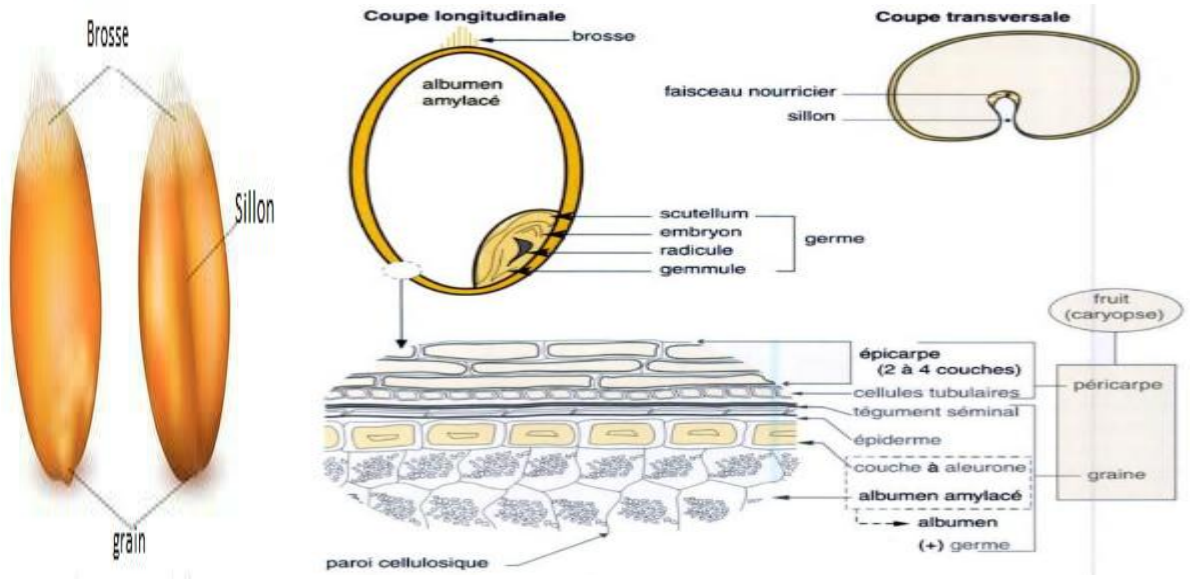


Figure 1 : Description morphologique de la plante de blé tendre.

a.Plante entière.b.Racines.c. noeuds. d. gaine.e. limbe.f. épillet.g. Epi 1cm



a b

Figure 2 : Description morphologique (a) et anatomique (b) d'un grain de blé (Feillet .,2000)

2. Cycle de développement

Le blé possède un cycle biologique annuel réparti en période végétative et reproductrice (Soltner , 2005). Des chercheurs (Gautier ,1991; Boyeldieu ,1999) considèrent la maturation comme une troisième période. Le cycle végétatif accomplit en trois grandes périodes et s'étend de la germination jusqu'au la fin du tallage. La période reproductrice, s'étend du redressement à la fécondation. Elle apparait au cours du tallage et regroupe la formation de l'ébauche de l'épi, l'initiation florale (montaison – gonflement) et la méiose-fécondation (Soltner , 2005). La troisième période est caractérisée par la formation et maturation des grains, elle est repérée de la fécondation à la maturation complète du grain (Fig.3).

3. Classification

Le blé a été classé selon la période de culture en trois catégories (Souilah ,2005;Soltner ,2005)

Le blé d'hiver: Le cycle de développement varie de neuf à onze mois. S'implantent en automne et caractérisent les régions Méditerranéennes et tempérées. Ces blés subissent une vernalisation pendant des semaines à des températures de 1 à 5 °C, pour passer du stade végétatif au stade reproducteur (ne peuvent épier qu'après avoir été soumis au froid).

Le blé de printemps: Le cycle de croissance est de trois à six mois. Il ne peut pas survivre à de très basses températures. Leur épiaison ne dépend que de l'allongement de la durée du jour.

Le blé alternative: Cette catégorie de blé est intermédiaire, sur le plan tolérance au froid, entre les blés d'hiver et du blé printemps.

Il existe de nombreuses variété de blé dans le monde, mais de manière générale, sont toutes divisés en deux tilizes selon la texture tendre ou dure de l'albumen:

Le blé tendre: C'est un blé de forme arrondie avec une tilize épaisse. Ces blés donnent une bonne farine panifiable.

Le blé dur : C'est le blé ayant des épis qui possèdent de longues pointes appelées « barbe » et il est parfois nommé «barbu ». Ces grains sont durs à broyer, il est utilisé pour la fabrication de la semoule et des pâtes.

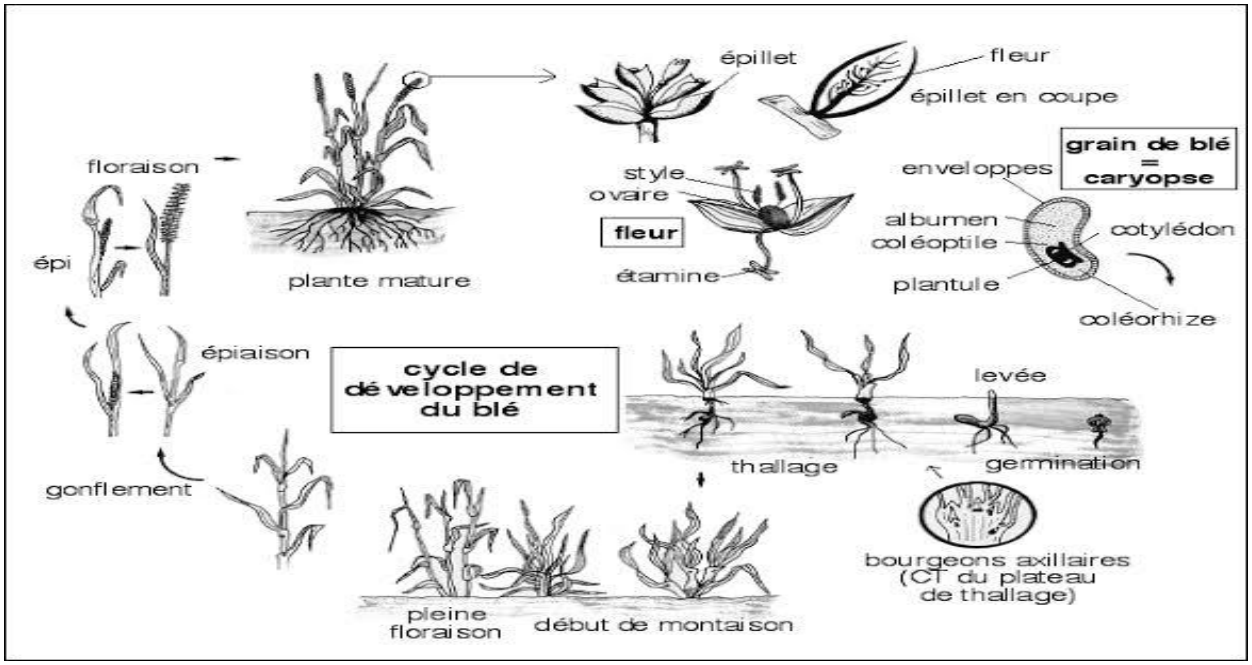


Figure 3 : Cycle de développement du blé (Henry et Buyser. 2000).

4. Blé en Algérié

4.1. Production

La demande de blé en Algérie est couverte, en partie par la production nationale qui oscille, selon les campagnes (fonction essentiellement, de la pluviométrie), entre 0,9 et 4,9 millions de tonnes. .

L'analyse de la production de blé en Algérie (Fig.4) fait apparaitre des fluctuations très instables. Elle ne présente aucune tendance particulière, mais à partir de la campagne 1994/95, elle subit une tendance linéaire plus ou moins croissante. Cette tendance subit pourrait être due à l'une des deux raisons essentielles; à savoir une nette amélioration de la pluviométrie, ainsi que l'adoptions de nouvelle réformes économiques durant la période (1989-1995), dont les répercussions se font sentir à partir de 1994 .

La production de blé en Algérie peut être regroupée en trois zones géographiques:

Zone à hautes potentialités (Z1) : Cette zone se caractérise par une pluviométrie annuelle moyenne supérieure à 500 mm, et ses rendements annuels moyens tournent autour des 20 qx/ha, elle couvre les régions suivantes : les plaines de l'Algérois et Mitidja, bassin des Issers, vallées de la Soummam et de l'Oued El Kébir, vallée de la Seybouse…etc. la superficie agricole utile sur laquelle s'étend cette zone est estimée à 200.000 ha, dont moins de 20% est consacrés aux blé.

Zone à moyennes potentialités (Z2) : Elle se caractérisée par une pluviométrie annuelle comprise entre 400 et 500 mm, mais elle peut être sujette à des crises climatiques élevées, ses rendements annuels moyens peuvent varier entre 5 et 15 qx/ha, et elle trouver sur les régions suivantes : les coteaux de Tlemcen, les vallées du Chélif, le massif de Médéa…. Cette zone englobe une SAU de 1 000 000 ha dont moins de la moitié est réservée aux blé.

Zone à basses potentialités (Z3) : Elle se caractérisée par un climat semi-aride elle est située dans les hauts plateaux à l'est, à l'ouest, et au sud du massif des Aurès, la moyenne des précipitations pluviales est inférieure à 350 mm par an et les rendements en grains sont le plus souvent inférieurs à 8 qx/ha, cette zone couvre une SAU de 3 millions d'hektar don't près de la moitié est emblavée chaque année en blé.

4.2Variétés de blé tendre

Il existe actuellement en Algérie trois à quatre variétés de blé qui sont originaire de différents pays et qui ont été introduite grâce à l'Institut de Technique des Grandes Cultures (ITGC) (Doumandji et al., 2003), il s'agit de :

HIDDAB (HD 1220): Elle est originaire du Mexique et A été sélectionné en 1984 à la station expérimentale du Khroub (Constantine). C'est une variété semi-précoce à précoce (précocité à l'épiaison) et à paille moyenne. Son épie est long, blanc. Elle est résistante à la verse au froid et à la sécheresse, mais très sensible à la rouille jaune, et sensible à la rouille brune et noire et au piétié échaudage. C'est une variété qui présente de bonnes caractéristiques technologiques pour la panification. Elle est recommandée pour les zones sub- littoral (nord des hauts plateaux). Le rendement optimal en graine est élevé, il atteint 60 Qx/ha, ainsi que sa force boulangère est élevé. (I.T.G.C, 2006 et C.N.C.C.S., 2009).

ARZ : Cette variété est aussi originaire du Mexique et a été obtenu à l'I.T.G.C, sa dénomination local est Beni Slimane (Fig. 6a). Elle est semi précoce résistante au froid, à la sécheresse et la verse. Sa productivité peut atteindre jusqu'à 30 Qx/ha, on la classe parmi les

variétés moyennement sensible aux maladies parasitaires telle que la septoriose, la fusariose et la rouille, sa force boulangère est élevé (I.T.G.C, 2006 et C.N.C.C.S., 2009).

Anza: Cette variété de blé tendre est connu partout en Algérie. D'origine américaine (Californie), C'est une variété précoce (plus précoce que Hidhab), elle est productive grâce à son tallage épi élevé (Doumandji et *al*., 2003).

Des variété de blé tendre très peu en Algérie et trouvés depuis le colonialisme :

Mahon Demias : Cette variété a été obtenue par les premiers colons français en Algérie. Elle est rustique et tardif et dotée d'une paille haute (Fig. 6b). Elle est à semer en zones sèches et sur les sols légers (Doumandji et *al*., 2003).

La Tuzelle de Bel-Abbès : Elle a été introduite par les premiers colons européens, sont en général tardives possède un épi sans barbes et de couleur blanc rougeâtre et un grain allongé, blanc et parfois finement ride (Fig. 6c).

Variété SALAMA : C'est une variété originaire de France, elle a une force boulangère élevée comme elle est résistante aux maladies parasitaires telles que l'oïdium des feuilles, la rouille jaune et brune et à la septoriose (C.N.C.C.S, 2009).

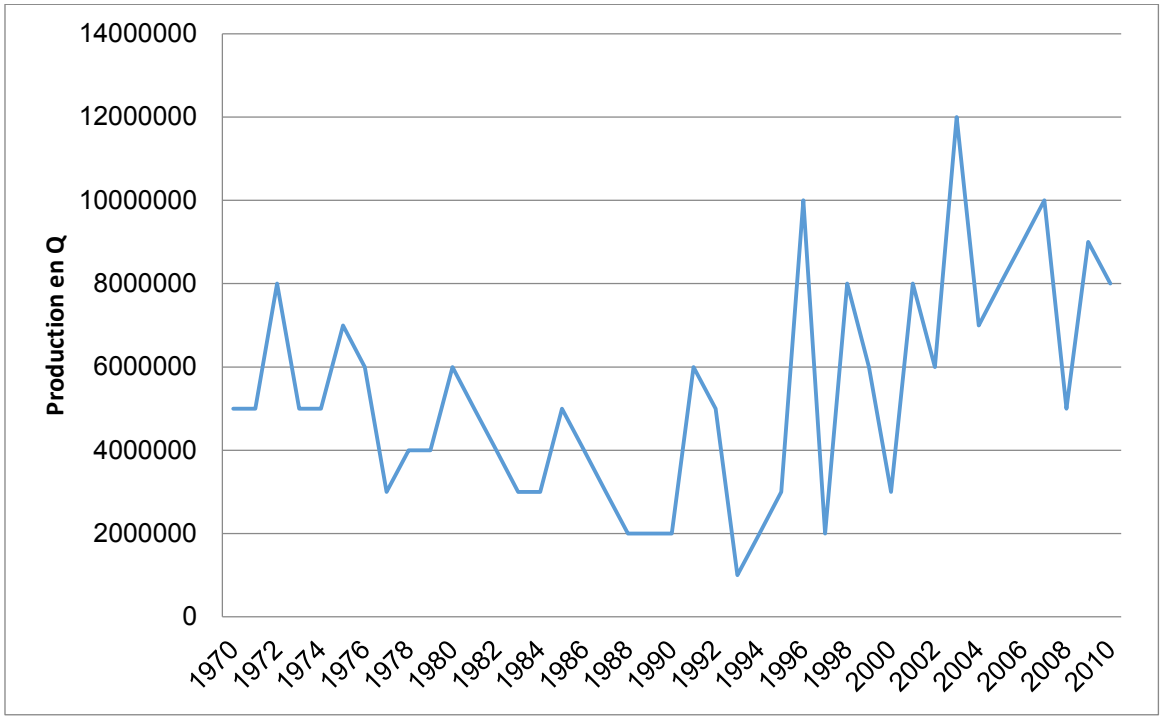


Figure 4 : La production de blé tendre en algérie (MADR, 2010)



a Variété ARZ | Mahon demias | c Tuzelle de bel-abbes

Figure 5 : Morphologie de l'épillet de différentes variétés de blé tendre d'Algérie (C.N.C.C.S., 2009)

II. Industrie de minoterie

1. Farine

La farine est le produit obtenu à partir des grains de blé tendre après mouture et broyage dans lesquels le son et le germe sont partiellement éliminés et le reste réduit en poudre suffisamment fine.

La farine de blé tendre est constituée majoritairement de polymères glucidiques (amidon et pentosanes), d'eau, de protéines (hydrosolubles et insolubles), et de lipides (Tab.2). La farine ne comporte pas d'arômes volatils, mais les enzymes endogènes vont générer des précurseurs de composes d'arômes (Boudreau et Menard , 1992).

Il existe actuellement plusieurs types de farine allant de T45 à T150, qui sont classée par rapport au La classification taux de cendre ou matières minérales (Tab.3). Cette différenciation est basée principalement sur la notion de pureté ou de blancheur, et ne correspond pas à une notion de valeur technologique même si le travail des pâtes est plus aisé avec des farines blanches qu'avec des farines bises et complètes (Romain et *al*., 2007).

Tableau II : Composition biochimique de la farine (Atwell , 2001)

Constituants	matières sèche de la farine en %
Amidon	63-72
Protéines	7-15
Eau	13-16
Sucres	4.5-5
Matières grasses	1-2
Matières minerals	0.4-0.5

Tableau III : Les différentes types de la farine selon leur taux en cendre (ROUSSEL , 1991)

Dénomination	Taux d'extraction	Taux de cendre
Type 45	68% à 70%	Au dessous de 0.5
Type 55	75%	De 0.5 à 0.6
Type 65	78% à 80%	De 0.62 à 0.75
Type 80	85%	De 0.75 à 0.90
Type 110	88% à 90%	De 1.0 à 1.20
Type 150	95%	Au dessus de 1.40

2. Fabrication

La fabrication de la farine se fait en plusieurs étapes:

Réception: Lors de l'arrivée du blé du lieu de stockage à l'unité de la minoterie, plusieurs operations sont effectuées. IL s'agit de:

- Contrôle du poids à son arrive s'effectue au moyen d'une pont bascule automatique.

- Déchargement du grain de blé sur les trémies placées à proximité des cellules de stockage.
- Contrôle de la qualité du grain de blé par des analyses organoleptiques, physico-chimiques.

Pré nettoyage: C'est une opération préliminaire qui consiste à une déchargement le blé dans la trémie dans une grille (tamis de diamètre 6cm) retient la grosse impureté(pierres, pigeon mort), afin d'éliminer certaines impuretés dans le lot de blé réceptionné. Par la suite un séparateur nettoyeur aspirateur travaillant à fort débit pour éliminer les grosses et les fines impuretés.

Nettoyage: Il Consiste à enlever tous les corps étrangers (cailloux, petits grains, céréales étrangères,...) par l'utilisation d'un tamis et une circulation d'air (petites pierres, paille) ou par des cylindres (particules métalliques). A la fin du nettoyage, le blé est stocké dans des silos.

