

ETUDE DE LA QUALITE PHYSICO-CHEMIE ET MYCOLOGIQUE DU BLE TENDRE LOCAL ET IMPORTE STOCKE AU NIVEAU DE L'OFFICE ALGERIEN INTERPROFESSIONNEL DES CEREALES (OAIC) DE LA LOCALITE DE SAIDA (ALGERIE)

GACEM Mohamed Amine^{1*}, OULD EL HADJ KHELIL Aminata¹ et GACEMI Bouabdallah²

⁽¹⁾Laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi Arides,
Université Kasdi Merbah-Ouargla, BP 511 Ouargla 30000 (Algérie)

⁽²⁾Laboratoire de technologie et de production animale
Université Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem, 27000 (Algérie)

* E-mail : biologieamine@yahoo.fr

Résumé- La présence de flore fongique dans les céréales destinées à l'alimentation de l'homme peut engendrer de graves conséquences sur sa santé. Le développement de cette flore compte parmi les principales causes d'altération sanitaire des céréales. Le contrôle de la qualité du grain de blé durant le stockage permet de limiter les pertes du produit causées par des moisissures. C'est un moyen de prévention et de gestion des risques de contaminations par les champignons dont certains peuvent être fortement toxigènes. L'étude de la qualité physico-chimique et mycologique des échantillons de blé tendre local et importé stocké dans des silos en béton armé au niveau de l'OAIC de la localité de Saida (Algérie), a montré que le taux de contamination de la variété importée de blé, est très élevé. Les espèces du genre *aspergillus*, sont retrouvées dans les deux variétés de blé analysées avec une fréquence et une abondance allant de 41% à plus de 86% de la flore totale identifiée sur milieux CDA et PDA. Les espèces des genres *Penicillium* et *Alternaria* sont peu fréquentes. Enfin, celles des genres *Cladosporium*, *Ulocladium* et *Fusarium* sont les moins abondants dans les deux variétés de blé tendre analysées.

Mots clés: Blé tendre, stockage, moisissures, *Aspergillus*, *Penicillium*

STUDY OF THE PHYSICO-CHEMICAL AND QUALITY OF LOCAL AND IMPORTED WHEAT STORED AT THE ALGERIAN INTERPROFESSIONAL CEREALS (AICO) FROM THE TOWN OF SAIDA (ALGERIA)

Abstract- The presence of fungal flora in cereals for human food can lead a serious consequences for his health. The development of this plant is among the leading causes of impaired health cereals. The quality control of the wheat during storage can reduce the loss of product caused by these fungi. It is a means of prevention and management of risks of contamination by fungi, some of which may be highly toxigenic. The study of the physicochemical and mycological quality samples of local and imported wheat stored at OAIC of Saida, showed that the rate of contamination of the imported variety is very high. The genus *Aspergillus* represented by different species was found in both varieties analyzed with a frequency and an abundance ranging from 41 to over 86% of the total flora identified on medium CDA and PDA. Genera *Penicillium* and *Alternaria* are uncommon. Finally, the genera *Cladosporium*, *Fusarium* and *Ulocladium* are less abundant in both wheat varieties analyzed.

Key words: Wheat, storage, mold, *Aspergillus*, *Penicillium*

Introduction

Les céréales sont un groupe de plantes cultivées appartenant, botaniquement parlant, à la famille des Poacées dont les graines présentent par leur abondance et leur composition un intérêt majeur pour l'alimentation de l'homme et des animaux. Les graines alimentaires appartiennent à une dizaine d'espèces végétales. Les plus employées restent le blé, le maïs et l'orge [1].

Le choix de conditions convenables d'entreposage des graines de céréales pendant des périodes prolongées revêt une grande importance économique, surtout pour les régions sous-développées, où il n'est pas rare de perdre près de 30% de la récolte du fait des rongeurs, des insectes et d'autres facteurs de détérioration [2]. De mauvaises conditions d'entreposage peuvent provoquer divers phénomènes indésirables. La germination, qui peut intervenir une fois terminée la période de dormance, entraîne une protéolyse et une amylolyse défavorable en panification. La prolifération de moisissures provoque non seulement une hydrolyse de glycolipides et de phospholipides, mais peut donner lieu aussi à la formation de mycotoxines [3].

