

Contamination fongique des amandes commercialisées dans les marchés de trois villes algériennes: Blida, Médéa et Tipaza

Amina MATMOURA^{1,2,*}, Karima BOUTI³, Noureddine BOURAS^{3,4}, Zahia HOUMANI¹

¹Laboratoire de Recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saâd Dahleb, Blida, Algérie.

²Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saâd Dahleb, Blida, Algérie.

³Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM), Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie.

⁴Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Université de Ghardaïa, BP 455, Ghardaïa 47000, Algérie.

Résumé : L'objectif de ce travail est d'estimer et d'évaluer la contamination fongique des amandes commercialisées en Algérie. Un total de 12 échantillons d'amandes de 4 variétés: amandes locales (décortiquées et non décortiquées) et amandes décortiquées importées des Etats-Unis (blanchies et non blanchies) ont été achetés au niveau des marchés populaires de trois villes d'Algérie: Blida, Médéa et Tipaza.

Durant la période 2003-2013, la consommation d'amande en Algérie a été doublée passant de 6% (en 2003) à 12% (en 2013). Les résultats d'analyse fongique ont montré que le taux de contamination d'amandes locales est plus élevé ($715,5 \times 10^4$ ufc/g) (86%) que celui de la variété importée ($116,8 \times 10^4$ ufc/g) (14%). Le taux de contamination le plus élevé (396×10^4 ufc/g) (47,6%) a été enregistré chez la variété d'amandes décortiquées locales. Les taux de contamination profonde ne dépassent pas 2%.

Mots clés: contamination, champignons micro-scopiques, amandes locales et importées, Algérie

Abstract : The objective of this research was to study the fungal contamination in samples of almonds commercialized in Algeria. A total of 12 samples of 4 varieties of almonds: local almonds (shelled and unshelled) and shelled almonds imported from the United States (blanched and non-blanched) were purchased from popular markets in three regions of Algeria: Blida, Medea and Tipaza.

During the period between 2003 and 2013, the consumption of almonds in Algeria has doubled from (6%) in 2003 to (12%) in 2013. The obtained results of fungal analysis showed that the contamination rate of local almonds variety is higher (715.5×10^4 ufc/g) (86%) than the imported one (116.8×10^4 ufc/g) (14%). The highest rate of contamination (396×10^4 ufc/g) (47.6%) was recorded in the local shelled almonds variety. Internal contamination rates do not exceed 2% in all analyzed samples.

Key words: contamination, microfungi, local and imported almonds, Algeria

* Corresponding author.

E-mail: amina190280@gmail.com (Matmoura A.)

Laboratoire de Recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saâd Dahleb, Blida, Algérie.

1. Introduction

L'Algérie est un pays surplombant la Méditerranée, caractérisé par un climat chaud et humide favorisant la croissance des moisissures (champignons micro-scopiques) et la production des mycotoxines dans les zones côtières abritant environ 75% de la population totale. Les amandes s'altèrent rapidement si elles sont stockées dans des conditions défavorables au niveau des marchés populaires. Plusieurs phénomènes en sont les causes: insectes, microorganismes, oxydation, etc. Parmi les microorganismes, les moisissures représentent le groupe le plus diversifié qui peut causer des pertes importantes en réduisant la qualité et/ou la quantité des amandes stockées [1]. La population algérienne consomme de grandes quantités des amandes sèches directement ou sous forme d'ingrédients dans des préparations traditionnelles, en pâtisserie et dans la préparation de nombreux gâteaux pendant les festivités et le mois de Ramadan. Ainsi que l'huile d'amande extraite est depuis l'antiquité très utilisée pour ses propriétés cosmétiques, mais peu d'informations sur leur qualité sont disponibles.

L'objectif de ce travail est d'estimer et d'évaluer la flore fongique contaminant les différentes variétés des amandes commercialisées en Algérie.

2. Matériel et méthodes

2.1. Echantillons d'amandes

Les denrées alimentaires ayant fait l'objet d'isolement fongique sont les variétés d'amandes commercialisées dans le marché local:

- Amandes décortiquées (sans la coque) importées des Etats-Unis,
- Amandes décortiquées (sans la coque) blanchies importées des Etats-Unis,
- Amandes décortiquées (sans la coque) locales,
- Amandes non décortiquées (avec la coque) locales.