Conditionnement: Le conditionnement revêt d'une grande importance dans le traitement du blé, il consiste à mouiller les grains de blé pour permettre une absorption de l'eau par le grain et une répartition de l'eau absorbée à l'intérieur du grain pendant la période du repos afin de permettre une diffusion rapide de l'eau dans l'albumen et enveloppes, le but de conditionnement est de modifier l'état physique de grain afin d'obtenir la meilleur séparation possible entre l'amande de grain et son enveloppes (Clavel , 1980).

Broyage: C'est l'opération de réduction de la dimension par mise en jeu d'énergie mécanique (Bourson , 2009). Il s'agit soit d'un cisaillement, choc ou compression afin de détacher plus ou moins complètement l'amande qui se brise alors que les enveloppes, plus élastiques, résistent. Il est réalisé entre des cylindres cannelés tournant en sens inverse et à des vitesses différentes. A ce stade le germe est considéré comme un produit (Bourson , 2009).

Claquage: Au niveau de cette étape, c'est le semoule qui se produit après une opération de broyage entre des cylindres lisses pour les transformer en les fins finots.

Tamisage: Appelé aussi blutage, il permet de séparer les produits en provenance des cylindres lisses et des cylindres cannelés en fonction de leur granulométrie. L'opération est réalisée dans des plansichters, machines formés d'un assemblage de tamis superposée et soumis à un mouvement de rotation et de va-et-vient permanent sous l'action d'un moteur excentrique.

Convertissage: Le convertissage est effectué dans des machines à cylindres lisses, respectivement des convertisseurs et des claqueurs et les fins finôts de broyage en farine par des cylindres lisses au dernier convertisseur.

Sassage: C'est une opération qui permet de classer selon la densité les particules d'amande de provenance et de dimension différentes. Pour le blé tendre le sassage consiste à l'élimination des soufflures (épicarpe : pellicule translucide qui se détache du son) on parle alors d'épuration, pour cela, il faut épurer les semoules destinés à C4, éventuellement à C5 (Bourson, 2009).

Emballage et étiquetage: Cette étape ce faite à l'aide des tapie roulant qui sert transporté la farine, le blé et le son des silos de stockage vers la main d'œuvre après vers les machines qui servent à graver les sachets. Les farines doivent porter sur les sacs les mentions suivantes : **Nom et adresse du meunier, Dénomination de vente, Type de farine (T45, T55,T65,…)**, **Date limite d'utilisation optimale : DLUO, Le poids pure de farine** et **La liste des produites et améliorants utilisés.**

Stockage et conditionnement: La farine est stockée en vrac dans des silos (en béton). Ils sont dotés généralement de systèmes de contrôle de la température qui est un facteur majeur affectant la qualité des grains durant le stockage. Les silos sont constitués de plusieurs cellules cylindriques mesurant 30m et plus de hauteur, ils sont hermétiquement fermés à leurs parties supérieures. A la base une goulotte métallique formée par un clapet permet la vidange et une tuyauterie est prévue pour d'éventuelles fumigations. Après, La farine est commercialisée en sac, elle doit reposer de cinq à quinze jours avant d'être livrée au boulanger et peut être transportée en sac de 50 kg par camion (Minoterie Tafna.2017).

III. Fungi

1. Définition

Le règne de Fungi , appelé aussi Mycota ou mycètes, est composé d'un nombre estimable de presque un million d'espèces ; avec seulement 14% de ces organismes ont été découverts (Hawksworth et Rossman 1997 ; Hawksworth 2001). Il constitue un large groupe diversifié, composé d'organismes unicellulaires (Levure), pluricellulaire (Moisissures) et des macromycètes (champignons supérieurs) qui possèdent des parois cellulaires mais à la différence de celles des plantes, elles sont composées de chitine et non pas de cellulose, la principale forme de stockage des glucides est le polysaccharide glycogène (Indge 2004).

Historiquement, sur la base d'analyses morphologiques, l'ensemble des champignons était réparti en cinq ordres. Selon le mode de reproduction sexuée, quatre de ces ordres ont été définis : les Chytridiomycètes, les Zygomycètes, les Basidiomycètes et les Ascomycètes.

Cependant, certaines moisissures, souvent ou exclusivement rencontrées à des stades de multiplication asexuée, ont été regroupées dans l'ordre des Deutéromycètes ou Fungi imperfectif. Récemment, des études phylogéniques, basées sur l'analyse de plusieurs gènes (James et al. 2006 ; Hibbett et al. 2007), ont créé une nouvelle classification du règne des Eumycota (Fig.6).

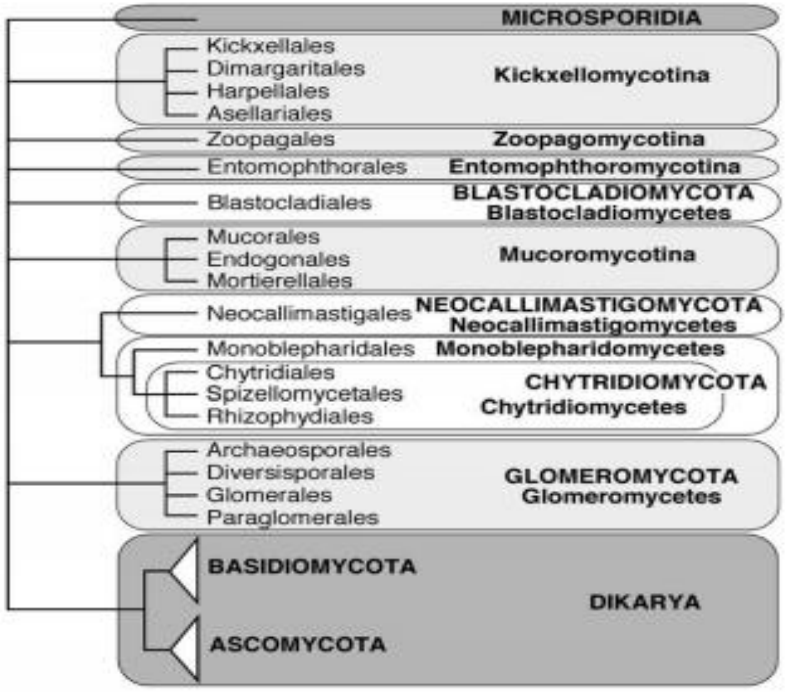


Figure 6 : Phylogénie et classification des champignons basés sur l'analyse de plusieurs gènes (Hibbett et al. 2007).

2. Moisissures

2.1. Caractéristiques générales

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux, hétérotrophes et immobiles. Le terme familier de « moisissures » fait généralement référence à leur texture laineuse, poudreuse ou cotonneuse, qui peut être observée à l'oeil nu sur diverses substrats vivantes, mortes ou inertes.

La structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryotes classique (Nicklin et al.,2000). Ils peuvent être saprophytes s'ils se développent sur de la matière organique inerte ou parasites s'ils se développent sur du vivant. Certains sont symbiotiques car ils vivent en association à bénéfice réciproque avec d'autres organismes.

Les moisissures possèdent un appareil végétative constitué par un thalle filamenteux appelé mycélium dont les filaments sont appelés hyphes. Le mycélium peut différencier des organes variés selon les groupes, spécialisées dans la multiplication et la dissémination ; il s'agit de spores (Bourgeois ,1989). Les spores peuvent avoir une origine sexuelle ou végétative. Les spores d'origine sexuelle résultent d'une fécondation ou d'une méiose alors que les spores végétatives résultent d'une mitose et sont nommés conidies.

Les moisissures sont aérobies, en général, acidophiles (pH compris entre 3 et 7) (Nicklin et al., 2000) et mésophiles (température optimale 20-30°C) (Botton et al., 1990). Cependant, certaines espèces sont psychrophiles). Elles ont, en générale, un faible besoin en eau par rapport à d'autres microorganismes (aw= 0.65) (Boiron , 1996). Elles sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes (cellulolytique, pectinolytique, amylolytique, protéolytique, lipolytique, etc…) qui en font des agents de dégradation dangereux mais aussi parfois des alliés utiles (affinage des fromages, production d'enzymes).

2.2. Cycle de vie

Le cycle de vie des moisissures (Fig.7) commence lorsque les conditions du milieu extérieur sont favorables, les moisissures produisent, à maturité, des spores qui peuvent être transportées par les courants d'air ou par les humains et les animaux. Ces spores sont une forme latente et permettent aux moisissures de résister à des conditions extrêmes (le gel, les feux ; le processus de digestion et les grandes sécheresses).

Le cycle de vie des moisissures en milieu intérieur débute par la germination, qui se déclenchera par la présence d'eau combinée ou non à certains facteurs très spécifiques comme l'intensité lumineuse, certaines températures ou types d'éléments nutritifs. La spore germera alors et donnera naissance à un premier filament non différencié, appelé hyphe, qui s'allongera pour former un ensemble appelé mycélium. Cet ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, constitue le thalle des champignons. En présence de conditions favorables à la sporulation, le mycélium donnera naissance à des structures plus spécialisées, qui produiront des spores asexuées (conidies) ou, plus rarement, des spores sexuées. Chaque moisissure produit un très grand nombre de spores dont l'ensemble, appelé sporée, se présente très souvent sous un aspect poudreux et coloré à la surface de la moisissure. La taille, la forme et la couleur des spores de moisissures varient grandement d'une espèce à l'autre. Par contre, en microscopie, toutes les spores d'une même espèce sont de couleur, de dimension et de forme relativement constantes ce qui, dans bien des cas, constitue un élément d'identification taxonomique.

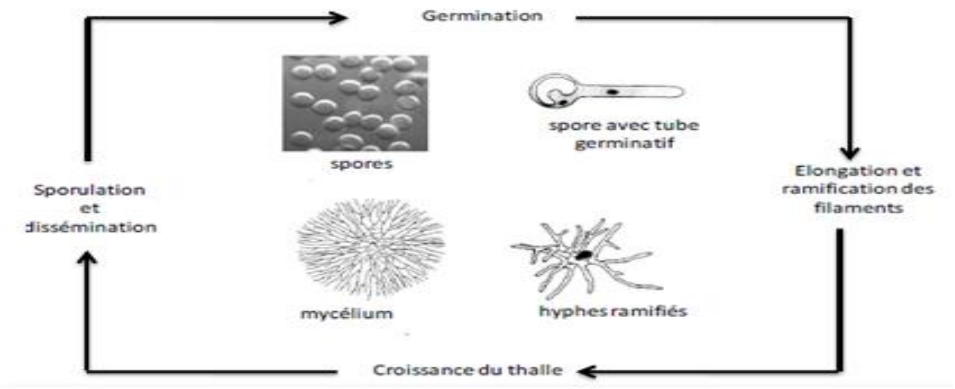


Figure 7 : Cycle de vie des moisissures.

2.2. Classification

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent en diverses familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) et le mode de reproduction. La classification de Hawksworth, modifiée par (Kwon Chung et Bennett ,1992), est la plus utilisée actuellement. Quatre divisions sont distinguées, il s'agit de :

Deutéromycètes : Également appelés champignons 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). Ces moisissures constituent la majeure partie des Hyphales ; elles sont classées en fonction des caractéristiques des organes conidiens et du mode de groupement des hyphes. Le groupe des Deutéromycètes contient un grand nombre de contaminants de végétaux et de produits alimentaires : Trichoderma, Cephalosporium, Fusarium, Geotrichum, cette classe regroupe aussi les Penicillium et les Aspergillus (Frazier , 1967). montre des exemples de quelques genres appartenant à ces différentes classes.

Zygomycètes: Ces moisissures possèdent un thalle mycélien non cloisonné et des organes de reproduction sexuée (Guiraud , 1998). La famille la plus importante dans cette classe est celle de Mucorales qui comprennent un grand nombre de moisissures saprophytes mais aussi quelques espèces parasites des champignons, des animaux et des hommes (mucormycoses) et surtout des contaminants de nombreux produits alimentaires (Leveau et Bouix , 1993 ; Boiron 1996). Certaines Mucorales sont parfois utilisées industriellement en raison de leurs activités enzymatiques (amylase, protéase…) comme Rhizopus et Mucor (Guiraud , 1998).

Ascomycètes: Elles sont définies comme des champignons à thalle mycélien cloisonné, dont le mode de reproduction est sexué avec des spores endogènes (ascospores). Cette classe regroupe de nombreux parasites des végétaux mais aussi de nombreuses moisissures (Guiraud 1998). Elles sont cependant plus particulièrement nombreuses dans l'ordre des Eurotiales, des Microscales et des Sphaeriales. Dans cette classe, le genre le plus connu est Endothia et Neurospora.

Basidiomycètes : Elles regroupent seulement certaines moisissures parasites. Elles sont caractérisées par un thalle à mycélium septé et une reproduction sexuée avec la formation de spores exogènes (basidiospores), c'est le cas de Agaricus et Coprinus (Botton et al., 1999).

Les genres les plus importants de point de vue économique et médical sont les *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium* qui représentent les dominants de la flore des moisi.se sont les contaminants les plus fréquents des aliments, ils se trouvent principalement dans les céréales, mais aussi dans de nombreux autres produits végétaux et d'origine animale.

2.2.1. Aspergillus

Le genre Aspergillus fait partie du phylum des deutéromycètes. Il comprend environ 185 espèces devisé en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches (Raper et Fennell, 1965; Botton *et al*., 1990; Roquebert, 1998). Ils sont tous des saprophytes capables de se développer dans la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires et les céréales. (Morin , 1994) et sur les d'autre végétaux malades. Ils colonisent des plantes déjà endommagées par des blessures, des piqûres d'insectes ou des attaques d'autres champignons. Mais ils sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (Castegnaro. et Pfohl-Leszkowicz , 2002). Dans de mauvaises conditions de stockage, ces champignons peuvent évoluer et devenir des parasites. La température optimale de croissance des Aspergillus se situe le plus souvent entre 25°C et 40°C. De ce fait, leur distribution est plutôt tropicale et subtropicale.

Les Aspergillus sont caractérisés sur le plan morphologique par la présence de conidiophores dressés, terminés par une vésicule supportant, soit une seule rangée de phialides (structure unisériée), soit une rangée de phialides et une rangée de cellules sous-jacentes appelées métules (structure bisériée). Les phialides et les métules sont également dénommées stigmates (Fig.8) (Badillet *et al*., 1987) Les conidies produites en grand nombre par les phialides donnent, à la tête conidienne, un aspect radié si les stérigmates couvrent l'ensemble de la vésicule, ou une apparence en colonne si seule la partie supérieure de celle-ci est fertile.

Les espèces appartenant au genre *Aspergillus* ont la capacité de provoquer des maladies aussi bien que chez l'homme et les animaux (aspergillose pulmonaire, allergies ou mycotoxicoses). Seulement 40 espèces sont soupçonnés d'être l'origine de processus infectieux ; mais le nombre est beaucoup plus important. Cependant ils sont aussi capables de produire des acides organiques et des pigments utiles en alimentation et en industrie (Schuster et al., 2002).

2.2.2. Penicillium

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (Fig.8) (Pitt, 1988). L'aspect du conidiophore qui est divisé en articles rappelant ainsi la forme d'un pinceau (Fig. 8) d'où le nom Penicillium (Champion 1997). Comme dans le cas des *Aspergillus*, les spores asexuées ou bien les conidies ou conidiospores sont synthétisé par bourgeonnement (Larpent et Laprent-Gouraud, 1990).

Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, ils sont ubiquitaires, saprophytes et opportunistes, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost et les céréales (Pitt et Hocking, 1991). Les espèces du genre *Penicillium* se développent normalement dans des milieux ou l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus*, à des températures plus basses, ce que fait d'eaux des contaminants fréquents des régions tempérées.

2.2.3. Fusarium

Le genre Fusarium est composé de champignons cosmopolites appartenant au phylum de Deuteromycota; et regroupe près de 40 espèces largement répondues dans la nature et vivants en saprophytes. Ils se caractérisent par la forme de ces macro conidies qui est fusiforme et cloisonnées, d'où le nom Fusarium qui vient de « *fusus*» qui indique fuseau (Fig.8).

Certaines espèces sont phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines contaminants les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves (mycotoxicoses) chez les herbivores (Chabasse *et al.*, 2002). Les fusarioses participent à la réduction du rendement et de la qualité des grains en compromettant la valeur (Abramson *et al.*, 2001).