2.- Matériel et méthodes

2.1.- Blé tendre local et importé

Les échantillons de blé tendre local et importé sont prélevés le mois de décembre 2010 au niveau des silos en béton armé, situés au sein de l'office algérien interprofessionnel des céréales (OAIC) de la localité de Saida (Algérie) (fig. 1).

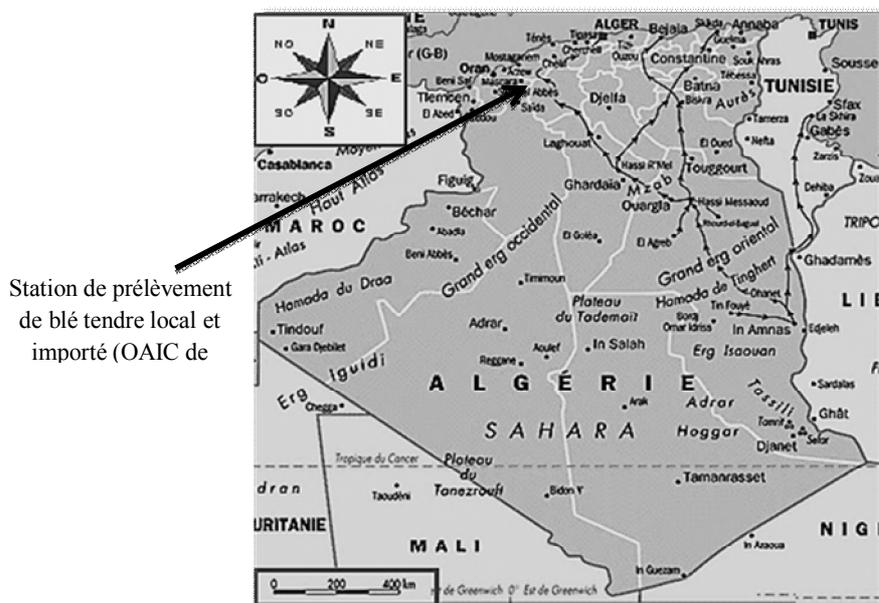


Figure 1.- Situation de la station de prélèvements des échantillons [4]

Trois échantillons de blé tendre local et importé pour de chacun, sont prélevés au hasard. Pour chaque lot variété de blé tendre, les échantillons sont mélangés puis divisés en trois. Ils sont transportés au laboratoire de l'université de Saida dans des sacs en papier kraft, pour des analyses physico-chimiques et microbiologiques.

2.2.- Analyses physico-chimiques

- Détermination du pourcentage des grains brisés

Les atteintes mécaniques du grain durant le stockage sont favorables aux développements des champignons et à l'attaque des insectes. Les grains endommagés deviennent un terrain favorable à l'infestation et à la pénétration de l'inoculum d'*Aspergillus* et de *Penicillium* à

l'intérieur de la graine, d'où l'importance de l'élimination des grains brisés. Il s'agit donc de comptabiliser les grains cassés par rapport à une prise d'essai de 100 grains représentatives de chaque lot de blé tendre à analyser [5].

- Détermination de l'humidité

C'est une méthode d'étuvage qui consiste à effectuer un séchage d'une prise d'essai de chaque échantillon à une température de 105 ± 2 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant et par la suite on calcule l'humidité de l'échantillon [5].

- Mesure du pH

Pour l'estimation de l'acidité ou l'alcalinité des échantillons, une solution est préparée à base de 45 ml d'eau distillée additionnée à 5 g d'échantillon. Après une heure de repos avec une agitation continue, la mesure du pH est réalisée à l'aide du pH-mètre type Hanna pH 209 [5].

2.3.- Qualités mycologiques

- Dénombrement de la flore fongique

La méthode de dilution (ou méthode indirecte) consiste à dénombrer les microorganismes des grains de céréales mises en suspension avec 45ml d'eau physiologique (le diluant) additionné de quelques gouttes de Tween 80. L'intérêt de cette méthode réside dans le fait que les propagules fongiques sont dénombrées à partir de la même suspension mère et qu'elles intègrent la flore interne et externe [5].

A partir de la dilution mère, des dilutions décimales sont réalisées pour chaque échantillon de variété de blé tendre prélevée (local et importé). Deux boîtes pour chaque dilution sont ensemencées avec 1 ml d'inoculum étalé en surface. L'incubation se fait à 25 ± 2 °C pendant 5 à 7 jours. Le milieu PDA acidifier est couramment utilisé pour le dénombrement de ces propagules fongiques [6].