2.2. Milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour l'isolements des principaux genres et espèces fongiques est:

- Milieu DRBC (Dichloran, Rose Bengale, Chloramphénicol) [2] est utilisé pour l'isolement des moisissures. Ce milieu de culture est composé de: glucose (10 g), peptone (5 g), KH_2PO_4 (1 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g), rose Bengale (25 mg), dichloran (2,6 dichloro-4-nitroaniline) (2 mg), chloramphénicol (100 mg), agar agar (15 g) et eau distillée (1 L); pH final $5,6 \pm 0,2$.

2.3. Collections et préparation des échantillons

Au cours de cette étude, un total de 12 échantillons d'amandes a été collecté au niveau des marchés de trois (3) villes en Algérie (Blida, Médéa et Tipaza). Un échantillon représentatif de 1 Kg du produit à analyser a été prélevé, avec des instruments stériles (une sonde), en évitant les prélèvements systématiques, prélèvement à partir de la surface, des couches profondes, et sur les côtés du compartiment de stockage. Les échantillons ont été prélevés durant la période allant du début de février au mois de mars de l'année 2016. Le Tableau 1 représente les différentes variétés d'échantillons, code, provenance, date de prélèvement, poids, lot et nombre de chaque échantillon. L'échantillon reçu par le laboratoire doit être utilisé dans sa totalité pour l'homogénéisation optimale.

L'échantillon doit être broyé finement et soigneusement, et il doit être mélangé pour avoir un échantillon représentatif.

Tableau 1. Liste des échantillons analysés.

| Variété | Code | Provenance | Date de prélèvement | Pois | Lot | NE ^a |
|---|------|------------------------------|---------------------|------|---|-----------------|
| Amandes décortiquées, importées des Etats-Unis | A | Marché de la ville de Blida | 31/01/2016 | 1kg | 25 Kg: Sachet en plastique dans un carton | 3 |
| | B | Marché de la ville de Médéa | 08/02/2016 | 1kg | | |
| | C | Marché de la ville de Tipaza | 08/02/2016 | 1kg | | |
| Amandes décortiquées blanchies importées des Etats-Unis | D | Marché de ville de Médéa | 08/02/2016 | 1kg | 25 Kg: Sachet en plastique dans un carton | 3 |
| | E | Marché de la ville de Blida | 23/02/2016 | 1kg | | |
| | F | Marché de la ville de Tipaza | 23/02/2016 | 1kg | | |
| Amandes locales décortiquées | G | Marché de ville de Médéa | 08/02/2016 | 1kg | Récipient en plastique de 10 kg | 3 |
| | H | Marché de la ville de Blida | 21/02/2016 | 1kg | | |
| | I | Marché de la ville de Tipaza | 28/02/2016 | 1kg | | |
| Amandes non décortiquées locales | J | Marché de ville de Médéa | 28/02/2016 | 1kg | Récipient en plastique de 10 kg | 3 |
| | K | Marché de la ville de Blida | 06/03/2016 | 1kg | | |
| | L | Marché de la ville de Tipaza | 06/03/2016 | 1kg | | |
| Nombre total d'échantillons collectés | | | | | | 12 |

NE^a : Nombre d'échantillons collectés de chaque type.

2.4. Isolement et dénombrement de la flore fongique

Les isolements des moisissures dans les échantillons ont été réalisés selon la technique des suspension-dilutions et ensemencement sur milieu gélosé DRBC. L'isolement des moisissures affectants les grains d'amandes, se fait par deux méthodes, méthode A pour isoler la flore fongique externe et interne, et la méthode B pour isoler uniquement la flore fongique interne.

2.4.1. Méthode A pour isoler la flore fongique externe et interne

Cette méthode permet d'isoler la flore fongique se trouvant à l'intérieur et à l'extérieur des grains. Dix gram pour chaque échantillon de grains finement broyés sont mis dans un erlenmeyer stérile de 250 ml contenant 90 ml d'eau stérile additionnés de Tween 80 à 0,005% (50 µl de Tween 80 par 5 ml d'eau) et homogénéisé par agitation durant 15 min. Des dilutions décimales (10^{-2} et 10^{-3}) sont réalisées à

partir de la solution mère (10^{-1}). Un volume de 100 μ l de chaque dilution est ensemencé dans une boîte de Pétri contenant le milieu DRBC. Trois boîtes sont ensemencées pour chaque dilution.