Les champignons du genre *Fusarium* appartiennent aux hyalo-hyphomycètes et présentent un mycélium septé et incolore. En culture, les colonies présentent souvent des nuances roses, jaunes, rouges ou violettes. Les cellules conidiogènes se forment sur des hyphes aériens ou

sur des conidiophores courts et densément branchés (Fig.9). Les conidies sont de trois types : macroconidies, microconidies et blast conidies (Fig.8)

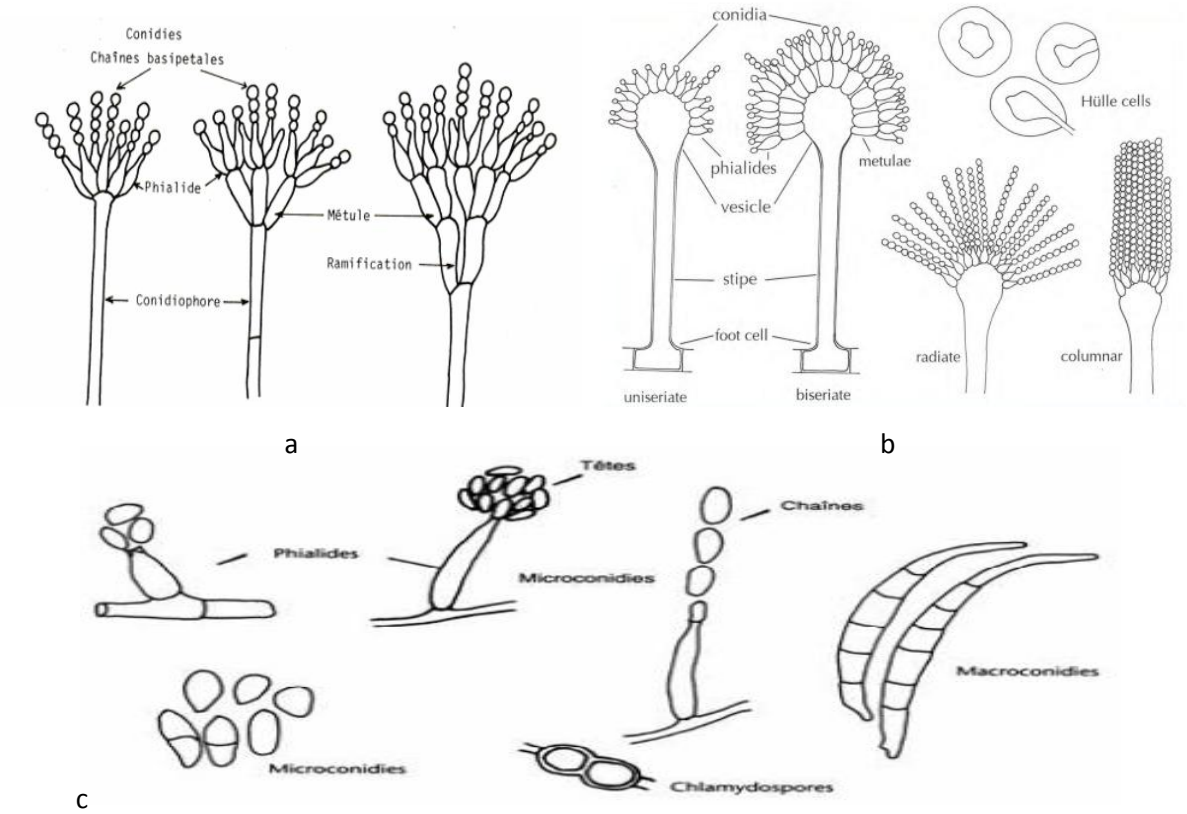


Figure 8 : Caractéristiques morphologiques des têtes d'Aspergillus (a) et Penicillium (b) et Fusarium (C) (Tabuc., 2007).

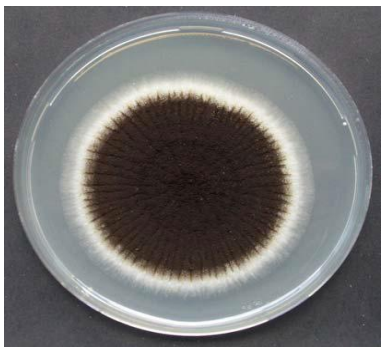
		
Aspergillus niger	*Penicillium*	*Fusarium*

Figure 9 : Aspects morphologiques des colonies.

3. Utilisation

Grace à la capacité des moisissures à produire une grande diversité de molécules produits au cours des métabolismes primaire ou secondaire ils jouent un rôle primordial dans divers

domaines (Alimentaire, chimique, pharmaceutique,), et peuvent aussi présenter un risque sur la santé humaine.

Leur intérêt industriel basé sur leur activité biologique dans la production d'une grande diversité de molécules produites au cours des métabolismes primaires et secondaires, exploitées en particulier par l'industrie pharmaceutique et en médecine (Larpend-Gourgaud et Sanglier,1992).

3.1.Intérêt alimentaire

Les champignons filamenteux sont des producteurs importants d'acides organiques comme l'acide gluconique, l'acide malique, l'acide acétique et l'acide citrique (Leveau et Bouix, 1993 ; Boiron, 1996). il est notamment produit par *Aspergillus niger*, où 60% de sa production est destinée au secteur alimentaire (Botton et *al.*, 1999).

La production de biomasse peut être une source importante pour l'alimentation animale et même humaine, en servant de complémentation des produits céréaliers. Quelques espèces fongiques ont un grand usage, c'est le cas d'*Aspergillus niger*, de *Fusarium graminearum* et de *Trichoderma harzianum* (Botton et *al.,* 1999 ; Larpent- Gourgaud et Sanglier, 1 992 ; Delgado-Jarana et *al.,* 2002).

3.2. Intérêt chimique

Il s'agit essentiellement de l'utilisation des protéases alcalines d'*Aspergillus oryzae* et de *Stachybotrys chartarum* dans les détergents (Miller, 2002).

La production de cellulase par *Aspergillus niger* et *Trichoderma harzianum* présente une diversité d'applications industrielles, où 48% de sa production par ces deux espèces fongiques et le genre *Penicillium* est utilisée pour l'industrialisation des papiers et les textiles (DelgadoJarana et *al.,* 2002).

Certains genres fongiques tels que *Aspergillus, Mucor* et *Penicillium* sont capables de synthèse des lipides en quantités importantes et constituent une source potentielle d'utilisation chimique (Botton et *al.,* 1999).

En biolixiviation seules les bactéries présentent un intérêt industriel. Cependant, certaines moisissures possèdent d'intéressantes propriétés ; *Aspergillus ochraceus, Penicillium funiculosum* et *Rhizopus arrhizus* sont capables d'absorber de l'uranium du minerai. Les milieux de culture carencés en facteurs de croissance et en sels minéraux, diminuent le taux

de croissance, mais stimulent ce phénomène (Boiron, 1996 ; Larpent Gourgaud et Sanglier 1992 ; Botton et *al.,* 1999).

3.3.Intérêt pharmaceutique

La production industrielle en vitamines se limite à une partie de la synthèse de la riboflavine produite spécialement par *Eemothecium ashbyii* cultivé en milieu agité et supplémenté en lipides. La vitamine A pourrait faire l'objet d'une production microbiologique par les champignons notamment les espèces de l'ordre des mucorales (Botton et *al.,* 1999). Les champignons filamenteux sont des grands producteurs d'antibiotiques tel que la pénicilline synthétisé par le genre *Penicillium* et la céphalosporine produite par *Cephalosporium* (Larpend- Gourgaud et Sanglier, 1992 ; Botton et *al.,* 1999). Cependant les acides organiques d'origine fongique n'ont pas une application pharmaceutique importante.

3.4.Intérêt médical

Les premiers produits d'origine fongique en médecine sont les alcaloïdes de l'ergot de seigle (ergotamine), utilisés en gynécologie et pour diverses autres indications (Boiron, 1996 ; Botton et *al.,* 1999).

La découverte de la cyclosporine, puissant agent immunodépresseur, puis la mise en évidence de corrélation entre l'activité de certaines enzymes et diverses pathologies ont permis de donner un grand essor aux sciences médicales et pharmaceutiques (Botton et *al.,* 1999).

4. Effets

4.1. Denrées alimentaires

Les champignons filamenteux sont des agents actifs de dégradation de nombreux produits alimentaires, provoquant des changements d'aspect et des altérations organoleptiques.

De ce fait, elles créent une bonne flore indicatrice de la qualité générale des produits d'origine végétale notamment le blé. Leur développement sur celui-ci peut engendrer des odeurs de moisi qui se retrouvent ensuite dans le pain et une modification des propriétés plastiques des pâtes (Portelli .1999).

Quand les grains sont récoltés humides, insuffisamment séchés ou lorsqu'elles prennent de l'humidité pendant le stockage, les *Aspergillus et pénicillium peuvent* évoluer rapidement et

se changent de saprophytes en parasites et entrainent une baisse importante de la faculté germinative sur les semences (Champion, 1997).

Certain genre fongique comme *Fusarium* sont des phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines contaminants les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses) (Chabasse *et al.*, 2002). Ils réduisent le rendement et la qualité des céréales et compromettent la valeur boulangère du blé, elles ont besoin d'une humidité élevée pour chasser (Abramson *et al.*, 2001).

4.2. Santé humaine

Les effets des champignons sur la santé des occupants sont fonction du mode et de l'importance de l'exposition, de la nature de l'agent en cause et de la susceptibilité des individus exposés (état de santé, âge, etc.). Des effets irritatifs, immunologiques, infectieux et toxiques ont été reportés (Fischer et Dott, 2003).

IV. Mycotoxines

1. Définition

Le terme Mycotoxine provient du grec ancien « Mycos », qui signifie champignon, et du latin « Toxicum » signifiant poison. Les mycotoxines sont des métabolites toxiques raffinées par des champignons. Il subsiste des centaines de mycotoxines différentes qui diffèrent de par leur composition chimique et leurs effets sur les animaux et l'homme. Elles sont produites lors de quatre processus différents. Elles sont produite lors du métabolisme secondaire fongique ou de la bioconversion de composés végétaux (ex : dicoumarol), soit aussi suite à une réaction de la plante à des agressions (ex : coumestrol) ou issues de l'association plante-champignons (cas des champignons endo phytes).

L'origine chimique des mycotoxines est très diverses certaines dérivent, des acides aminés (alcaloïdes de l'ergot, acide aspergillique, acide cyclopiazonique, slaframine, gliotoxine, roquefortine, sporodesmine), des polycétoacides (aflatoxines, ochratoxine, patuline, citrinine. acide pénicillique, stérigmatocystine, zéaralénone), des dérivés terpéniques (diacétoxyscirpénol, fusarénone, désoxynivalénol, roridines, toxine T-2, verrucarine) ou encore des dérivés d'acides gras (fumonisines, alternariol) (Pfohl-Leszkowicz. 1999).

2. Catégories

Les mycotoxines sont produites dans les matières alimentaires, leur décontamination est très difficile. Ces molécules ne sont pas écroulées au cours d'un stockage prolongé et sont souvent

résistantes aux traitements thermiques ou chimiques (Cahagnier et al., 1998).L'ochratoxine, l'aflatoxine, la patuline, la citrinine, la fumosine et les trichothécènes sont les mycotoxines les plus communément retrouvées dans les produits alimentaires (Reboux, 2006). Les principales mycotoxines savent être produites par 5 types de champignons : *Aspergillus,Penicillium, Fusarium, Claviceps et Alternaria* .Compte tenu de leurs propriétés toxiques chez l'homme et l'animal et de leur fréquence de contamination des matières premières et des aliments, les mycotoxines les plus importantes sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, les fumonisines, les trichothécènes et la zéaralénone (Tab.IV).

2.1. Les Aflatoxines

Les Aflatoxines sont des métabolites secondaires des moisissures connues pour être directement toxiques et potentiellement cancérogènes. Elles ont été détectées dans diverses denrées alimentaires et sont actuellement considérées comme l'un des contaminants les plus dangereux de l'alimentation . Trois espèces d'*Aspergillus* sont connues pour leur capacité à synthétiser des aflatoxines. *A. flavus* produit principalement l'aflatoxine B1 et l'aflatoxine B2, *A. parasiticus*, produit les 4aflatoxines (B1 ; B2, G1, G2) et *A. nomius*, une souche rare, proche de *A. flavus*, est capable de produire des aflatoxines (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz 2002).

2.2.Ochratoxines

Les ochratoxines sont produites par diverses moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Parmi les 9 ochratoxines décrites, seule l'ochratoxine A et dans une moindre mesure la B présente un risque de toxicité. Elle est synthétisée par la voie des polycétoacides (Bejaoui, 2014). L'ochratoxine A (OTA) a été découverte pour la première fois chez *A.ochraceus* (Van der Merwe *et al*., 2001). Elle est produite par deux genres fongiques : *Aspergillus* (*A. ochraceus, A. cabonarius, A. niger,* etc.) et *Penicillium* (*P. verrucosum, P. nordicum,* etc.). Le genre *Aspergilllus* est bien adapté pour les climats chauds alors que *Penicillium* se développe bien dans les climats tempérés. C'est pour cette raison que la présence d'OTA a été détecté dans de nombreux produits agricoles de différentes régions du monde.

2.3. Trichothécènes

Ce sont des métabolites fongiques connus pour contaminer les grains stockés de blé, le maïs, l'orge ,l'avoine et aussi d'autres produits agricoles (Ueno.1977). La production de trichothécènes dépend de la température et de l'activité de l'eau. Elles sont produites par *Fusarium tricinctum, F. sporotrichioides, F. poaea* pour le type A et *F. graminearum, F.*

tricinctum, *F. nivale*, *F. culmorum* pour le type B. Parmi la dizaine de molécules qui peuvent contaminer les aliments, seules trois sont fréquentes : le désoxynivalénol (DON), la Toxine et le diacétoxyscirpénol (DAS).

2.4.Fumonisines

Les fumonisines sont un groupe de mycotoxines récemment caractérisées chez quelques espèces de *Fusarium*, notamment *F. moniliforme*, infectant les cultures de céréales dans des conditions climatiques particulières. La fumonisine B1 est la plus abondante dans les aliments dérivés destinés au bétail et à l'homme (Ducret. 2000).

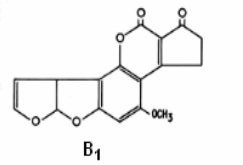
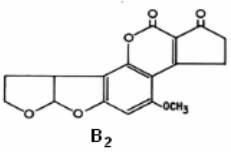
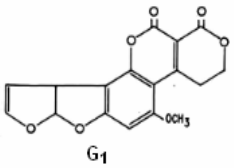
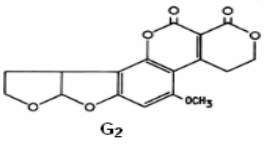
2.5. Zéaralénone

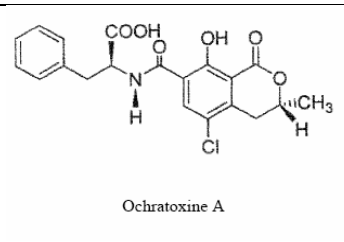
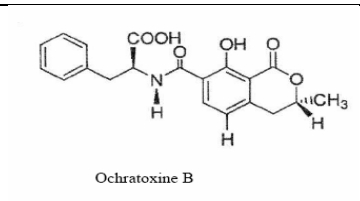
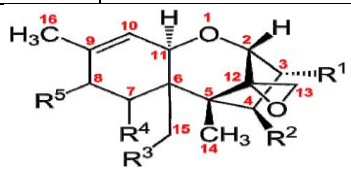
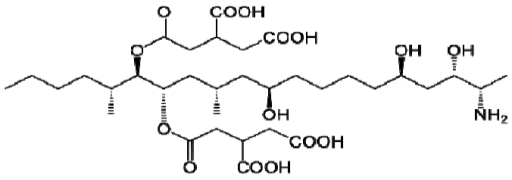
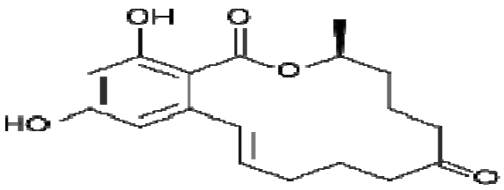
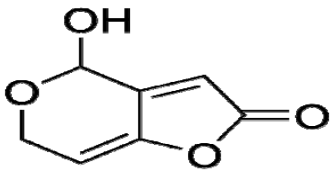
De plus elle est produite par *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* et *F. crookwellense* qui sont des contaminants fréquents des aliments. L'occurrence de ces toxines est favorisée par l'élévation de la teneur en eau et la diminution de température. Des concentrations élevées de zéaralénones ont été mesurées dans le blé stocké dans des conditions humides (Agag , 2004).

2.6. Patuline

Elle est produite principalement par *Penicillium expansum* et dans une moindre mesure par *Aspergillus clavatus* et *Byssochlamys nivea*. Ces moisissures peuvent se développer dans des atmosphères confinées contrairement à la plupart des champignons microscopiques. (Chotia, 1999).

Tableau IV : Structure chimique princépaux types des mycotoxines

Mycotoxines		
Aflatoxines	 B_1	 B_2
	 G_1	 G_2

Ochratoxines	 Ochratoxine A	 Ochratoxine B
Trichothécène		
Fumonisine		
Zéaralénone		
Patuline		

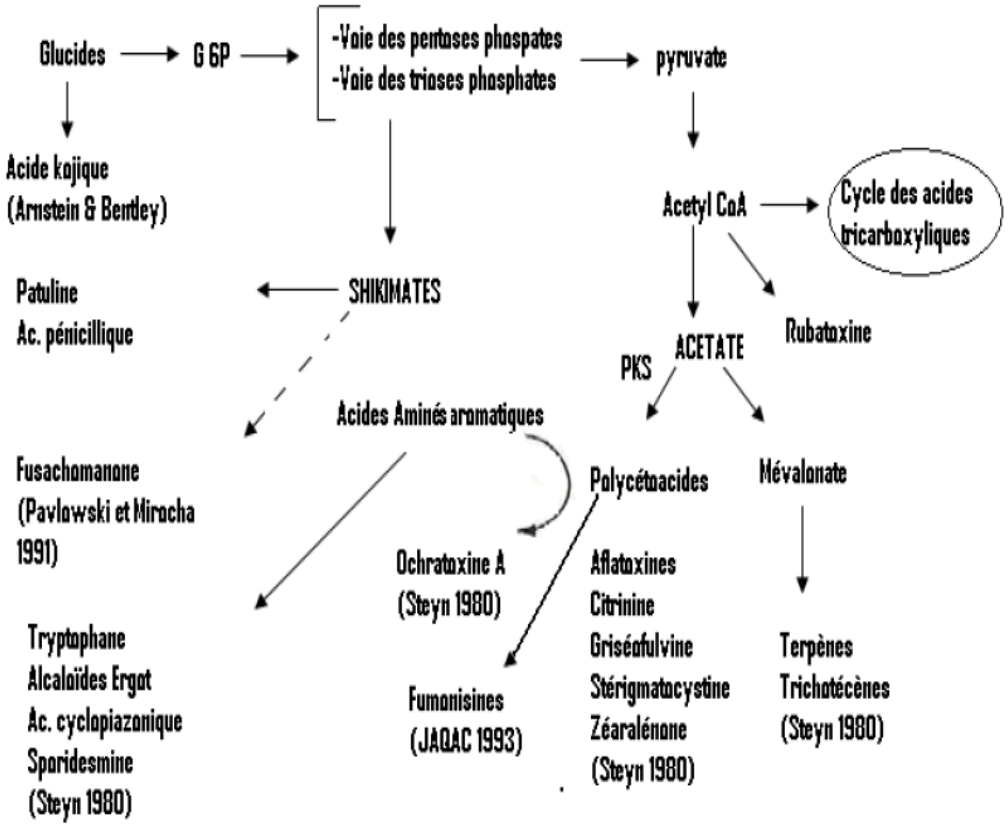


Figure 10 : Biosynthèse de quelques mycotoxines (Tabuc. 2007).