- Identification des genres

Décrite par Haris [7], la technique de micro-culture consiste à inoculer les spores des moisissures sur une lame menée de petits carrés, de milieu PDA acidifié et les recouvrir par une lamelle. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubé à 25 ± 2 °C pendant 3 à 5 jours. Après incubation, les lamelles auxquelles s'adhèrent le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$. Les genres sont déterminés par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de Barnett et Hunter [8].

- Identification des espèces

L'identification des espèces est réalisée par la méthode de Pitt [9] et Ramirez [10]. Cette méthode est dite « Single Spore », basée sur la relation entre l'activité de l'eau du milieu de culture et la température d'incubation. Elle consiste en l'inoculation de quelques spores d'une culture jeune dans des tubes à hémolyse contenant une suspension semi solide à base de 0,2% d'Agar et quelques gouttes de Tween 80. A partir de cette suspension, différents milieux de

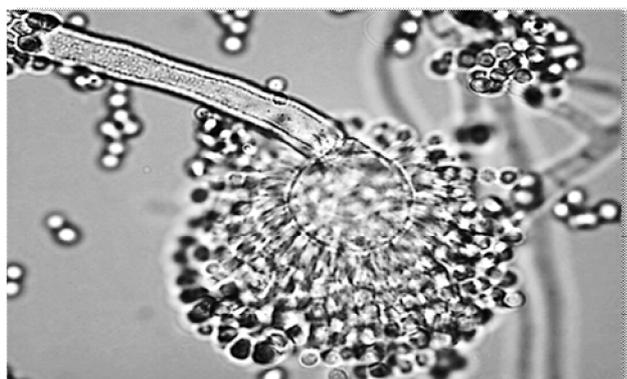
cultures sont ensemencés. La lecture se fait après 7 à 14 jours d'incubation en se référant aux clefs d'identification de Pitt et Ramirez [9, 10].

3. Résultats

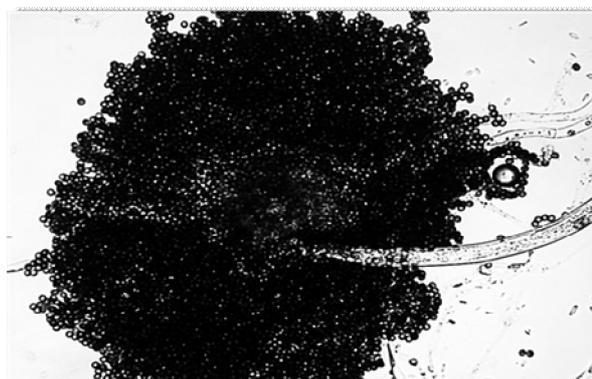
Sur les 100 grains prélevés, une constatation de l'état physique a été effectuée. Le blé tendre local présente un taux de grains cassés légèrement supérieur (5.34%) au blé tendre importé (4.32%).

Les deux variétés de blé tendre révèlent des taux d'humidités plus ou moins importantes. Elles sont respectivement de l'ordre de 10.23% et 11.57% pour celui du local et importé. Les valeurs moyennes du pH des différents échantillons du blé tendre, sont légèrement acides avec des valeurs moyennes de 6.71 pour le blé tendre importé et 6.60 pour le blé tendre local.

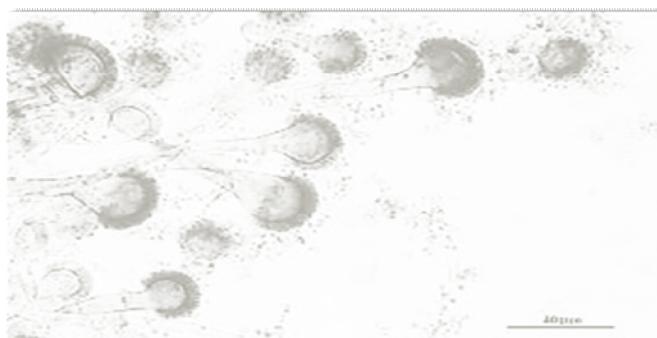
L'étude des caractères macroscopiques pourtant sur la couleur, l'aspect de colonie et le revers des boîtes, et microscopiques dont la forme de thalle et des spores des souches fongiques isolées, a permis d'identifier *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Cladosporium* et *Ulocladium* (photo 1)