2.4.2. Méthode B pour isoler la flore fongique interne (profonde)

Parallèlement à la détermination de la flore fongique externe et interne, nous avons analysé la flore fongique interne (contamination profonde). Dix gram pour chaque échantillon de grains ont été désinfectés superficiellement par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium (0,4%) pendant une minute à température ambiante, puis rincer plusieurs fois à l'eau distillée stérile, puis séchés à l'aide d'une compresse stérile [3]. La technique des suspension-dilutions est réalisée selon les mêmes étapes que précédemment.

Pour les 2 méthodes A et B, l'incubation a lieu à 28 °C pendant 5 à 7 jours à l'obscurité. La numération est effectuée en choisissant les boîtes dont le nombre de colonies est compris entre 10 et 100 environ. Le nombre de moisissures est exprimé en unité formant colonies par gramme d'échantillon (ufc/g).

3. Résultats

3.1. Production d'amandes en Algérie

La production d'amandes fraîches et sèches en Algérie est estimée à plus de 5 millions quintaux entre l'année 2003 et 2013. Malgré le recul enregistré en 2007 (6,5%), et la légère baisse en 2011 (9,6%), la production d'amandes a doublé dans la période de 2003 à 2013, elle a progressé régulièrement passant de 332340 quintaux avec un pourcentage de 6,3% en 2003 à 635452 quintaux avec un pourcentage de 12% en 2013. Ces chiffres sont publiés par le ministère de l'agriculture Algérien en 2014 (Tableau 2).

Tableau 2. Quantités d'amandes locales (Ministère d'Agriculture Algérien, 2014), et importées (CNIS, 2014) en (Qin) dans la période (2003 – 2013) en Algérie.

| Année | Amandes locales | | Amandes importées | | | | Amandes consommées | |
|---------------|-----------------|--------------|--|--|--------------------------|--------------|--------------------|--------------|
| | Quantités (Qin) | (%) | Quantités d'amandes non décortiquées (Qin) | Quantités d'amandes décortiquées (Qin) | Quantités globales (Qin) | (%) | Quantités (Qin) | (%) |
| 2003 | 332340 | 6,3 | 353 | 21602 | 21955 | 3,5 | 354295 | 5,97 |
| 2004 | 379850 | 7,2 | 13 | 32983 | 32996 | 5,1 | 412846 | 6,95 |
| 2005 | 453785 | 8,6 | 68 | 16050 | 16118 | 2,5 | 469903 | 7,92 |
| 2006 | 536725 | 10,1 | 0,3 | 33785,7 | 33786 | 5,25 | 570511 | 9,61 |
| 2007 | 341097 | 9,0 | 235 | 32403 | 32638 | 5 | 373735 | 6,3 |
| 2008 | 395211 | 7,5 | 1120 | 52071 | 53191 | 8,3 | 448402 | 7,55 |
| 2009 | 473931 | 6,5 | 633 | 83393 | 84026 | 13 | 557957 | 9,40 |
| 2010 | 569730 | 10,7 | 62093 | 62626 | 124719 | 19,5 | 694449 | 11,7 |
| 2011 | 506210 | 9,6 | 516 | 67436 | 67952 | 10,6 | 574162 | 9,67 |
| 2012 | 664876 | 12,5 | 1478 | 88490 | 89968 | 14 | 754844 | 12,72 |
| 2013 | 635452 | 12,0 | 190 | 85225 | 85415 | 13,3 | 720867 | 12,15 |
| Totale | 5289207 | 100 % | 66699,3 | 576064,7 | 642764 | 100 % | 5931971 | 100 % |
| | | | 10,3% | 89,7% | | | | |

3.2. Importation d'amandes en Algérie

Selon le centre national de l'informatique et des statistiques (CNIS) de la douane Algérienne, les importations d'amandes ont atteint plus de 600000 quintaux entre l'année 2003 et 2013. Ces importations constituées exclusivement d'amandes sèches décortiquées et non décortiquées. Les quantités d'amande décortiquées et non décortiquées importées représentent 89,7%, et 10,3% respectivement. Les résultats montrent qu'après une période de perturbation entre 2003 (3,5%), et 2007 (5%), les quantités globales importées n'ont cessé d'augmenter à partir de 2007 jusqu'à 2013 (13,3%). La quantité la plus élevée a été enregistrée en 2010 (19,5%), et les importations d'amandes ont tout simplement doublé 2 fois de volume (Tableau 2).