3. Facteurs influençant la production des mycotoxines

La production des mycotoxines dépende d'un ensemble de facteurs qui sont intrinsèques, c'est-à-dire liés au champignon producteur et à des facteurs externes liés à l'environnement.

3.1. Facteurs intrinsèques

Aucune relation directe entre espèce fongique et mycotoxine n'a été distinguée, mais il a été déjà démontré qu'une même molécule peut-être produite par plusieurs espèces fongiques dépendant à des genres différents. Par exemple, *l'ochratoxine A (OTA)* est produite par *Penicillium nordicum, P. verrucosum* , *Aspergillus ochraceus* (Van der Merwe *et al.*, 2001), *Aspergillus niger* (Abarca *et al*., 1994) et *Aspergillus carbonarius* (Horie , 1995). Parmi les espèces renommées toxinogènes, toutes les souches n'ont pas nécessairement la capacité à produire la (les) mycotoxine(s), c'est-à-dire que certaines souches sont strictement productrices de toxines alors que d'autres le sont mais à des degrés inférieur ou bien non toxinogènes (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz. 2002).

Cependant, certaines mycotoxines sont étroitement jointes à certaines espèces fongiques : aflatoxines *(A. flavus et A. parasiticus)*, sporidesmines *(Pithomyces chartarum)* (Fitzgerald *et al*., 1998). La toxinogénèse d'un champignon ainsi que la quantité produite dépendent de la souche *(polymorphisme génétique)* et du stade de développement de la mycète (Blumenthal. 2004).

3.2. Facteurs extrinsèques

Les facteurs extrinsèques ou environnementaux simulant la production de mycotoxines sont d'origine chimique, physique et biologique (Mitchell *et al*., 2004). Cependant, ces facteurs créent rarement d'une façon indépendante (Lacey 1986) et leurs interactions sont habituellement plus importantes que l'effet d'un facteur simple.

3.2.1. Facteurs qui affectant la production des mycotoxines

Les deux facteurs physiques essentiels qui influent la croissance et la production de mycotoxine sont la température et l'humidité (Mitchell et *al.*, 2004).

3.2.1.1 Activité de l'eau

L'activité hydrique nécessaire à la toxinogénèse est supérieure à celle admettant la croissance fongique (Pfohl-Leszkowicz., 2001). La formation des aflatoxines par *Aspergillus flavus* nécessite une valeur d'aw comprise entre 0,83 et 0,87 mais la croissance du microorganisme peut avoir lieu à des valeurs d'aw plus basses (Troller. 1980)**.**

3.2.1.2 Le pH

Comme pour l'aw, la gamme de pH permettant la toxinogénèse est plus restreinte que celle permettant la croissance fongique. En effet (Keller *et al,*. 1997) ont démontré que la production de fumonisine B1 est maximale à un pH compris entre 3,7 et 4,2.

3.2.1.3 Humidité

La disponibilité en eau à une influence déterminante pour les différentes mycotoxines y compris les aflatoxines, elle est compris entre 15 et 16 % et les toxines peuvent être synthétisées même à 8 % dans le cas d'aflatoxines B1, le cas des grains secs ou fruits à coque séchés.

Alors que pour des teneurs en eau élevées (céréale humides) la toxinogénèse est plus faible à cause du défaut d'oxynogénation résultant du tassement de la denrées et de la moindre diffusion des gaz .

3.2.1.4 .Teneur en eau

La teneur en eau (communément « humidité ») de la substrat rend compte de l'hydratation d'un produit. Elle s'exprime en gramme d'eau rapportée à 100 g de substance humide. En effet, les champignons de champs adjurent typiquement une haute teneur en humidité dans le substrat(22-25 %) par rapport aux champignons de stockage (13-18 %) (Samson,R.A. et *al.*, 2005).

3.2.1.5. Température

La température optimale de toxinogénèse est en général voisine de la température optimale de croissance .

3.2.2.Facteur biologiques

3.2.2.1 Prédateurs

Les insectes et les acariens sont des vecteurs de spores de moisissures qu'il induisent à l'intérieure même du grain par des lésions qu'il procréent en effet, la contamination d'arachides,de blé et du mais par *Aspergillus flavus* ou les aflatoxines avant la récolte sont souvent attachées à l'attaque par les insectes (benmansour. 2005) .

3.2.2.2 Mycoflore

L'association d'autres espèces fongiques à une souche toxinogène à généralement un effet déprimé sur la production de toxine pour 2 raison essentielles :

- D'une part , en fonction du contexte écologique , il existe une compétition pour le substrat
- D'autre part ,certain souche peuvent dégrader la toxine (moreau. 1996).

I. Matériel

Notre étude porte sur «Les analyses physico-chimiques et l'étude mycologique et la détection des mycotoxines au niveau de la farine et de blé »a été réalisé simultanément au niveau de l'industrie Agrodiv-Blida et le laboratoire de pédagogie de la faculté des sciences de l'université Dr Yahia Farés –Media-.

1. Échantillonnage

La collecte des différents échantillons nécessaire à la réalisation de cette étude a eu lieu au niveau de l'industrie Agrodiv- Blida-

Les grains de blé que nous avons collecté pour notre étude sont des grains de blé tendre de la variété el hiddab, C'est une variété très connue pour ses bonnes caractéristiques technologiques pour la panification, et autre produits ((I.T.G.C, 2006).

L'échantillonnage des différents produits a été effectué en suivant les étapes du digramme de fabrication de farine (Fig.11).Nous avons retenus pour cette étude : blé réceptionnée, blé mise on d'oeuvre, blé avant b1 et la farine pour la réalisation d'une étude des paramètres physique, chimique et technologique. Les échantillons ont été collectés dans des sachets stérile et puis ont fait l'objet des différents analyses ont niveau du laboratoire d'analyse de l'industrie Agrodiv-Blida .

Pour l'étude mycologique, l'échantillonnage a été réalisé dans les conditions d'asepsie. Avant la collecte des échantillons des récipients en verre ont été préalablement stérilisés par autoclavage (120C/20mn) et avec port des gants. Les échantillons ont été transporté dans les conditions de froid et conservé au froid à 4C (annexe.4). Nous avons réalisé un échantillonnage de la surface au niveau de la salle de stockage afin de vérifier l'état des lieux de stockage par une détermination d'une possibilité d'une contamination mycologique et les conditions physico-chimique impliqué.

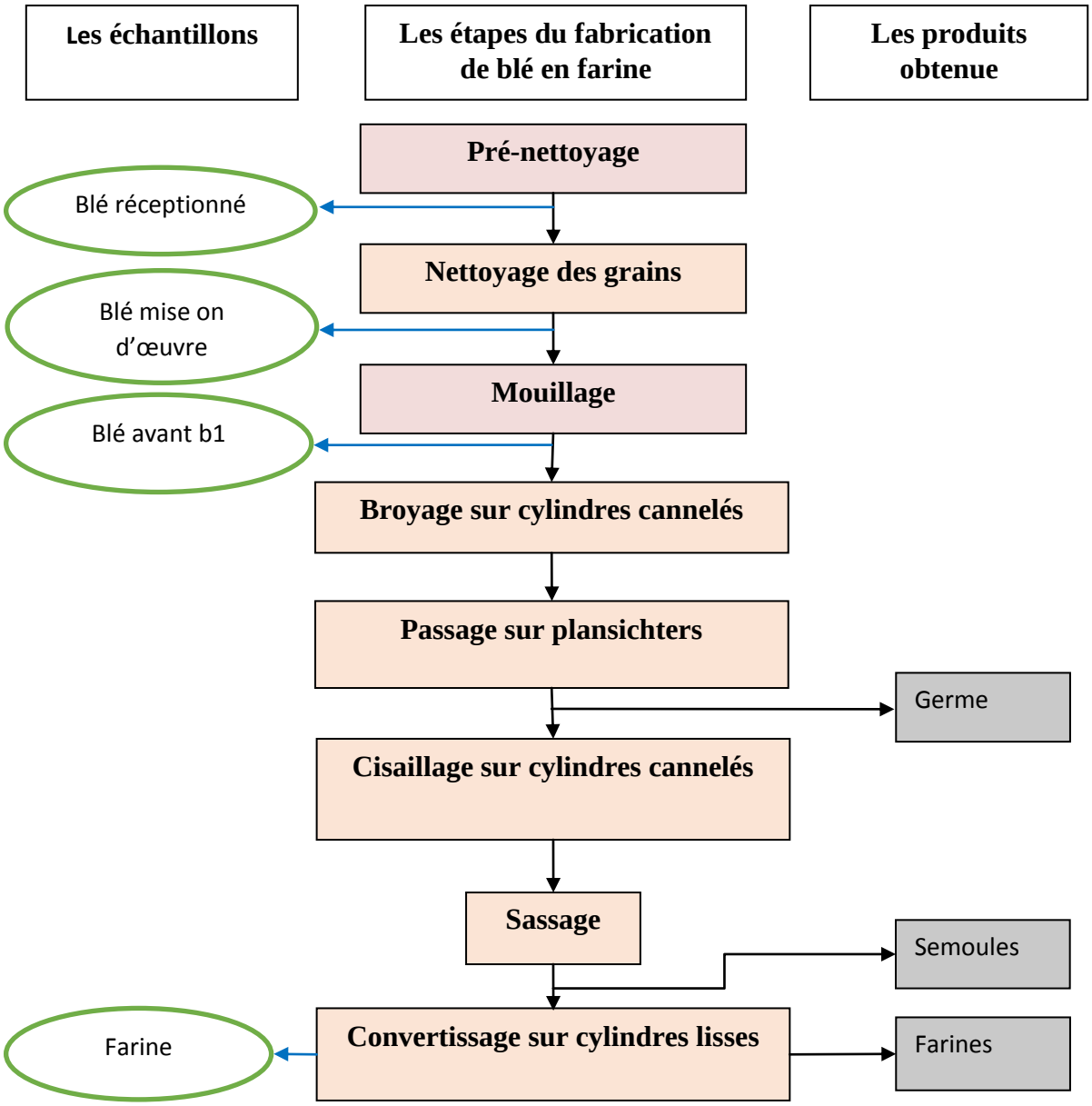


Figure 11 : Diagramme de prélèvement et fabrication de blé en farine dans l'industrie Agrodiv- Blida

2. Analyse physicochimique

2.1. Teneur en eau

La teneur en eau (TE) est définie comme étant la perte de masse, exprimée en pourcentage. Une quantité connue (m_0) du produit (blé réceptionné, blé mise en œuvre, blé avant b1, farine) à analyser a été mise à un séchage (m_1) à une température comprise entre 130°C et 133°C pendant 2 heures, et à pression atmosphérique normale. La teneur en eau est donnée par la formule 1.

Formule 1. TE (%) = 100 x ($m_0 – m_1$) / m_0

2.2. Détermination de taux des cendres

La détermination du taux des matières minérales, principalement réparties dans les enveloppes et les germes, donne une indication sur le taux d'extraction pour le meunier aussi est un moyen utilisé pour contrôlé la pureté de produit (FEILLET. 2000).La détermination des taux des cendre a été réalisée suivant la méthode COORD GROSCLAUDE. Elle repose sur la calcination de 5±0.1g de farine (m_0) à une température de 550°C.

Avant l'incinération, il est nécessaire d'ajouter de l'éthanol 96° au produit pour l'enflammer, après que le produit soit brulé, l'échantillon a été pesé une seconde fois (m_1) après une introduction à l'intérieur d'un four pour une combustion complète pour au minimum 4 heures.

Le taux de cendre (Tc) exprime en pourcentage en masse rapporté à la matière sèche est donné par la formule 2.

Formule 2 : Tc% =100 x (m2-m0)/(m1-m0)

m0 : est la masse, en gramme, de la nacelle vide

m1 : est la masse, en gramme, de la capsule et de la prise d'essai (farine).

m2 : est la masse, en gramme, de la capsule et du résidu (cendre).

H (TE) : est la teneur en eau exprime en % en masse de l'échantillon pour essai(c'est déterminé).

TM : taux de matière sèche

TM% = (TC x 100/100-H)

La différence entre le taux de matière sèche et le taux de cendre est inférieur ou égale 0.2

TM% – Tc% < 0.2

2.3. Détermination de la teneur en gluten

Le Gluten est un composé principal de la fraction protéique des blés, insoluble dans les solutions salines, c'est une substance plastoélastique. Il est considéré comme moyen d'estimation de la qualité de la pâte. Il s'agit de la détermination de la teneur en gluten par méthode de (Mauze.1972).

2.3.1. Gluten humide

Pour mesurer la quantité de gluten humide un pâton a été réalisé avec 10g de farine (m_0) mélangée avec 5ml d'eau salée à 10% de NaCl. Après 10 mn de repos, le gluten a été isolé par lixiviation. La lixiviation consiste à un lavage du pâton sous un mince filet d'eau avec

malaxage afin d'évacuer l'amidon et les matières solubles dans l'eau. Le gluten obtenu a été essoré puis pesé (m_1).

La teneur en gluten humide (GH) est exprimée en pourcentage de la fraction massique de l'échantillon initial par la formule 3.

Formule 3. $GH\ (\%) = (m_1/m_0)x100$

2.3.2. Gluten sèche

Le principe du dosage du gluten sec repose sur le séchage ou l'élimination de la fraction d'eau présente dans le gluten humide à l'aide des plaques chauffantes. Une boule de gluten humide obtenue par la méthode spécifiée précédemment a été déposé sur une plaque chauffante préchauffée pendant 5 min . Le gluten séché a été pesé (m_2), La teneur en gluten sec (GS) exprimée en pourcentage de fraction massique de l'échantillon initial par la formule 4.

Formule 4. $GS\ (\%) = (m_2/m_1)x100$

2.4. Taux d'affleurement

Le taux d'affleurement est la quantité de refus obtenus après tamisage de 100g (m_0) de farine pendant 5min à travers une planchister à un tamis de 200µm de porosité. Le refus de tamis a été pesé (m_1) et a été exprimée en pourcentage par la formule 5.

Formule 5. $\text{Taux d'affleurement} = 100x\ m_1/m_0$

2.5. Poids spécifique

Le poids spécifique (PS) est une mesure qui permet de déterminer la masse des graines pour un volume donnée (kg/hl), c'est la masse volumique dite masse à l'hectolitre(I.T.C.F., 2001). Elle est considérée comme un indicateur de la valeur de blé (Scotti. 1997).

La mesure consistée à utiliser un appareil appelé (Nelma-litre), qui a un volume d'un litre. La trémie a été rempli avec un échantillon de blé débarrassé manuellement des grosses impuretés, puis l'obturateur a été ouvert pour laisser couler les grains dans la mesure d'un litre. La trémie a été enlevé et suspendu la mesure à la balance pour la peser avec précision.

3. Étude de la densité de la flore mycologique

La détermination de la densité de la flore mycologique a pour but d'évaluer la contamination des grains de blé et des farines par les moisissures.

3.1. Isolement et dénombrement de la flore fongique totale de la farine

L'isolement des moisissures à partir des échantillons de farine a été réalisé selon la méthode de suspension-dilution largement utilisée dans la littérature (Weidenbörner et al., 2000 ; Lana et al., 2003).

Dans un tube à essai stérile, 1g de farine à été porté aseptiquement dans 9ml d'eau physiologique(Annexe 02) stérile (8,5 g de NaCl/l) additionné de 0,1% (9µl) de tween 80. Le tween a comme rôle de favoriser la dispersion des spores. A partir de cette solution mère, des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} ont été réalisé. 100µL de la solution mère et les dilutions a été déposé puis étalés sur des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA acidifié et CDA(Annexe 01). Après une incubation à 25°C pendant 7 à 10 jours à l'obscurité, les colonies de moisissures sont dénombrées (Chabasse D et Bouchara. 1997 ; Champion. 1997 ; Bourée,2001).

3.2. Isolement et dénombrement de la flore fongique totale des grains de blé

Les grains de blé ont été placés dans un flacon contenant de l'hypochlorite de sodium pendant 2 minutes puis lavés avec de l'eau distillée stérile. Les grains ont été séchés avec du papier filtre stérile.

Les grains à surface stérile ont été ensemencé à la surface des boites de Pétri (Fig.12) contenant des milieux PDA acidifié et CDA (Annexe 1).Après une incubation pendant 5j à 25C°, les isolats qui ont pu se développer ont été dénombré (Pacin. et al., 2002 ; Ghiasian et al., 2004).