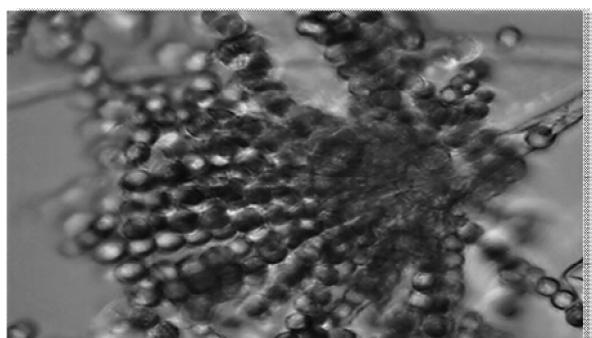
Aspergillus flavus



Aspergillus niger



Aspergillus fumigatus



Aspergillus ochraceus

Photo 1.- Aspect microscopique des souches *Aspergillus* et de *Penicillium*

Suivant les clefs d'identification de Pitt [9] et Ramirez [10], les espèces *Penicillium expansum*, *Penicillium indicum*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium restrictum*, *Penicillium hispanicum*, *Penicillium griseo-purpureum*, *Penicillium pelacanicum*, *Penicillium obscurum* et *Penicillium lilacinum*, sont identifiées. Pour les espèces du genre *Aspergillus*, il est identifié *Aspergillus flavus*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fischeri* et *Aspergillus ochraceus*.

L'utilisation du milieu PDA a permis de révéler les mêmes souches fongiques chez les deux variétés de blé tendre à des taux différents (fig. 2 et 3).

Les genres prédominants sont *Aspergillus* et *Penicillium*. Le taux de contamination par *Aspergillus* chez la variété locale est de 24.13×10^2 UF/g (fig. 2), et pour la variété importée de 18.98×10^2 UF/g (fig. 3). Le taux de contamination par *Penicillium* semble plus élevé chez la variété importée que chez la variété locale, avec respectivement de 13.5×10^2 UF/g et 8.33×10^2 UF/g (fig. 2 et 3).

Le genre *Aspergillus* de la variété locale, est représenté essentiellement par *Aspergillus fumigatus* avec un taux de contamination de 11.83×10^2 UF/g et *Aspergillus flavus* avec un taux de contamination de 4.33×10^2 UF/g (fig. 2). La variété de blé tendre importée est surtout contaminée par *Aspergillus fischeri* avec un taux de contamination de 6.5×10^2 UF/g et *Aspergillus fumigatus* avec un taux de contamination de 5.83×10^2 UF/g. L'espèce *Aspergillus parasiticus* est totalement absente sur cet échantillon (fig. 3).

Les genres *Cladosporium*, *Alternarias*, *Ulocladium* et *Fusarium*, retrouvés sur les deux variétés de blé tendre appartiennent à la flore de champ ou à la flore intermédiaire.

Il ressort des figures 2 et 3 que la mycoflore totale du blé tendre importé est plus élevée que celle de la variété locale. Elle est respectivement de 45.46×10^2 UF/g et 36.95×10^2 UF/g.

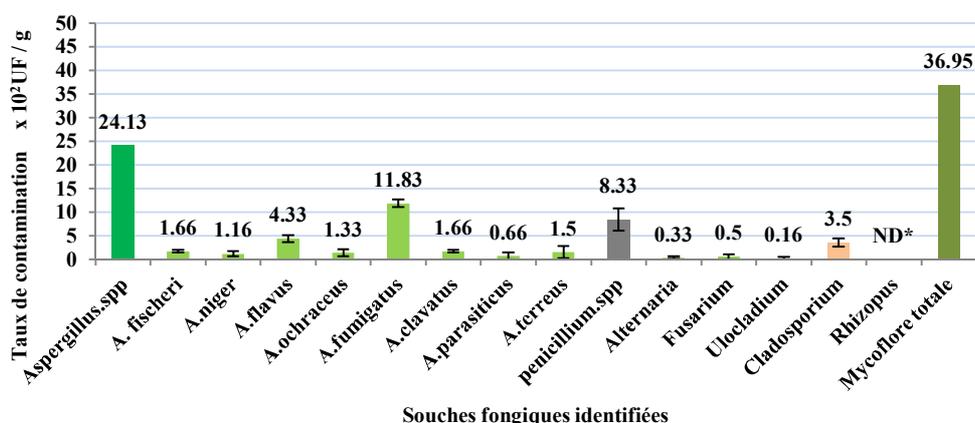


Figure 2.- Mycoflore du blé tendre local détectée sur milieu PDA (ND: indénombrable)