En outre, pour l'ensemble de la période de 2003 à 2013, l'Algérie a importé 542150 quintaux d'amandes des Etats-Unis (amandes de Californie) qui représentent 93,5% de toutes les amandes importées. Les Etats-Unis est le premier pays fournisseur traditionnel d'amandes à l'Algérie.

3.3. Consommation d'amandes en Algérie

Même à un rythme ralenti, la consommation nationale d'amandes continue à progresser quel que soit la source d'approvisionnement (local ou importées). L'Algérie a consommé 5,9 millions de quintaux entre 2003 et 2013, et durant cette période la consommation a doublé passant de 354295 quintaux avec un pourcentage de (5,97%) en 2003 à 720867 quintaux avec un pourcentage de (12,15%) en 2013. Les amandes importées et locales consommées représentent 10,8% et 89,2% respectivement, donc une importance relative par rapport aux autres arachides, c'est ce qui justifie le choix de notre produit pour l'analyser (Tableau 2).

3.4. Analyse de la flore fongique totale des différentes variétés et différents échantillons d'amandes

Globalement, malgré l'apparence saine des quatre variétés d'amandes analysées et l'absence d'odeur moisie, l'étude de la qualité mycologique a révélé une nette dominance des moisissures. Le taux de contamination fongique dans les amandes locales est plus élevé 6 fois que celui d'amandes importées des Etats-Unis, il est respectivement de $715,5 \times 10^4$ (86%) et $116,8 \times 10^4$ ufc/g (14%) (Fig. 1 et Tableau 3).

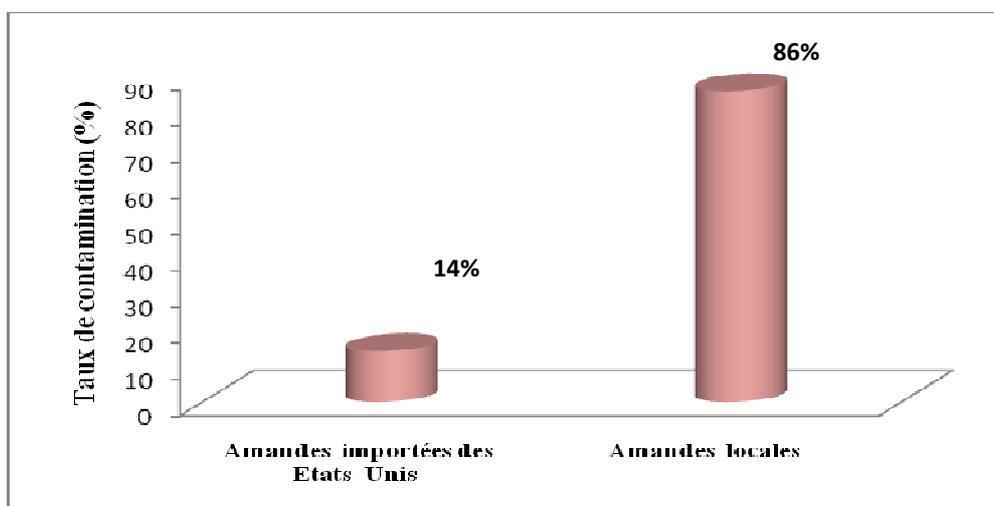


Fig. 1. Taux de contamination d'amandes importées et locales analysées (%).

Cette analyse fongique d'amandes locales et importées montre qu'un taux de contamination total diffère d'une variété à une autre. La variété d'amandes décortiquées locales s'avérés la plus contaminée (396×10^4 ufc/g) (47,6%) par rapport aux autres variétés étudiées. Les amandes non décortiquées locales ont montrés également un taux de contamination élevé ($319,5 \times 10^4$ ufc/g) (38,4%). La variété d'amandes décortiquées importées des Etats-Unis présente un taux relativement élevé (114×10^4 ufc/g) (13,7%), et la variété d'amandes décortiquées blanches importées des Etats-Unis s'est classée en troisième rang d'une contamination très faible ($2,6 \times 10^4$ ufc/g) (0,3%) par rapport aux autres variétés étudiées. On remarque aussi que le taux de contamination de la variété d'amandes décortiquées importées des Etats-Unis est plus élevé 40 fois que celui de la variété d'amandes décortiquées blanches importées des Etats-Unis. Les résultats sont consignés dans la Figure 2 et le Tableau 2.