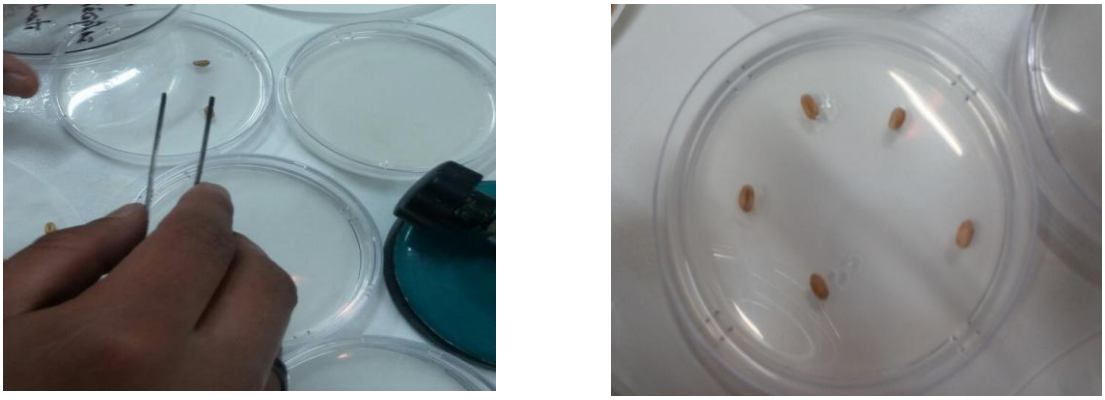


Figure 12 : Ensemencement des grains de blé sur la surface du milieu de culture.

3.3. Purification et conservation

Après le dénombrement des moisissures obtenus des différents produits testé, plusieurs repiquages successifs sur des milieux PDA et CDA ont été réalisés (Incubation à 25°C pendant 7j). Un code a été donné aux isolats purifies (Annexe 03), ensuite ont été gardés à 4°C afin d'assurer leur conservation. La conservation à long terme a été réalisée par dépôt de 100 µl d'une culture jeune dans des tubes contenant le milieu de PDA et 40% de glycérol.

4. Identification des moisissures

L'identification des isolats des moisissures obtenus a fait essentiellement appel aux caractères culturaux et morphologiques des moisissures (Botton et *al.*,1990).

4.1. Identification macroscopique

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés après ensemencement des souches pures sur deux milieux de cultures spécifiques différents, CYA et G25N (Annexe 01) et incubée à des températures différentes : 25°C et 37°C pendant une période de 7 jours.

L'identification macroscopique a été réalisée à l'aide d'une observation à la loupe et est basée sur la détermination des caractères suivant :

- La vitesse de croissance (rapide entre 24 à 4 h, moyenne 5 jours ,, lente entre 5 à 7 jours,)
- La texture des colonies.
- La couleur des colonies.
- La couleur du revers de la culture.
- Le mode de reproduction.

5. Identification des genres par la technique de micro-culture

L'examen microscopique est effectué par la méthode de micro culture décrite par (Haris. 1989). Cette technique repose sur l'inoculation des spores des moisissures sur des lames munies de petits carrés de PDA acidifié solidifiés et les recouvrir par des lamelles. Les spores sont ensemencées sur les limites périphériques du milieu. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubée à 25°C pendant 2 à 3 jours.

Après l'incubation, les lamelles auxquelles s'adhère le mycélium, sont déposées sur des nouvelles lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol (Annexe 02). L'observation microscopique se fait aux grossissements x10, x40, x100. Les genres sont déterminés par les caractères culturaux et microscopiques en se référant au manuel de (Barnet. et Hunter. 1972).

L'étude microscopique du mycélium est basée sur :

- L'absence ou présence de cloisons, au niveau des hyphes.
- Couleur des filaments mycéliens.
- Mode de ramification des cloisons.

6. Caractérisation biochimique

Les caractéristique des moisissures sont déterminez par l'utilisation des tests biochimiques tels que les tests en galerie API (20C ou ID 32C) ou les tests en plaque Biolog TM. La technologie Biolog TM utilise des microplaques de 96 puits prêts à l'emploi avec 95 substrats carbonés de 6 à 8 classes différentes pour une meilleure discrimination. La capacité d'un isolat à métaboliser chaque substrat est mesurée par la présence ou l'absence d'une coloration rouge pour les champignons filamenteux. Cette coloration est due à l'oxydation du iodonitrotetrazolium par la respiration cellulaire des micro-organismes. Le virage de certains puits crée une empreinte phénotypique qui est analysée par le logiciel pour identifier ou caractériser un organisme. Mais l'utilisation de ces tests Biolog TM s'accompagne souvent d'observations macroscopiques et Microscopiques.

L'identification conventionnelle ou biochimique des moisissures ne permet pas une identification fiable et nécessite souvent une confirmation d'identification par séquençage. C'est pourquoi, de nombreuses méthodes moléculaires d'identification ont été développées afin de permettre une meilleure spécificité d'identification des moisissures et de diminuer la durée de l'identification sans passer par une étape de séquençage.

7. Étude mycotoxicologique

La détection et l'identification des mycotoxines produits par nos isolats a été réalisé en deux étapes :

- Enrichissement, extraction et purification par la méthode de fermentation.
- Détention et identification par HPLC.

7.1. Fermentation

Afin d'obtenir une production optimale des mycotoxines, une fermentation sur le milieu Czapeck dox liquid (Annex 01) liquide a été réalisé (Pamel. *et al.*, 2010).

La fermentation a été réalisée dans des erlenmeyers de 250 ml contenant 100 ml du milieu de culture Czapeck dox (Annex 01) à un pH de 5,5. Le milieu a été inoculé avec huit disques fabriqué par un papier filtre ces disques sont déposé dans une erlenmayer font partie de la

même souche d'une culture âgée de sept jours pour chaque souche et incubé 14 jours à 28 °C sous agitation de 120 tours/mn.

7.2. Extraction

Après 14 jours d'incubation, un volume identique du solvant testé (100 ml chloroforme) a été ajouté à chaque flacon contenant la culture fongique. puis filtré sur papier Whattman n°01. Le filtrat a été transféré dans un entonnoir de séparation ou en utilisant une ampoule à décantation, puis la phase organique a été concentrée par évaporation sous vide à l'aide d'un Rotavapor. (Gengan R.M et al., 1999; Ghorri S, 2015).

Les résidus secs obtenus sont repris par 1 ml de DMSO (Diméthylsulfoxyde pour la conservation), ensuite conservés à une température de 4°C pour une analyse ultérieure par HPLC.

7.3. Détection des mycotoxines par l'HPLC

La technique d'HPLC c'est un technique de détection des produits (échantillons , prélèvements , produit cosmétique …) contient généralement deux colone une colonne pour la séparation et une colonne de garde ou protection la colonne de séparation au contraire d'une autre type de chromatographie, le système d'HPLC sont reliés à un micro-ordinateur permet de piloter automatiquement les différents composants du système chromatographique.

L'appareil HPLC permet une détection et séparation des quatre mycotoxines par UV à λ=253nm. Le système a été équipé également un logiciel (ChromNAV) permet de piloter l'ensemble du système et d'assurer l'acquisition des données (Gengan *et al.*, 1999).

Le système de gradient du solvant est comporte La phase mobile est composée de deux solvants : le solvant A (Eau H_2O) et le solvant B (acétonitrile C_2H_3N). Au temps t = 0, la part du solvant B (acétonitrile) représente 10% de la phase mobile pour augmenter de façon linéaire afin d'atteindre 90% de la phase mobile en 34minutes. Enfin, les conditions initiales du système chromatographique sont rétablies en deux minutes supplémentaires afin de rincer et de rééquilibrer la colonne .

La colonne chromatographique est divisée on section appelé plateau théorique en sein chaque plateau théorique il existe un équilibre entre la phase stationnaire et le soluté présent dans la phase mobile on utilisée une colonne comme phase stationnaire. 20µl d'extrait resuspendé et filtré sont injecté automatiquement dans le système de chromatographie, pour chaque échantillon considéré avec un débit de 2ml/min.

I. Analyses physicochimiques

1.Teneur en eau

La teneur en eau (TE) est considérée comme un facteur qui favorise la prolifération des moisissures productrice des mycotoxines surtout dans les denrées peu hydratées comme la farine. Elle renseigne sur la quantité d'eau à ajouter pour ramener l'humidité du grain à 15,5% dans le but d'avoir un bon taux d'extraction et permet aussi d'évaluer les risques lors du stockage.

Nos résultats (Fig.13) ont montré que le blé réceptionné et le blé mise en œuvre ont une teneur en eau de 12,7% et 12 ,9% respectivement, et puis augmente à 16%. L'augmentation de la TE des échantillons de blé peut être expliqué par un ajout de l'eau pour l'opération de mouillage.

Nos échantillons de farine ont une teneur en eau de 14,8%, cette valeur est conforme avec les normes algériennes. Selon le décret exécutif algérien n°91-572 du décembre 1991 relatif à la farine de panification et au pain, la teneur en eau d'une farine de panification doit être inférieure à 15,5%. La diminution du taux de la TE de la farine par rapport au TE de blé avant b1 est due au respect de la durée de séchage et la pression exercée lors de broyage par les cylindres et la vitesse de rotation élève leur température du farine (Bourdeau et Menard,1992). Selon (Godon 1991), l'humidité des farines de passage diminue du cylindre lisse au cylindre cannelé.

Les résultats de la teneur en eau de tous nos échantillons nous permettent de les considérer comme des produits peu hydratés ce qui favorise par conséquence leurs contamination par une flore fongique xérotolérant prédominante (Khaldi, 2009). Contrairement au genre Fusarium, se sont les genres Aspergillus et Penicillium qui préfèrent une faible teneur en eau et peuvent se développer sur les céréales et les fruits secs (Castegnaso,2002).

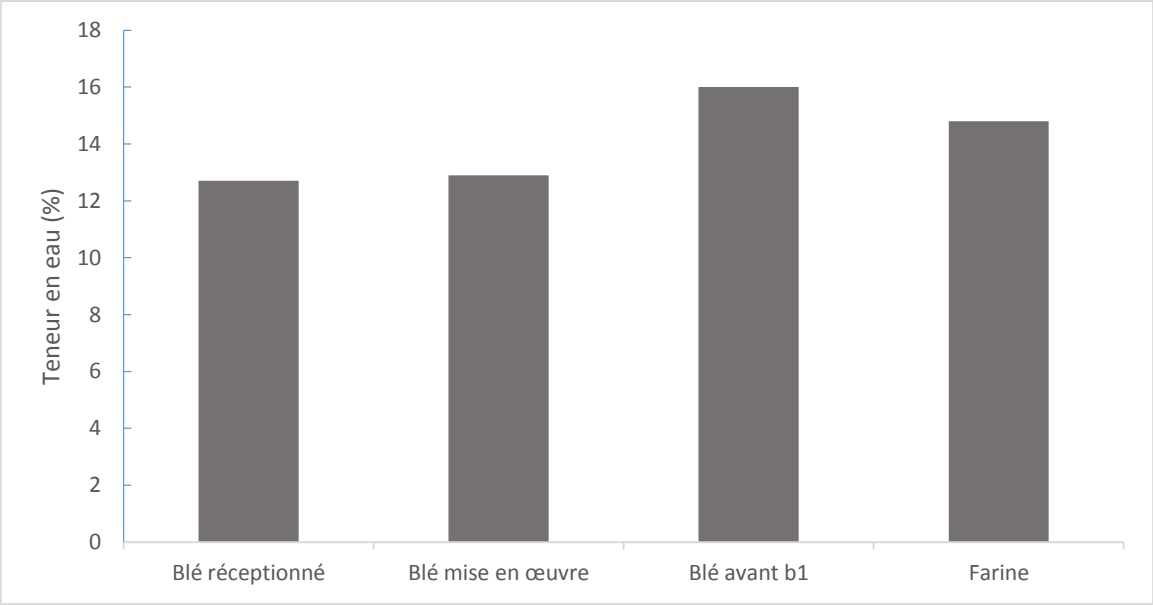


Figure 13 : Résultats des teneurs en eau des différents produits de la chaine de fabrication de farine.

2. Détermination de taux des cendres

La mesure du taux de cendre est un facteur essentiellement réglementaire et permet de classer les farines selon leur degré de pureté (ICTF, 2001).

Nos résultats (Fig.14) ont montré que la farine sèche a un taux des cendres de 0.63% alors que la farine tel quel est à 0.53%. Les valeurs obtenues sont conformes avec les normes algériennes.

Selon (Feuillet 2000) les farines avec un taux de cendre compris entre 0.53% et 0.63% sont considérées comme pures et classées comme type 55 et elle est utilisée pour le pain de compagne.

La diminution de la TC des échantillons du farine peut être expliqué par les premiers passages de la mouture (matière tel quel) est plus particulièrement sur les passages réduisant la farine de l'amande centrale (matière sèche). La teneur des cendres des farines est probablement liés à l'origine histologique des échantillons prélevés, les produits obtenus sont quasi pures.

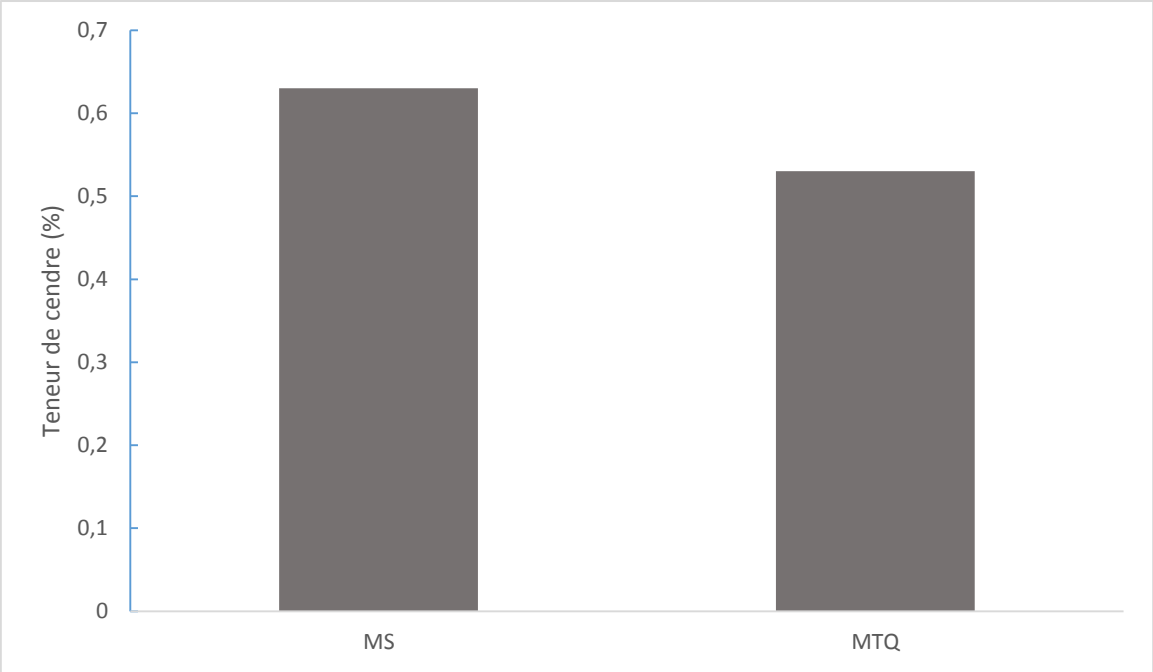


Figure 14 : Résultats des taux des cendres de farine sèche et de farine tel quel.

3. Détermination de taux en gluten

Sur le plan technologique, le taux en gluten détermine en grande partie les caractéristiques rhéologiques de la farine. Il est considéré comme moyen d'estimation de la qualité de la pâte.

Nos résultats (Tab.V) ont montré que le gluten humide représente un taux de 26.86% alors que le gluten sec a un taux de 11.01% Les normes indiquent qu'une farine doit avoir avoir un taux de gluten humide aui varie entre 21.7% à 24.6 % et une teneur en gluten sec entre 8% et 10%. Les deux valeures que nous avons eu sont supérieur à la norme. Cela peut être expliqué par les caractéristiques technologiques des blés dépendent à la fois de la quantité et de la qualité des protéines du gluten donc cette blé est très fort. d'après (Ugrinovits et al.,2004).

La force de la farine est décrite selon sa teneur en gluten humide, les farines usuelles ont des teneurs de l'ordre de 27 à 37% celles de très fort blé peuvent atteindre 45%. Le gluten des farines de mauvaise qualité s'hydrate plus facilement et se révèle plus visqueux et moins élastique que celui extrait à partir de farines de bonnes qualités. Nos farines ont un taux de gluten humide de 26.86% donc se sont des farines destinées à la panification.

Tableau V : La quantité de gluten dans un pâton de farine humide et sèche

	Pourcentage de gluten
Gluten humide	26.86 %
Gluten sèche	11.01 %

4. Taux d'affleurement

La granulométrie d'une farine permet de caractériser la répartition en taille et en nombre des particules dont elle est composée ; le comportement des farines au cœur de leur transformation, notamment la vitesse d'hydratation en dépend.

Nos résultats (Fig.15) ont montré que le taux d'affleurement est de 98.8% et la quantité de refus dans la farine est 1.2%. Cette valeur peut être expliquée par une bonne mouture de blé en farine. Nos échantillons selon la norme AFNOR(1982) qui fixe pour une farine courante un taux de refus au tamis de maille micromètre, inférieur à 10%, sont conformes avec les normes algériennes.

Le taux d'affleurement augmente après chaque étape de la mouture donc le refus est diminué, donc la taille de cette farine est homogène.