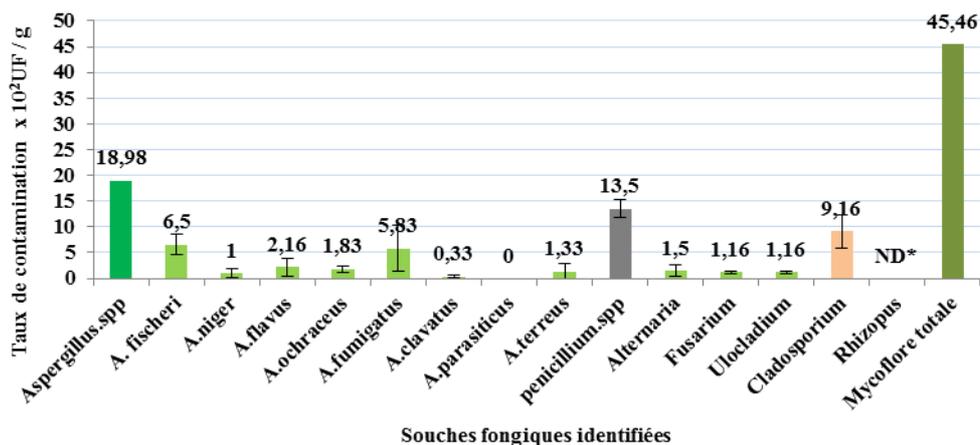


Figure 3.- Mycoflore du blé tendre importé détectée sur milieu PDA (ND: indénombrable)

4.- Discussion

Lors de la contamination du blé, les paramètres régulant la croissance fongique et permettant la production de toxines sont nombreux. On cite principalement la charge initiale en mycoflore, la présence de grains brisés, le taux d'humidité relative élevé, le pH et la température de stockage des grains [11].

Les résultats attribués à la qualité physico-chimique indiquent que les prélèvements analysés du blé tendre (local et importé) renferment un pourcentage de grains cassés supérieur au pourcentage fixé par les normes commerciales qui imposent qu'un blé tendre de qualité ne doit pas dépasser un pourcentage de 3% de grains cassés [12]. Cette augmentation dans le nombre des grains cassés pouvait être expliquée par plusieurs facteurs pouvant influencer l'état physique du grain de blé, notamment celui du local, tels que les mauvaises conditions de récolte, les caractéristiques de chaque variété, les défaillances mécaniques des appareils et surtout aux chocs infligés aux grains lors du transport mécaniques aux silos. La présence de grains brisés ne peut que favoriser le développement de foyer de contamination et par conséquent, elle ne peut être qu'en défaveur d'un stockage de longue durée [13].

L'humidité relative qui est la quantité d'eau libre disponible dans l'échantillon est responsable de plusieurs phénomènes d'altération biologique de l'aliment notamment mycologique. Les faibles teneurs en humidité relative permettent de classer les échantillons dans la catégorie des produits peu hydratés; avantage qui n'exclut pas leur contamination par une flore fongique xérotolérante prépondérante [14]. Notant que beaucoup de produits pauvres en eau libre non altérables par les bactéries peuvent donc être altérés par les champignons [15].

Le taux d'humidité relative élevé enregistré pour le blé tendre importé peut être dû au transport maritime des blés tendres d'importations et les conditions climatiques des pays d'exportation [15].

Les mesures de pH des échantillons révèlent un pH légèrement acide à neutre. Selon Duron, les champignons peuvent se développer à des pH compris entre 3 et 8 avec un optimum de croissance compris entre 5 et 6. Les échantillons de la présente étude constituent un milieu favorable pour le développement des champignons [15].

L'étude de la qualité microbiologique du blé tendre (local et importé) a révélé un taux de contamination total diffère d'une variété à une autre. Le blé tendre importé présente un taux considérablement élevé rapport au blé tendre local, ce qui était rapporté dans les travaux de Tahani [13].

La différence de contamination fongique entre les deux variétés de blé tendre s'explique par la composition biochimique différente du blé tendre importé par rapport au blé tendre local. Cette différence est influencée parfois par les conditions climatiques, le stockage (humidité, température et système de ventilation) et l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la mycoflore [16]. Wilson *et al*, rapportent que la contamination fongique des céréales au champ ou pendant le stockage est directement liée aux conditions hydrothermiques [17].