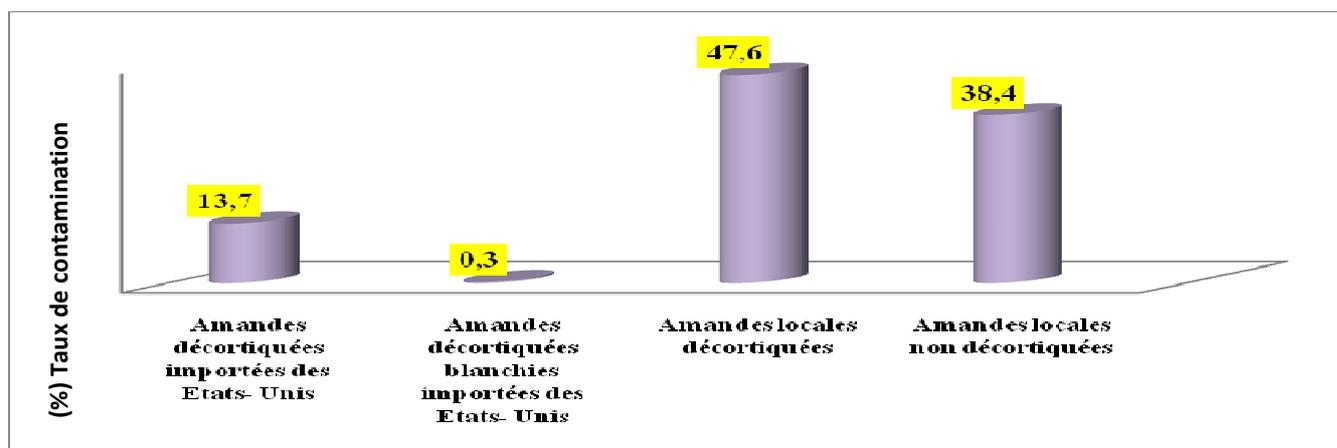


Fig. 2. Taux de contamination des variétés d'amandes analysées (%).

La comparaison effectuée entre la flore fongique externe et profonde révélée par la méthode A, et la flore fongique profonde révélée par la méthode B de chaque variété d'amandes analysée permet de conclure que la flore fongique profonde est très inférieure par rapport à la flore fongique externe et profonde dans tous les échantillons analysés. La densité de la flore fongique profonde est comprise entre $0,009 \times 10^4$ et $0,048 \times 10^4$ ufc/g de produit, donc le nombre de colonies révélé dans les échantillons analysés est inférieure à 10^3 ufc/g. Les taux de contamination profonde ne dépassent pas 2% (Tableau 3).

D'ailleurs, nous remarquons que la plus forte contamination a été notée dans les échantillons collectés de Tipaza (38%), dont le taux d'humidité est plus élevé, suivie par les échantillons collectés de Médéa (33%), et les échantillons collectés de Blida (29%).

Tableau 3. Distribution de la flore fongique totale différents échantillons, et de la flore externe et profonde des différentes variétés d'amandes analysées.

| Variétés d'Amandes | Code d'échantillon | Flore fongique totale (ufc/g) | Flore fongique totale (ufc/g) par la méthode A (grains non désinfectés) | Flore fongique totale (ufc/g) par la méthode B (grains désinfectés) |
|---|--------------------|---|---|---|
| Amandes décortiquées importées des Etats-Unis | A | 15×10^4 | 114×10^4 | $0,048 \times 10^4$ |
| | B | 44×10^4 | | |
| | C | 55×10^4 | | |
| Amandes décortiquées blanchies importées des Etats-Unis | D | $0,9 \times 10^4$ | $2,6 \times 10^4$ | $0,035 \times 10^4$ |
| | E | $0,8 \times 10^4$ | | |
| | F | $0,9 \times 10^4$ | | |
| Amandes décortiquées locales | G | $186,5 \times 10^4$ | 396×10^4 | $0,035 \times 10^4$ |
| | H | 86×10^4 | | |
| | I | $123,5 \times 10^4$ | | |
| Amandes non décortiquées locales | J | $44,5 \times 10^4$ | $319,5 \times 10^4$ | $0,009 \times 10^4$ |
| | K | $136,5 \times 10^4$ | | |
| | L | $138,5 \times 10^4$ | | |
| Totale | | $832,127 \times 10^4$ | 832×10^4 | $0,127 \times 10^4$ |