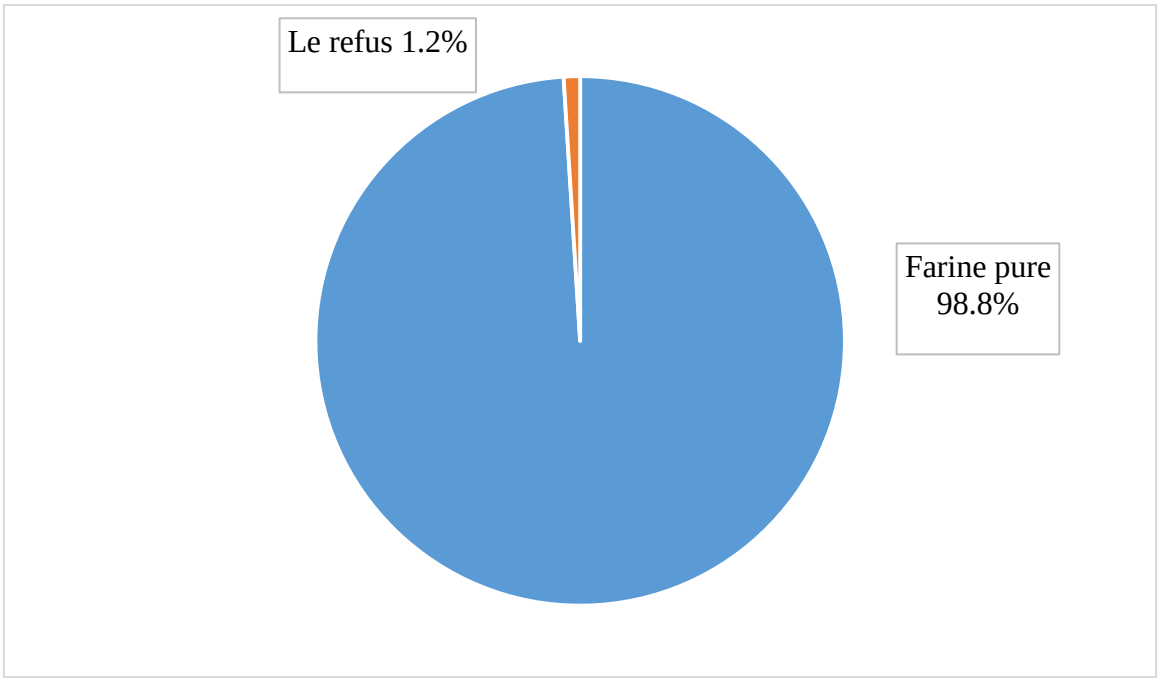


Figure 15 : La quantité de la refus dans la farine.

5. Poids spécifique

Le poids à l'hectolitre (PHL) est considérée comme le poids des grains remplissant un volume donné, il est parfois utilisé pour prédire le comportement du blé au cours de la mouture (Feillet, 2000).

Nos résultats (Tab.VI) ont montré que le PHL de blé est de 81Kg.Hl-1. Cette valeur peut être expliquée par ce que le blé est lourd et très riche par l'amande farineuse donc denses et de bon rendement du farine. Selon la classification de Williams (1998), le blé de poids spécifique de 81 Kg.Hl-1 appartient à la catégorie des blés lourds.

Tableau VI : L'interprétation du poids spécifique du blé. (WILLIAMS,1998)

Poids spécifique (kg/Hl)	Interprétation
80-84	**Blé très lourd**
76-80	**Blé lourd**
72-76	**Blé moyennement lourd**
68-72	**Blé léger**
64-68	**Blé très léger**
60-64	**Blé extra léger**

II.Analyses mycologiques

1. Dénombrement de la flore fongique totale

Le dénombrement de la flore fongique totale a été effectué sur deux types de milieux de culture à savoir le PDA et le CDA à la dilution 10^{-1}.

Nos résultats de dénombrement (Fig.16) permettent de constater que la flore fongique de la farine sur le milieu PDAac (255 UFC.ml^{-1}) est plus dense que celle dénombrée sur le milieu CDA(155 UFC.ml^{-1}). Cette différence peut être expliqué par la différence dans la composition de chaque milieu de culture et le choix des substrats préférés par les souches fongiques. Le milieu PDA est préparé à base d'élément organique alors que le milieu CDA est préparé à base d'élément minéral (Cahagier. 1998).Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes, elles peuvent se développer seulement dans le milieu qui apporte les éléments nutritifs nécessaires.

Les isolats obtenus ont été purifiées par repiquage successif et à qui nous avons attribué un code (Annexe3).

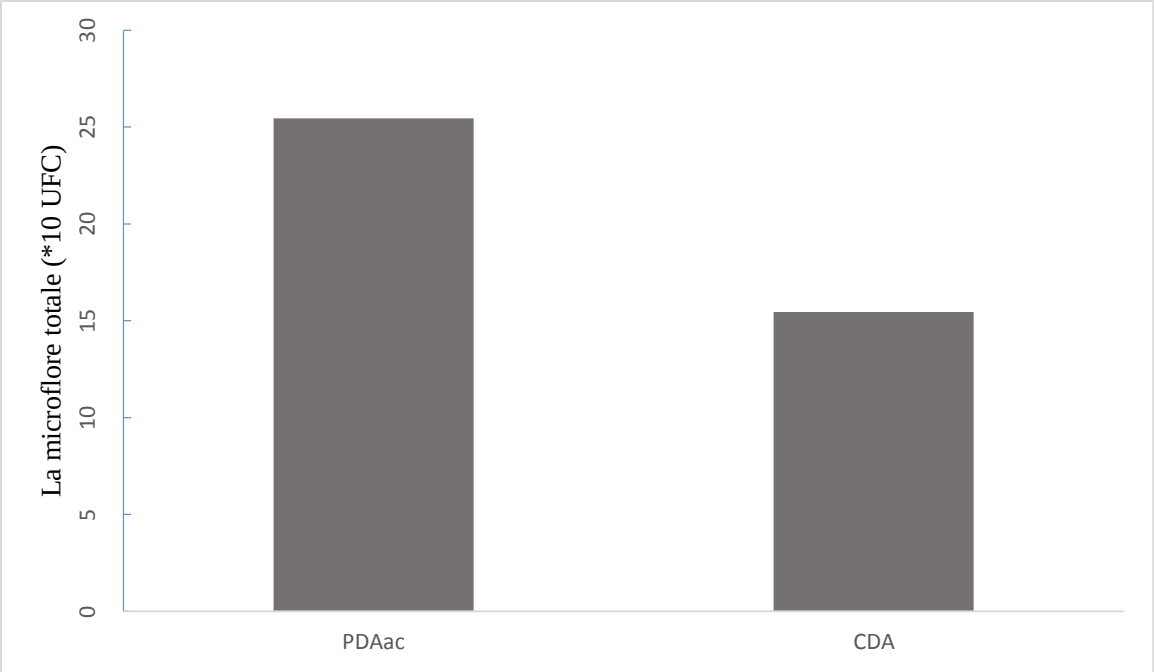


Figure 16 : Densité de la flore fongique totale de farine dénombrées sur les différents milieux (PDAac, CDA).

3. Identification macroscopique

L'identification des différents genres fongiques dans cette étude est basée sur des critères morphologiques. il s'agit d'aspect de la colonie, la couleur et la vitesse de la croissance.

Les 13 isolats sélectionnés, dont 5 ont été obtenus à partir des graines de blé, 5 à partir de la farine et 3 à partir de lieu de stockage ont fait l'objet d'une description morphologique après croissance sur différents milieux de culture (Tab.VII- Tab.IIX).

En se basant sur l'étude des caractères macroscopiques de chaque isolat fongique, sur différents milieu, PDA, CDA et PDAac, on distingue différents groupes:

Le premier groupe regroupe les colonies duveteuses à poudreuses aux couleurs vives. Dans ce groupe nous avons les isolats : SC2, SC5, ;SP5, SP10, SP12 et SP7.

Dans le deuxième groupe, nous avons les colonies à forme poudreuses et de couleurs bleu-vert.il s'agit des isolats : SC6, SP8, SP9.

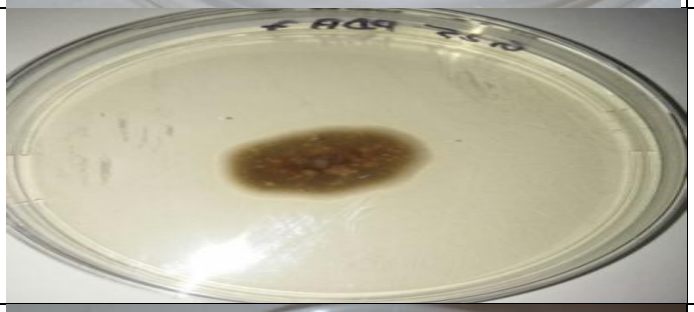
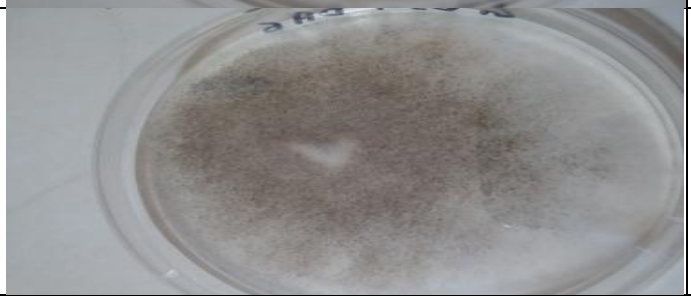
Le troisième groupe est pour les colonies à couleur blanche, il s'agit de : SP3, SP4 et SC4.

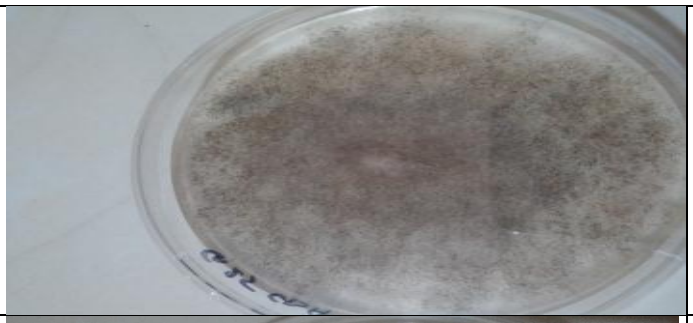
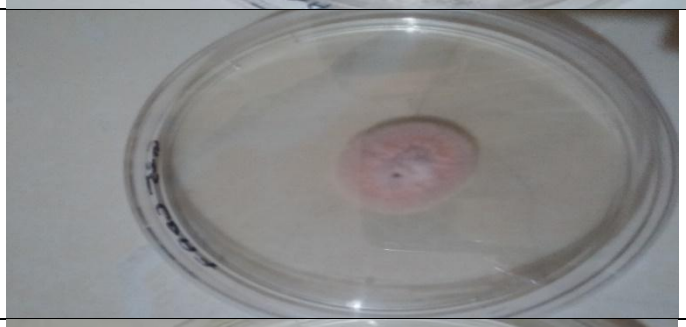
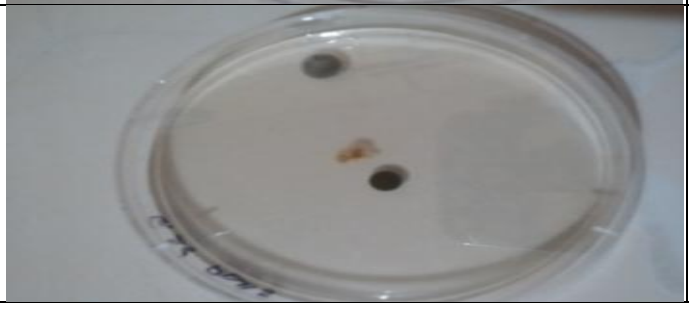
Le dernier groupe a été consacré pour les colonies à couleur noir, nous avons SC1, SP2, SP13.

L'étude macroscopique a été réalisée par l'observation, à l'œil nu, des caractères culturaux (aspect de la colonie, couleur, revers, et la vitesse de la croissance). 13 souches ont été

détectés , dont 05 ont été détectées dans les grains de blé et 05 dans la farine et 03 dans le lieu de stockage. Les résultats obtenus, ont été rassemblés dans (Tab.VII.IIX) ci-dessous

Tableau VII : Identification macroscopique des isolats cultivé sur milieu G25N

Les codes	Les souches	L'identification
SC1		Couleur -revers : noir -mycélium : vert -spores : vert olive Diamètre : 3.1 cm Croissance : moyenne Aspect : filamenteuse
SC2		Couleur -revers : crème -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 2.6 cm Croissance : lente Aspect : cotonneuse
SP2		Couleur -revers : noir -mycélium : blanc -spores : vert olive Diamètre : 2.8 cm Croissance : moyenne Aspect : cérébréforme
SP3		Couleur -revers : blanc -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 2.5 cm Croissance : moyenne Aspect : cotonneuse
SP4		Couleur -revers : blanc -mycélium : blanc -spores : noir Diamètre : 8.2 cm Croissance : rapide Aspect : filamenteuse

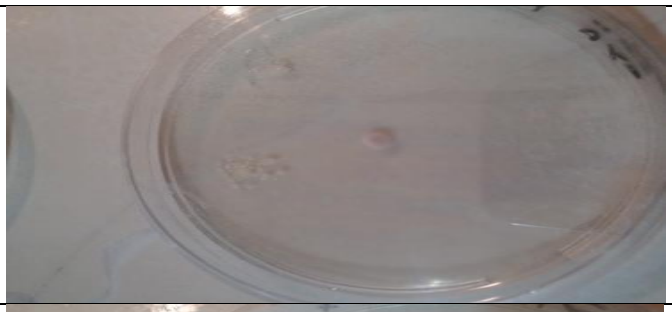
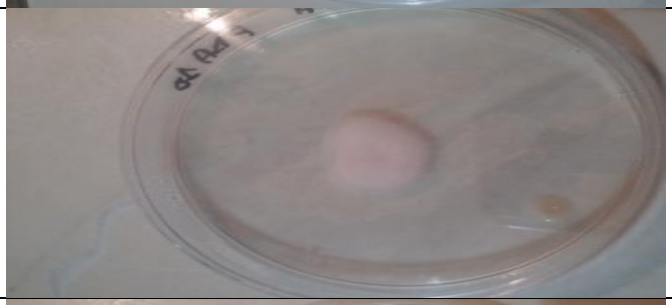
SC4		Couleur -revers : blanc -mycélium : blanc -spores : noir Diamètre : 8.8 cm Croissance : rapide Aspect : filamenteuse
SP5		Couleur -revers : rose -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 3 cm Croissance : moyenne Aspect : cotonneuse
SC5		Couleur -revers : crème -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 1.8 cm Croissance : lente Aspect : cotonneuse
SC6		Couleur -revers : vert -mycélium : blanc -spores : vert Diamètre : 2.2 cm Croissance : moyenne Aspect: poudreuse
SP7		Couleur -revers : jaune -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 1.5 cm Croissance : moyenne Aspect : cotonneuse
SP8		Couleur -revers : vert -mycélium : blanc -spores : vert , blanc Diamètre : 1 cm Croissance : rapide Aspect : cotonneuse

SC9		Couleur -revers : vert -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 1.2 cm Croissance : moyenne Aspect : cotonneuse
SP10		Couleur -revers : rose -mycélium : blanc -spores : rose, blanc Diamètre : 2.5 cm Croissance moyenne Aspect : cotonneuse
SP11		Couleur -revers : / -mycélium : / -spores : / Diamètre : / Croissance : / Aspect : /
SP12		Couleur -revers : crème -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre 2.4 cm Croissance : lente Aspect : cotonneuse
SP13		Couleur -revers : noir -mycélium : vert -spores : vert Diamètre 2.6 cm Croissance : moyenne Aspect : filamenteuse

Identification macroscopique des isolats sur milieux CYA après incubation 7 jours à T 25C (Tab.IIX).

Tableau IIX : Identifications macroscopiques des isolats cultivé sur milieu CYA

Le code	Les souches	L'identification
SC1		Couleur -revers : noir -mycélium : vert -spores : vert Diamètre : 2.9 cm Croissance : rapide Aspect : filamenteuse
SC2		Couleur -revers : rose -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 2.2 cm Croissance : moyenne Aspect : cotonneuse
SP3		Couleur -revers : crème -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 2.8 cm Croissance : rapide Aspect : cotonneuse
SC4		Couleur -revers : blanc -mycélium : blanc -spores : noir Diamètre : 8.8 cm Croissance : rapide Aspect : filamenteuse
SP5		Couleur -revers : crème -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 1.8 cm Croissance : lente Aspect : cotonneuse
SC6		Couleur -revers : blanc -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 1.6 cm Croissance : lente Aspect : cotonneuse

SP7		Couleur -revers : blanc -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 1.5 cm Croissance : moyenne Aspect : cotonneuse
SP8		Couleur -revers : beige -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 3.1 cm Croissance : rapide Aspect : cotonneuse
SC9		Couleur -revers : / -mycélium : / -spores : / Diamètre : / Croissance : / Aspect : /
SP10		Couleur -revers : blanc -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 2.9 cm Croissance : moyenne Aspect : cotonneuse
SP11		Couleur -revers : crème -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 1.6 cm Croissance : moyenne Aspect : cotonneuse
SP12		Couleur -revers : crème -mycélium : blanc -spores : blanc Diamètre : 8.8 cm Croissance : rapide Aspect : poudreuse

SP13		Couleur -revers : noir -mycélium : vert -spores : vert olive Diamètre : 3.2 cm Croissance : rapide Aspect : filamenteuse

4. Identification microscopique

L'identification microscopique (Tab.IX) réalisée par une observation au grossissement X10, X40 et X100. Cette identification étant fondée essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence des cloisons, couleur, différentiation) et des spores (forme, couleur, texture de parois).