De plus, la variété importée présente un taux d'humidité élevé et selon Benmansour-Bixi [18], les moisissures de stockage sont capables de croître sur des substrats contenant 10 à 18% d'humidité, avec un optimum de croissance compris entre 11 et 13 %. Multon et Berthier [5, 19], indiquent que ce développement fongique est favorisé par la relation entre la température et l'humidité.

La flore fongique totale du blé tendre stocké est constituée essentiellement de moisissures filamenteuses, très sporulantes, dotées d'un grand pouvoir de dissémination dont les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les plus rencontrés [13].

Les genres de moisissures rencontrés dans les échantillons sont des contaminants de denrées alimentaires maltraitées mais surtout mal conservées. Ils sont considérés comme contaminants de stockage des céréales et leurs dérivés [5,19].

La dominance du genre *Aspergillus* dans la flore contaminante des céréales est signalée dans plusieurs travaux [20,16]. Ainsi, les espèces du genre *Aspergillus* sont considérées comme des moisissures de stockage [21].

Parmi les espèces fongiques appartenant au genre *Aspergillus*, il faut souligner la grande dominance d'*Aspergillus fumigatus* suivi d'*Aspergillus flavus*. Cette fréquence de contamination importante est accompagnée aussi par une production de mycotoxines. Si cette présence de flore fongique est surprenante, ce n'est pas la première fois qu'une telle contamination est observée. En effet, des enquêtes récentes menées en Italie, rapportent la présence de flore productrice de mycotoxine dans les certaines matières premières et aliments [22].

Les autres souches isolées des genres *Rhizopus*, *Alternaria* et *Fusarium*, sont naturellement présentes sur les cultures en plein champs et dans le sol [21]. La forte fréquence du genre *Alternaria* dans le blé tendre importé semble être due à l'humidité élevée de cet échantillon [23].

Le genre *Fusarium* est retrouvé sur les deux variétés de blé tendre, ce qui est déjà signalé par les travaux de Curtui [24], mais aussi certains pays du Nord de l'Europe comme le Nord de la France, l'Allemagne, la Norvège, la Belgique, la Pologne ou les Pays-Bas [25, 26, 27].

Dans l'ensemble, le taux de contamination élevé, ainsi que la biodiversité assez importante constatés dans les différentes variétés du blé tendre peuvent être expliqués probablement par la qualité, la durée et les conditions de stockage [28].

5.- Conclusion

La présence des grains cassés, dans les échantillons prélèvements, constitue un point d'entrer facile et très probable de plusieurs microorganismes notamment les moisissures attirées par la matière organique présente dans le blé tendre. Depuis la récolte jusqu'au son arrivé aux silos de stockage, plusieurs paramètres doivent être pris en compte tels que les moyens de transport, les conditions de stockage, le lieu de stockage, le nettoyage des grains, les traitements effectués au niveau des silos et enfin la durée de stockage.

En général, la précaution doit être toujours maintenue et la démarche assurance qualité doit être suspectée lors de toutes les étapes de la production céréalières depuis la récolte jusqu'au produit fini et surtout au niveau du stockage, la phase la plus sensible et la plus longue favorisant le développement des champignons.

Références bibliographiques

- [1].- Reed, C., 1992.- Development of storage techniques: A historical perspective. In Storage of Cereal Grains and Their Products. Edited by D. B. Sauer, St Paul: 143-156.
- [2].- Druvefors U. Å., 2004.- Yeast Biocontrol of Grain Spoilage Moulds Mode of Action of *Pichia anomala*. Doctoral thesis. University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. Agraria: 44-466.
- [3].- Cheftel, J. C. et Cheftel, H., 1977.- Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Technique et Documentation Lavoisier, Paris: 105-130.
- [4].- ENCARTA, 1998.- Digital multimedia encyclopedia published by Microsoft Corporation.
- [5].- Multon J. L., 1982.- Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Derivés-Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Ed. Lavoisier, Paris, 576 p.
- [6].- Larpent J. P., 1990.- Moisissures Utiles et Nuisibles, Importance Industrielle. Ed. Masson, Paris, 512 p.
- [7].- Haris C., 1989.- Introduction to modern microbiology. Blackwell scientific publication, 179 p.
- [8].- Barnett H. L. et Hunter B. B., 1972.- Illustrated genera of Imperfect fungi. Ed. Burgess publishing company, Minnesota: 62-197.
- [9].- Pitt J. I., 1973.- An appraisal of identification methods for *Penicillium* species. Novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. Mycology 65: 1135-1157.
- [10].- Ramirez C., 1982.- Manual and atlas of the *Penicillium*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam: 231-236.
- [11].- Zia-Ur-Rahman K., 2006.- Storage effect on nutritional quality of commonly consumed cereals. Food Chemistry, 95: 53-57