Le taux de contamination externe et profonde varie considérablement d'un échantillon à un autre. Il oscille entre $0,8 \times 10^4$ et $186,5 \times 10^4$ ufc/g de produit. Les plus fortes densités ont été enregistrées dans l'échantillon (G): amandes décortiquées locales collectées de Médéa ($186,5 \times 10^4$ ufc/g) (22,4%), échantillon (L): amandes non décortiquées locales collectées de Tipaza ($138,5 \times 10^4$ ufc/g) (16,6%), l'échantillon (K): amandes non décortiquées locales collectées de Blida ($136,5 \times 10^4$ ufc/g) (16,3%), et l'échantillon (I): amandes décortiquées locales collectées de Tipaza ($123,5 \times 10^4$ ufc/g) (14,8%). L'échantillon (H): amandes décortiquées locales collectées de Blida, et l'échantillon (J): amandes non décortiquées locales collectées de Médéa ont des densités moyennes de 86×10^4 (10,3%), et $44,5 \times 10^4$ ufc/g (5,3%), respectivement. Dans les échantillons A, B, et C amandes décortiquées importées des Etats-Unis collectées de Blida, Médéa et Tipaza respectivement, la densité varie entre 15×10^4 ufc/g (1,8%) et 55×10^4 ufc/g (6,6%). Les échantillons d'amandes décortiquées blanchies importées des Etats-Unis D, E, et F présentent les densités les plus faibles qui ne dépassent pas les 10^4 ufc/g (0,1%) (Tableau 3 et Fig. 3).

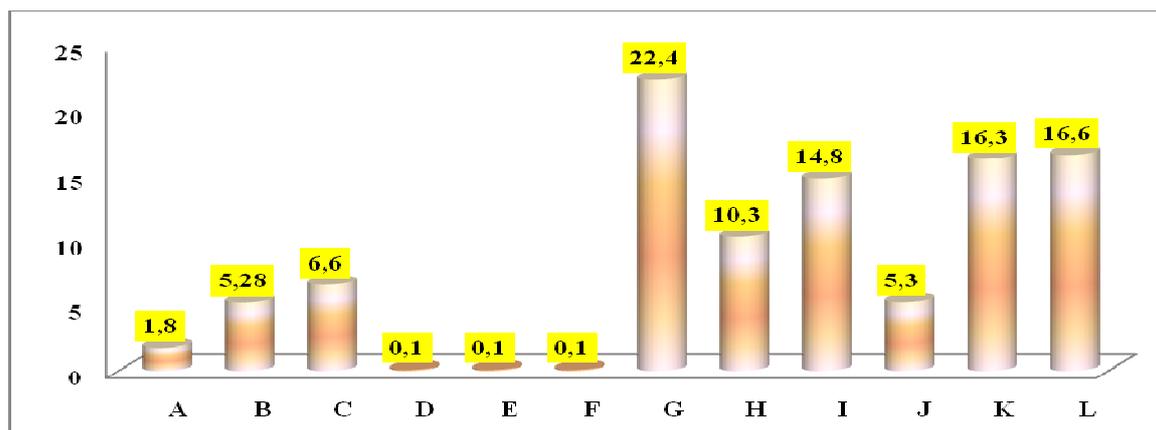


Fig. 3. (%) Taux de contamination des échantillons analysés.