Sur la base des résultats obtenus nous avons détectés une grande diversité mycologique. Nous avons pu identifier 6 genres, il s'agit de : *Penicillium, Aspergillus, Alternaria, Trichoderma, Cladosporium et Mucor.*

Les isolats : SP2. SP8. SC9 et SP10, ont présentés les caractères suivants :

- croissance sur les deux milieux (CYA , G25N)

- colonies filamenteuses

- présence des spores

- couleur de colonies généralement vert

- présence de métules

- mycélium cloisonné

- les conidies en chaînes unicellulaires

- tètes conidiennes unisériées ou bisériées; appartient au genre *Aspergillus*

Les isolats : SC1. SC4. SC6 et SP13ont présenté les caractères suivants :

- croissance sur les deux milieux (CYA , G25N)

- colonies filamenteuses

- présence des spores

- couleur de colonies généralement vert et noir

- présence de métules

- les hyphes sont septé

- tète en forme de pinceau ; appartient au genre *Penicillium*

Les isolats :SP7 et SP12 ont présenté les caractères suivants :

- croissance sur les deux milieux (CYA , G25N)

- couleur de colonies généralement vert

- mycélium cloisonné

- les hyphes sont septé

Ces souches appartient au genre Alternaria

L'isolat (SP3) présente les caractères suivants :

- croissance sur les deux milieux (CYA , G25N)

- colonies filamenteuses

- présence des spores

- couleur de colonies blanc

- hyphe septé -phialides en forme ; appartient au genre : *Trichoderma*

L'isolat (SP11) représente les caractères suivants :

- croissance sur les deux milieux (CYA , G25N)

- colonies filamenteuses

- présence des spores

- couleur de colonies généralement blanchâtre

- hyphe septé ; appartient *Cladosporium*

L'isolat (SP5) présente les caractères suivants :

- croissance sur les deux milieux (CYA , G25N)

-colonies filamenteuses

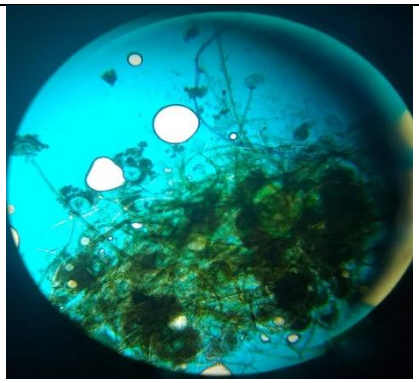
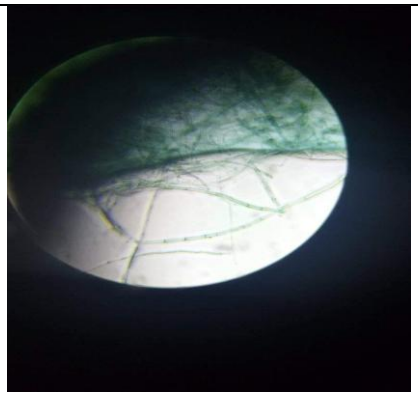
- sporocyste globuleux

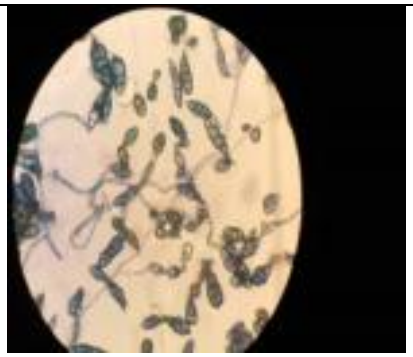
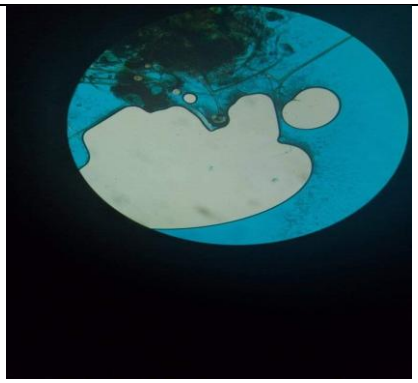
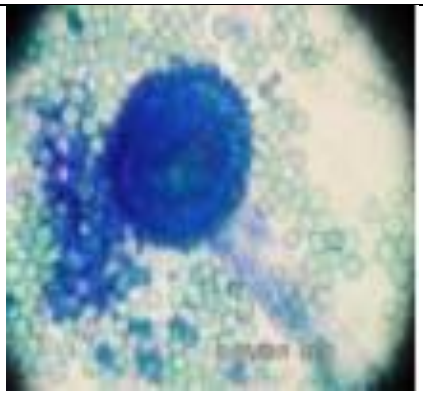
- spores ronde

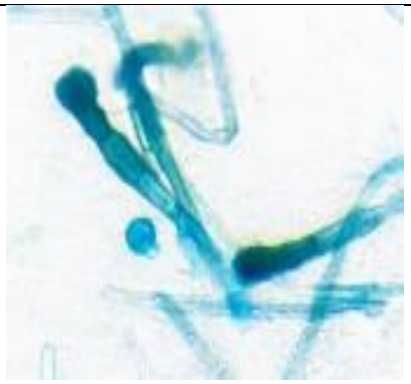
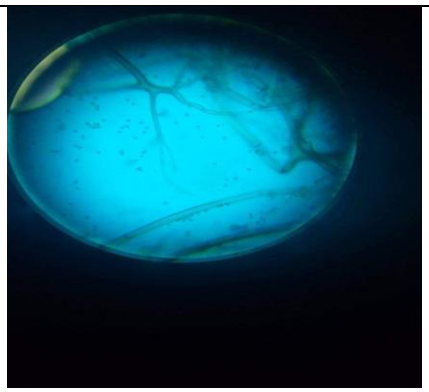
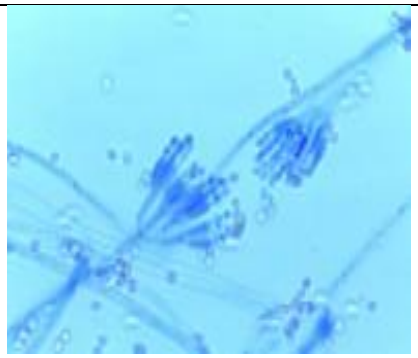
- filament cloisonné

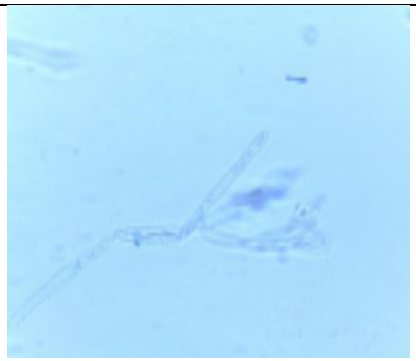
- appartient au genre : *Mucor*

Tableau IX : Résultats d'identifications microscopiques des isolats cultivé sur milieu CYA

Les souches	Aspect microscopique X100	Identification de la souche
SP7		*Alternaria sp*
SP2		*Aspergillus flavus*
SC1		*Penicillium sp*

SP12		*Alternaria sp*
SP8		*Aspergillus fumigates*
SC4		*Penicillium sp*
SC9		*Aspergillus flavus*

SP3		*Trichoderma sp*
SP5		*Mucor sp*
SP11		*Cladosporium sp*
SC6		*Penicillium sp*

SP10		*Aspergillus fumigates*
SP13		*Penicillium sp*

Dans cette étude, nous avons identifiés des espèces appartenant à la flore de champ, il s'agit du genre *Alternaria*. Les spores des champignons de champ envahissent les grains et croissent dans le champ ou attendent le battage (DENDY et al., 2000). Ce qui explique leur présence au niveau des graines de blé et leur absence dans la farine. La présence du genre *Alternaria* dans les échantillons de grain de céréales a été rapportée par plusieurs auteurs. Mansouri (2011) a rapporté un pourcentage d'occurrence relatif de 70% pour ce genre fongique dans les grains de blé dur en Algérie.

Nous avons noté une dominance des genres *Penicilliume* et *Aspergillus* avec 4 isolats chacun. Ces genres peuvent être classés parmi la flore de stockage en raison de leurs capacités de se développer sur tous substrats possibles et dans une large gamme de température et d'humidité (Mathew et al., 2011). La dominance du genre *Penicillium* dans la flore contaminant des céréales a été reportée dans plusieurs travaux (Le Bars et al.,1987 Riba et al., 2005).

Ces résultats (Fig.17) qui montre l'existence d'une flore fongique variée au niveau de 3 site de prélèvement (Blé, Farine et Lieu de stockage) ; on a identifié six (06) genre comme suit *: Penicillium , Aspergillus , Alternaria , Trichoderma , Cladosporium et Mucor* avec une dominance des genres *Penicillium* et *Aspergillus* qui représente (30.76%) pour chaque genre du total des souches ,suivi *Alternaria* (15.38%). *Trichoderma , Cladosporium* et *Mucor* avec (7.69%) pour chaque genres.

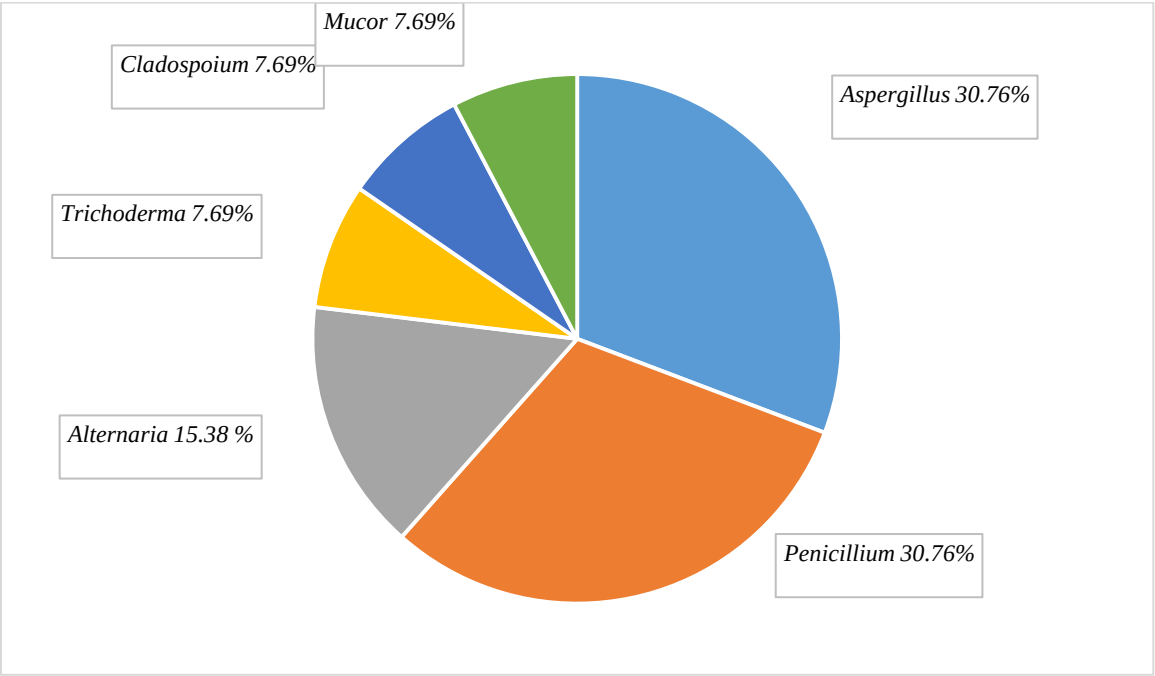


Figure 17 : Résultats des genres fongiques isolé sur le blé et la farine et le lieu de stockage.

Par ces résultats (Tab.X) on a identifié :

Le blé comporte 3 genres des moisissures après 5 d'isolats avec une dominance de genre *Aspergillus* qui représente 60% (2 *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*) , *Cladosporium*(20%) et *Alternaria*(20%)peut être expliqué cette domonance d'*Aspergillus* dans les graines de blé par ce genre sont considérées comme des moisissures de stockage et de champ. *Cladosporium* appartiennent à la flore du champ et la flore intermédiaire (Gacem 2011). Et le genre *Alternaria* est naturellement présents sur les cultures au niveau des champs et dans le sol (Withlow et al. , 2001). La présence du genre *Alternaria* dans le blé semble être due à l'humidité élevée de cet échantillons. Ces mêmes résultats ont été constatés par (Weindenborner 2000).

La farine comporte 4 genres des moisissures après 5 d'isolats avec une dominance de genre *Penicillium* qui représente (40%) , *Aspergillus* 20% (*Aspergillus flavus*), *Trichoderma* (20%) et *Mucor* (20%). la présence des genres *Penicillium* et *Aspergillus* peut être expliqué par une mauvaise condition de stockage du farine dans les silos, et le genre *Trichoderma* sont développé quasiment dans tous les sols et sur les plants. Et le genre *Mucor* compose la flore intermédiaire qui peuvent prédominer sur les graines de blé.

Lieu de stockage contient 2 genres des moisissures après 3 d'isolats. avec une dominance genres de *Penicillium* qui représente (66.66%) , *Alternaria* (33.33%). peut être expliqué cette dominance par le genre penicillium sont classé comme des moisissures de mauvaise condition de stockage.

Tableau X : La contenu des échantillons par les différents genres des moisissures .

Les échantillons	Les souches	Les genres
Blé	SP11	*Cladosporium*
	SP7	*Alternaria*
	SP8	*Aspergillus fumigates*
	SC9	*Aspergillus flavus*
	SP10	*Aspergillus fumigates*
Farine	SC1	*Penicillium*
	SP2	*Aspergillus flavus*
	SP3	*Trichoderma*
	SC4	*Penicillium*
	SP5	*Mucor*
Lieu de stockage	SC6	*Penicilium*
	SP12	*Alternaria*
	SP13	*Penicillium*

Conclusion

Notre études est pour objectif l'isolement, la caractérisation et l'identification des souches provenant des graines de blé et de farine pour détecté la contamination fongique.

Les analyses physico-chimiques nous a permis de le teneur en eau est favorisé la contamination de la farine par une flore fongique xérotolérant prédominante, le taux de cendre nous a permis de classer nos farine en type 55(farine utilisée pour le pain de compagne), le taux d'affleurement sont supérieurs à 90 %, ce qui la farine obtenue est panifiable et le teneur du le gluten est améliorer la tenue et de la résistance élastique de la pâte, cela est dû à la qualité de blé réceptionné.

Les analyses mycologiques effectuées sur trois échantillons de (Blé , Farine et Lieu de stockage) ont permis d'isoler 13 souches fongiques : 05 souches à partir des grains de blé et 05 souches à partir de la farine et 03 souches à partir de la lieu de stockage.

La farine a montré une densité fongique élevée de 25.45*10 UFC. Nous a permis de dire que cette farine renferme une grande contamination fongique.

La purification et l'identification macroscopique des souches isolées ont donné la possibilité d'identifier Six genres de moisissures: *Aspergillus* (30.76%), *Penicillium*(30.76%), *Alternaria*(15.38), *Trichoderma, Cladosporium* et *Mucor*(7.69%) avec une dominance du genre *Aspergillus* dans les grains de blé et le genre *penicilium* dans la farine et le lieu de stockage.

Les résultats obtenus ont suggéré que le produit finale (La farine) contaminé par plusieurs genres des moisissures.

Au terme de ce travail, plusieurs perspectives semblent nécessaires à réaliser :

- Le stockage de blé et de la farine dans des silos contiennent tout les condition de stockage.
- la recherche des espèces productrices des métabolites secondaire.
- le danger de ces métabolites secondaires sur la santé humaine.

Références bibliographiques

- **Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castella, G., Cabanes, F.J. (1994).** Ochratoxin A production by strains of Aspergillus niger var-niger. Applied and Environmental Microbiology 60, 2650-2652.
- **Abramson D., Demianyk C. J., Fields P. G., Jayas D. S., Mills J. T., Muir W.E., Timlick B., White N. D.G., (2001) .** Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grains entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. Ed. Centre de recherche sur les céréales. 58 p .
- **Agag B.I., (2004).** Mycotoxins in foods and feeds 3-Zearalenone.Ass. *Uni. Bull. Environ. Res.* (7):2.
- **Atwell W.A., (2001).** Wheat flour. Eagan press, Minnesota, USA, 123p.
- **Badillet G., de Brièvе C., Guého E., (1987).** Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, Atlas clinique et biologique, vol II, Ed VARIA, Paris.
- **Barnett .Hunter. (1972).** Illustred general of imperfection fungi. Burgess Publishingcomany. Minnesota(USA) :3eme edition .
- **Belaid D. (1996).** Aspect de la céréaliculture algérienn. Office des PublicationsUniversitaires, Alger 207-217 p.
- **Benmansour Brixi,. (2005).** Gormat**.** Étude microbiologique et mycotoxicologiquedes blés stockés dans la région de Tlemcen et l'influence des facteurs physiques sur l'aflatoxinogenese ». Thèse de magister, Algerie, Inst. De biologie- faculté des sciences, Univ Djillali liabes de Sidi Bel Abbés. 106 p.
- **Blumenthal, C.Z. (2004).** Production of toxic metabolites in Aspergillus niger, Aspergillus oryzae and Trichoderma reesei: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. Regulatory Toxicology and Pharmacology 39, 214- 228.
- **Bousseboua H., (2003) .** Cour de microbiologie générale. Protistes eucaryotes. Edition Université Mentouri Cnstantine. P : 9-13.
- **Boiron, P., (1996).** Organisation et biologie des champignons.Edition Nathan. P : 13-19-69-79.
- **Bolot S., Abrouk M., Masood-Quraishi U., Stein N., Messing J., Feuillet C. and Salse J. (2009) .** The "inner circle" of the cereal genomes. *Current opinion in plant biology*, 12(2):119–125.