- [12].- Molinié A., Faucet V., Castegnaro M. and Pfohl-Leskowicz A., 2005.- Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. *Food chemistry*, 92: 391-400.
- [13].- Tahani N., Elamrani A., Serghini-Caid H., Ouzouline M. et Khalid A., 2008.- Isolement et Identification de souches de moisissures réputées toxigènes. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 2 (01) : 81-91.
- [14].- Belli N., Marin S., Sanchis V. and Ramos A. J., 2004.- Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from grapes. *International Journal of Food Microbiology*, 96 : 19-27.
- [15].- Duron B.S., 1999.- Le Transport Maritime des Céréales. Mémoire de D.E.S.S. Université d'Aix-Marseille, 81 p.
- [16].- Le Bars J. et Le Bars P., 1987.- Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la "Section Midi-Pyrénées" à Toulouse, le 18 septembre 1987, (cf. Bulletin de l'Association des Anciens élèves de l'Institut Pasteur, 4^e trimestre 1987).
- [17].- Wilson D. M., Mubatanhema W. and Jurjevic Z., 2002.- Biology and ecology of mycotoxigenic *Aspergillus* species as related to economic and health concerns. *Adv. Exp. Med. Biol* 504 : 3-17.
- [18].- Benmansour-Brixi G. N., 2005.- Étude microbiologique et mycotoxicologique des blés stockés dans la région de Tlemcen et l'influence des facteurs physiques sur l'aflatoxinogénese. Thèse de magister de biologie, Université de Djillali liabes de Sidi Bel Abbés, 241 p.
- [19].- Berthier J. et Valla G., 1998.- Moisissures - Mycotoxines et Aliments : du Risque à la Prévention. Université Claude Bernard, Lyon : 05-20.
- [20].- Riba A., Sabaou N., Mathieu F. et Lebrihi A., 2005.- Premières investigations sur les champignons producteurs d'Ochratoxine A dans la filière céréale en Algérie. Symposium Euro-Maghrébin sur les contaminants biologiques chimiques et la sécurité alimentaire, Fès.
- [21].- Withlow L.W. and Hagler W. M., 2001.- Mycotoxin contamination of feedstuffs-An additional stress factor for dairy cattle. North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ, Québec.
- [22].- Pietri A., Bertuzzi T., Pallaroni L., and Piva G., 2004.- Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 years in northern Italy. *Food Addit. Contam* 21: 479-487.
- [23].- Weinderbörner G., 2000.- Whole wheat and white wheat flour; the mycobiota and potential mycotoxins. *Food Microbiology*, 17: 103-107.
- [24].- Curtui V., Usleber E., Dietrich R., Lepschy J. and Martlbauer E., 1998.- A survey of the occurrence of mycotoxins in wheat and maize from western Romania. *Mycopathol*, 143: 97-103.

[25].- Iisebaert S., Haesaert G., Devreese R., Maene P., Fremaut F. and Vlaemynck G., 2005. *Fusarium spp* and *Fusarium mycotoxins* in maize: a problem for Flanders. Commun. Agric. Appl. Biol. Sci., 70: 129-136.

[26].- Krysinska-Traczyk E., Perkowski J. and Dutkiewicz J., 2007.- Levels of fungi and mycotoxins in the samples of grain and grain dust collected from five various cereal crops in eastern Poland. Ann. Agric. Environ. Med., 14: 159-167.

[27].- Schollenberger M., Muller H. M., Ruffle M., Suchy S., Plank S. and Drochner W., 2006.- Natural occurrence of 16 *Fusarium* toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany, Mycopathologia, 161 (1): 43-52.

[28].- Davis N. D. and Diener U. L., 1987.- Mycotoxins, in: Food and Beverage Mycology. Ed. Van Nostrand Reinhold, New York: 517-570.