4. Discussion

Les résultats de l'analyse fongique ont montré une forte contamination des échantillons d'amandes analysées par les moisissures. Plusieurs travaux ont également signalé qu'un grand nombre de champignons microscopiques (moisissures) peuvent être isolés des arachides et de fruits secs comme les amandes [4]. Dans cette étude nous avons révélé une très forte contamination d'amandes locales (84%), et une faible contamination d'amandes importées des Etats-Unis (14%). Les amandes importées sont vendues emballées par des sachets en plastique dans des cartons, en revanche les amandes locales sont vendues dans des récipients ouverts en plastique. Les amandes non décortiquées locales ont montré également un taux de contamination élevé ($319,5 \times 10^4$ ufc/g) (38,4%) malgré qu'elles sont protégées par la coque, cela peut expliquer par la durée du stockage qui peut aller jusqu'à un an et plus, car les consommateurs préfèrent d'acheter les amandes importées. Hanak et al. [5] rapportent que les conditions de conservations mal contrôlées et la durée de stockage ont une grande influence sur le développement de la flore fongique et la contamination en mycotoxines. Les échantillons d'amandes décortiquées blanchies importées des Etats-Unis présentent les densités les plus faibles qui ne dépassent pas les 10^4 ufc/g (0,1%), cela peut expliquer que ces échantillons sont préparés par plusieurs traitements thermiques qui tuent les moisissures ou ils réduisent l'humidité relative qui influence sur la prolifération des moisissures. Les amandes blanchies subissent un épluchage, un lavage et un séchage avant l'emballage.

Dans notre étude on a constaté que la plus forte contamination a été notée dans les échantillons collectés de Tipaza (38%), qui est une ville côtière, ce résultat est en accord avec les travaux de nombreux auteurs notamment Cahagnier et Richard-Molard [6] qui ont révélé que l'humidité et la température sont les principaux facteurs physiques ayant une influence considérable sur la croissance et la production des mycotoxines. Ce sont les conditions humides et chaudes des pays africains, sud-asiatiques et sud-américains qui favorisent la croissance des moisissures toxigènes.

Cependant, une grande hétérogénéité a été observée dans la densité de la flore fongique au sein des échantillons de même origine et de même variété. Ceci signifie que la provenance de nos échantillons ne peut pas être le seul facteur impliqué dans ce type de contamination. En effet, la qualité du grain après récolte est influencé par une large variété de facteurs biotiques (microflore, insectes, acariens, rongeurs, etc.) et de facteurs abiotiques (températures, humidité, activité de l'eau, etc.). Le grain stocké est lui-même considéré comme un écosystème particulier [7]. La durée et les conditions de

stockage dans les différents points de vente issus de la même région peuvent varier. Les moisissures sont sensibles aux variations de la température et à l'humidité relative moyenne, ces deux facteurs jouent un rôle prépondérant sur la croissance et la physiologie des champignons. Une variation même légère au niveau de l'humidité peut avoir des conséquences notables sur la densité de la flore fongique totale.

La mycoflore externe est plus abondante que la mycoflore interne (profonde), ces résultats sont confirmés par Weidenbörner [8] et Jianqiang et al. [9] qui ont montré une différence assez nette entre le taux de contamination des grains non désinfectés (mycoflore externe) et celui des grains désinfectés (mycoflore profonde).

5. Références

- [1] Terrain C, Graallet H. (2003) Séchage des grains en organisme stockeur: guide pratique, Ed: Arvalis, Institut du végétal et FFCA.
- [2] King AD, Hocking AD, Pitt JI. (1979) Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. Appl. Environ. Microbiol; 37, 959-964.
- [3] Adjou S, Soumanou M. (2013) Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. J. Appl. Biosci; 70, 5555-5566.
- [4] Hedayati MT, Pasqualotto AC, Warn PA, Bowyer P, Denning DW. (2007) *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. Microbiology; 153, 1677-1692.
- [5] Hanak E, Boutrif E, Fabre P, Pineiro M. (2002) Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO. Cédérom du CIRAD, Montpellier, France.
- [6] Cahagnier B, Richard-Molard D. (1998) Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés, Ed. Tec & Doc, p 140-158.
- [7] Magan N, Aldred D (2005) Conditions of formation of ochratoxin A in drying, transport and in different commodities. Food Addit. Contam; S1, 10-16.
- [8] Weidenbörner M. (2001) Pine nuts: The mycobiota and potential mycotoxins. Can. J. microbiol; 47, 460-464.
- [9] Jianqiang L, Xili L, Feng W, Muhai Z. (1999) Microscopy and scanning electron microscopy of black embryo of wheat seed and the seed borne fungi. Acta phytopathol. Sini; 29, 22-26.