- **Bonneuil , Roerich R** et **Anglade P., (2009).** Innover autrement, la recherche face à l'avènement d'un nouveau régime de production et de régulation des savoirs en génétique végétale, Docier de l'environnement de l'INRA, 30, 2006, P.29-51.
- **Botton B ., Beton A ., Fever M., Gaithier S ., Guy p.h ., Larpent J.P ., Reymond P. SanglierJ.J., Vayssie Y ., Veau P., (1990) .** Moisissres utiles et nuisibles impotance industrielle. 2eme edition. Masson .Collection Beotechnlogies .P : 34-428.
- **Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. & Veau P. (1999) .** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. P. 12-426.
- **Boudreau A., Menard G., (1992).** Le blé-Eléments fondamentaux et transformation. Les presses de l'Univérsité Laval, Québec, 439p.
- **Bourée P., (2001) .** Aide mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale. 3é ed Medecine-sciences. Diagnostic biologique, Chap. 178, 351-357.
- **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.
- **Bourson, Y. (2009) .** Mouture de blé tendre et techniques d'obtention de la farine, édition techniques de l'ingénieur.
- **Boyeldieu J. (1999) .** Encyclopédie des techniques agricoles : production végétale-Blé Tendre-Ed : Paris.20-20.
- **Cahagnier B., Richard-Molard D., (1998) .** Analyse mycologique in *Moisissures des aliments peu hydratés*, Ed. Tec & Doc, p 140-158.
- **Cahagnier B. (1998) .** Céreal et produits dérivés » in microbiologie alimentaire. aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments (tome 1). Paris : Tec et Doc (Lavoisier). Partie IV, Chapitre 9 p392-413.
- **Calvel, R, (1980) .** « La boulangerie moderne ». 9éme édition.
- **Camille M., (1980) .** Céréales .Phytotechnie spéciale bases scientifiques et techniques de la production des principales espèces de grande culture en France. Maison rustique, PARIS, 1980. 318p.
- **Castegnaro M., Pfohl-Leszkowicz A. (2002) .** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans *La* sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc.
- **C.N.C.C.S ., (2009) .** Blletin des varieties « céréales ».
- **Chabasse D. et Bouchara J.P., (1997).** Dermatophytes et moisissures d'intérêt médical. Laboratoire de parasitologie et de mycologie. Journée biomérieux, 65-72.

- **Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L ., Brun S and Penn P. (2002) .** Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt medical. Labo Analy De biomédicale.
- **Chabasse, D ;Penn P ; Cimon B ; Bouchara J ; De Gentile L ;Brun S. (2002) .** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale. *(*Tiraboshi ,1929 ; Van Tieghen,1867 ; Thom,1918 ; Link,1909 ; (Cohn) Saccardo et Trotter 1912 *;* (Lucet et Constantin)Wehmer ex Vuillemin 1936) . Bioforma.France.
- **Champion R., (1997).** Identifier les champignons transmis par les semences. Techniques et pratiques, INRA Edition.
- **Champion R., (1997).** Identifier les champignons transmis par les semences. Editions Quae, France, 398 p.
- **Cheftel, J. C. et Cheftel, H., (1977).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Technique et Documentation Lavoisier, Paris: 105-130.
- **Chotia Y. (1999).** Les principales mycotoxines rencontrée en agro-alimentaires et leurs facteurs de production. Synthèse bibliographique, Ecole Supérieure de Microbiologie et de Sécurité Alimentaire. Université de Bretagne occidentale.p33 .
- **Delgado-Jarana J., Rincon A. M. & Benitez T. (2002) .** Aspartyl protease from Development of Novel Real-Time PCR Assays for Detection and Differentiation of Eleven Medically Important *Aspergillus* and *Candida* Species in Clinical Specimens, J. Clin. Microbiol., 45 (3), 906-914.
- **Doumanji, A., Doumanji-Mitich, B. & Salaheddine,D., (2003).** Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, pp. 1-22.
- **Ducret C. (2000) .** Une nouvelle classe de mycotoxine : lesFumonisines. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier. Faculté de parmacie de Grenoble.pp :54-68.
- **Feillet P., (2000) .** Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 308p.
- **Fischer, G. et Dott, W., (2003).** Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. *Archives of Microbiology*, 179(2), p.75-82.
- **Fitzgerald, J. M., Collin, R. G., Towers, N. R. (1998).** Biological control of sporidesmin- producing strains of Pithomyces chartarum by biocompetitive exclusion. Letters of Applied Microbiology 26 (1), 17-21 .
- **Frazier W.C. (1967) .** Food microbiology. Academic presse. London. P. 3-429.

- **Gacem M.A (2012) .** Étude de la qualité physicochimique et mycologique du blé tendre local et importé stocké au niveau de l'office algérien interprofessionnel des céréales (OAIC) de la localité de Saida (Algérie). *Alg.J.Env. p* :67-76.
- **Gacem M.A. (2011) .**. Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogéne des extraits méthanolique et aqueux des graines de Citrullus.
- **Gallais A., Bannerot H., (1992) .** Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Ed : INRA, 768p.
- **Gautier J. 1991 .** Notation d'agriculture. *Ed. Gautier, Paris, pp575.*
- **Gengan R. M., Chuturgoon A. A, Mulholland D. A., & Dutton M. F. (1999) .** Synthesis of sterigmatocystin derivatives and their biotransformation to aflatoxins by a blocked mutant of *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia* 144: 115-122.
- **Ghiasian. S.A., Bacheh .P.K., Rezayat. S.M. ;Maghsood.A.H., Tahertkhani,H. (2004).** MycofloraOf Iranian maize harvested in the main production areas in 2000.Mycopathologia, 158, 113-121p.
- **Ghorri S. (2015).** Isolement des microorganismes possédant une activité anti- *Fusarium*. UFMC.
- **Giraud J. (1998) .** Microbiologie alimentaire .p 8-101.p 330 Edition Donod, Paris.
- **Godon, B., (1991) .** biotransformation des produits céréaliers.
- **Haris C. (1989) .** Introduction to modern microbiologie black wall scientific publication. 179p.
- **Hawksworth D.L., Rossman A.Y. (1997).** Where are all the undescribed fungi *Phytopathology*. 87: 888-891.
- **Hawksworth D.L. (2001).** The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*. 105: 1422-1432.
- **Henry Y., J. Buyser. (2000).** L'origine du blé. Pour la Science 26 :60-62.
- **Henry Y., et De Buyser.J. (2001).** L'origine de la graine à la plante, l'origine des blés. BELIN POUR LA SIENCE, 69-72 PP.
- **Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M., Cannon, P.F., Eriksson, O.E., Huhndorf, S., James, T., et al., (2007).** A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), p.509-547.
- **Horie, Y. (1995).** Productivity of ochratoxin A of Aspergillus carbonarius in Aspergillus section Nigri, Nippon Kingakukai Kaiho 36, 73-76.
- **Indge B. (2004).** La biologie de A à Z. 1100 définitions, édition :*Dunod*, Paris, P3.
- **I.T.G.C., (2006).** Stades et variétés de blé.

- **James, T.Y., Kauff, F., Schoch, C.L., Matheny, P.B., Hofstetter, V., Cox, Celio, G., Gueidan, C., et al., (2006).** Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, 443(7113), p.818-822.
- **Keller, S.E. Sullivan, T.M., Chirtel, S. (1997).** Factors affecting the growth fo Fusarium proliferatum and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. Industrial Microbiology, Biotechnology. 19, 305-309.
- **Khaldi Achraf., (2009).** Etude mycologique et physicochimique de la farine infantile commercialisée dans la ville de Béchar mémoire de magistère en biologie, Algérie, Option microbiologie et sécurité sanitaire des aliments, Univ. Bechar. 111p.
- **Kwon Chung K.J., Bennett J.E., (1992).** Medical mycology, Lea and Febiger, London.
- **Lacey J. (1986).** Factors affecting mycotoxin production. In: Mycotoxins and phycotoxins(edited by Steyn, P.S. and Vleggaar, R.), 6th International IUPAC symposium on mycotoxins and phycotoxins, Pretoria, South Africa.
- **Lana K., Berghofer, Ailsa D. Hocking, Di Miskelly et Edward J., (2003).** Microbiology of wheat and flour milling in Australia. International Journal of microbiology 85, 1237-149.
- **Larpent-Gourgaud M. & Sanglier J. J., (1992).** Biotechnologies. Principes et méthodes. Doin. Paris. P. 574-587.
- **Larpent J-P., Larpent-Gouraud M., (1990).** Mémento technique de microbiologie : Microorganismes eucaryotes et procaryotes, Structure, Métabolisme, Systématique, Applications industrielles, Milieux de culture et réactifs. 2ème édition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 417p.
- **Leveau S. B. & Bouix M., (1993).** Les microorganismes d'intérêt industriel. Lavoisier microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. P. 216-244.
- **Michtchel D, Parra R, Aldred L et al,. (2004).** Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by Aspergillus carbonarius strains from grapes in Europe . J. Appl. Microbiol., 97 **.** P439–445.
- **Miller J. D., (2002).** Enzymic hydrolysis of protein by various enzyme preparations. J. Ferment. Technol. **54**: 872-884.
- **Minoterie Tafna,. (2017).** Présentation de la minoterie, diagramme de fabrication de la farine.
- **Moreau C., (1996) .** Les mycotoxines . in microbiologie alimrntaire : aspect microbiologique de la sécurité et la qualité des aliments (Tome 1). Paris :Tec et Doc . (Lavoisier) . partie 2 CHAPITRE 9 , P.176-184.

- **Morin O., (1994) .** *Aspergillu*s et aspergilloses: biologie, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses 8-600-A-10.
- **Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R., (2000) .** L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. P : 210-21.
- **Pacin.A.M., Gonzalez. H.H.L.,Etcheverry. M., Resnik.S.L;Vivas. L., Espin.S., (2002).** Fungi associate with food and feet commondities from Ecuador.Mycothologia,156, 87-92p.
- **Pamel E. V., Vlaemynck G., Heyndrickx M., Herman L., Verbeken A., & Daeseleire E. (2010).** Mycotoxin production by pure fungal isolates analysed by means of an hplc-ms/ms multimycotoxin method with possible pitfalls and solutionsfor patulin-producing isolates. *Mycotoxin Research* 27(1): 37-47.
- **Petréquin P. et Baudain D., (1997).** Les sites littoraux néolithiques de clairvaux- les-lacs (Jura). I problématique générale. L'exemple de la station III. Edition de la maison des sciences de l'homme Paris. 508p.
- **Pfohl-Leszkowicz., (2001).** Définition et origines des mycotoxies in Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risqu*e*, Ed. Tec & Doc, p3-14.
- **Pfohl-Leszkowicz A, (1999).** Métabolisation des mycotoxines- Effets biologiques et pathologies- Ecotoxicogenèse. Dans « Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque » de Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Technique et Documentation, Paris . p18- 35.
- **Pitt, J.I ., (1988).** An appraisal of identification methods for *Penicillium* species. Novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. Mycology **65,** 1135-1157.
- **Pitt J.I., Hocking A.D., (1991).** Significance of fungi in stored products, Proceedings of an international conference held at Bangkok, Thailand : Fungi and mycotoxins in stored product, 16-21.
- **Portelli C., (1999) .** Les Mycotoxines. 22 P.
- **Raper K.B. &Fennell ., (1965) .** The genus *Aspergillus*. Food Microbiol **5**: 163-176.
- **Reboux, G. (2006).** Mycotoxines : effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique. p: 208–212.
- **Romain J., Thomas C., Pierre S., Gerard B., (2007) .** Science des aliments :biochimie-microbiologie-procédés-produits. Lavoisier, Paris,p 449.

- **Roquebert M.F ., (1998) .** Taxonomie des moisissures ; Méthodes de culture et techniques d'observation ; Identification", in "Moisissures des aliments peu hydratés", Ed. Tec & Doc, 39-95.
- **Roussel.P., (1991) .** Amélioration de la qualité des farines, publiées dans Les industries de premières transformations des produits céréaliers, Lavoisier, chap.2 p 36, chap.4 p 97.
- **Samson R.A. Hoekstra E.S. Frisvad J.C. Filtenborg O., (2005).** Introduction to food-borne fungi. Baarn: Centraal bureau voor Schimmel cultures.
- **Scotti, G., (1997).** Analyses physicochimiques, partie I, analyse physiques des grains du blé tendre et du blé dur, chap, 5. 76-119. In : (guide pratique d4analyse dans les industries des cereals) P79.
- **Slama, A., Ben Salem, M., Ben Naceur, M., Zid ED., (2005).** Les céréales en Tunisie :production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de larecherche agronomique de Tunisie (INRAT). Univ. Elmanar. Tunisie. P62.
- **Soltner D., (2005) .** Les grandes productions végétales. Céréales. Collection sciences et techniques agricoles. 20è édition. Paris. France, pp 21-55.
- **Soltner D., (1990) .** Phytotechnie spéciale, Les grandes productions végétales. Céréales, plantes sarclées, prairies. Sciences et Technique Agricoles éd.
- **Souilah N., (2005) .** Contribution à l'étude de l'effet de la densité de peuplement sur les composantes de rendement chez deux génotypes de blé dur (*Triticum durum* DESF.) en zone humide (El- Harrouch). Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie. Univ Skikda. 61p.
- **Surget A., Baron C., (2005).** Histologie du grain de blé. Industrie des céréales.
- **Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. C. & Van Dijck, P. W., (2002).** On the safety of Aspergillus niger – areview. Applied Microbiology and Biotechnology. 59, 426-435.
- **Troller, J.A. (1980).** Influence of water activity on microorganisms in foods. Food Technology 34 (5), 76.
- **Ueno Y., (1977).** Trichothecenes: overview address.In J. V. Rodricks, C. W. Hesseltine, and M. A. Mehlman (ed.), Mycotoxins in human and animal health. Chem-Orbital, Park. Forest South, Ill. p:189-207.
- **Ugrinovits M., Arrigoni E., Dossenbach A., Haberli G., Hanich H., Rychener M.,Thorman M. et Stalder U., (2004).** Céréales, produits de l'industrie meunière,prémélanges pour mélange de farine, farines instantanées. manuel suisse des denrées alimentaires. Chapitre 14. P : 1-15.

- **Van der merweK.J. SteynP.S. Fourie L. Descott B. TherronJ.J. (2001).** Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by Aspergillus ochraceus Wilh. Nature 1965 205, pp1112–1113.in Biosynthesis of ochratoxins by Aspergillus ochraceus : Phytochemistry 58 709–716 Elseiver.
- **Weindenbörner Weiczoreck C. Appel S. et Kunz B., (2000).** Whole wheat and white wheat flour – the mycobiota and potential mycotoxins. Food Microbiology, 17, 103-107.
- **Weindenborner., 2000.** Whole wheat and white wheat flour; the mycobiota and potential mycotoxins. F. Microbiol. p:103-107.
- **Withlow L.W and Hagler W.M., (2001).** Mycotoxin contamination of feedstuffsAn additional stress factor for dairy cattle. North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ Québec.

Annexe 1 : Les milieux de culture

Milieu PDA (Potatoes Dextrose agar)

Pomme de terre (macération 500ml de filtrat)	200 g
Sucrose	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Milieu CDA (Czapek Dextose Agar)

Sucrose	30 g
KH2PO4	1 g
KCL	0.5 g
MgSO4	0.5 g
FeSO4	0.01 g
NaNO3	3 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Czapek Concentre

$NaNO_3$	30 g
KCL	5 g
$MgSO_4$	5 g
$FeSO_4$	0.1 g
Eau distéllée	100 ml

Milieu CYA (Czapek Yeast Agar)

Czapek Concentrée	10 ml
KH2PO4	1 g
Extrait de levure	5 g
Sucrose	30 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Milieu G25N (25 % Glycérol Nitrate Agar)

KH_2PO_4	0.75 g
Czapek Concentrée	7.5 ml
Extrait de levure	3.7 g
Glycérol	250
Agar	12 g
Eau distillée	750 ml

Milieu Czapek Dox liquid

Sucrose	30 g
KH2PO4	1 g
KCL	0.5 g
MgSO4	0.5 g
FeSO4	0.01 g
NaNO3	3 g
Eau distillé	1000 ml

Annexe 2 : Les solutions

Eau physiologique

NaCl	9 g
Eau distillée	1000 ml

Lactophenol

Phénol pur cristallisé	20 g
Acide lactique	20 ml
Glycérol	20 ml
Eau distillée	40 ml

Annexe 3 : Attribution des codes pour les isolats fongique

Code	Origine
SC1	farine de 50 kg dilution 10-2 : Dénombrement sur milieu CDA
SC2	farine de 50 kg dilution 10-1 : Dénombrement sur milieu CDA
SP2	farine de 1 kg solution mère : Dénombrement sur milieu PDA
SP3	farine de 1 kg solution mère : Dénombrement sur milieu PDA
SP4	farine de 50 kg dilution 10-2 : Dénombrement sur milieu PDA
SC4	farine de 50 kg dilution 10-1 : Dénombrement sur milieu CDA
SC5	farine de 50 kg dilution 10-2 : Dénombrement sur milieu CDA
SP5	farine de 1 kg solution mère : Dénombrement sur milieu PDA
SP11	blé réceptionnée : Dénombrement sur milieu PDA
SP7	blé réceptionnée : Dénombrement sur milieu PDA
SP8	blé mise en œuvre : Dénombrement sur milieu PDA

SC9	blé avant B1 : Dénombrement sur milieu CDA
SP10	blé avant B1 : Dénombrement sur milieu PDA
SC6	lieu de stockage : Dénombrement sur milieu CDA
SP12	lieu de stockage : Dénombrement sur milieu PDA
SP13	lieu de stockage : Dénombrement sur milieu PDA

Annexe 04 : Liste des analyses effectuées par produits

	Blé	**Blé mise on d'ouevre**	**Blé avant B1**	**Farine**
Teneur en eau	+	+	+	+
Taux des cendres	-	-	-	+
Teneur en gluten	-	-	-	+
Taux d'affleurement	-	-	-	+
Poids Spécifique	-	-	+	-

+Test réalisé -Test non réalisé